

Instituto de Hematología e Inmunología

ACTIVIDAD ANTICOMPLEMENTARIA EN PREPARACIONES DE INMUNOGLOBULINAS PARA USO ENDOVENOSO

Lic. Ada A. Arce Hernández,¹ Lic. Rinaldo Villaescusa Blanco,¹ Lic. Julio C. Merlín Linares,¹ Lic. Ana M. Guerreiro Hernández,¹ Dr. Ed J. Nieuwahuys² y Dr. Andrew J. Hannema²

RESUMEN

Se determinó la actividad anticomplementaria en muestras tratadas acidificando la solución ligeramente hasta pH 4,0, y sin tratar, de 10 lotes de preparados de inmunoglobulinas para uso endovenoso. Se demostró un aumento de la actividad anticomplementaria en 7/10 de las muestras sin tratar, lo que indica la presencia de agregados de inmunoglobulinas capaces de activar el sistema complemento. En las muestras acidificadas los niveles de actividad anticomplementaria se mantuvieron dentro del rango permisible. Los resultados obtenidos indican la importancia de la medición de la actividad anticomplementaria en los preparados de inmunoglobulinas endovenosas para establecer la posible presencia de agregados cuya administración puede causar serias reacciones sistémicas en el paciente.

DeCS: COMPOSICION DE MEDICAMENTOS/métodos; INMUNOGLOBULINAS/farmacología; INMUNOGLOBULINAS/aislamiento & purificación; COMPLEMENTO/inmunología; IGG/análisis.

Es conocido que la IgG aislada presenta marcadas propiedades anticomplementarias.¹ Se ha observado que los componentes anticomplementarios en las preparaciones de inmunoglobulinas son agregados que se forman en el proceso de aislamiento o espontáneamente durante su conservación posterior, y limitan las aplicaciones clínicas de éstas.^{2,3} Diversos tratamientos se han empleado para prevenir

o controlar la formación de agregados en las preparaciones de inmunoglobulinas, entre los que se destaca la disminución del pH, proteólisis y modificaciones químicas.⁴⁻⁶

Nuestro trabajo tiene el objetivo de medir la actividad anticomplementaria en muestras de lotes de inmunoglobulinas para uso endovenoso, tratadas mediante acidificación ligera y sin tratar, con el fin de establecer la presencia o no de agregados, capaces de activar el sistema complemento.

¹ Instituto de Hematología e Inmunología. Cuba.

² Central Laboratory of Blood Transfusion. Holanda.

MÉTODOS

Se determinó la actividad anticomplementaria en muestras tratadas acidificando la solución hasta 4,0 y muestras sin tratar, de 10 lotes de inmunoglobulinas para uso endovenoso (CLB, Amsterdam).

La actividad anticomplementaria se determinó mediante una modificación del método de Kabat y Mayer.⁷ Se mezclaron 0,2 mL (10 mg de inmunoglobulina) de la preparación de inmunoglobulina endovenosa con 0,5 mL de suero de curiel que contenía 20 unidades CH50 de actividad de complemento. Se incubó a 37 °C durante 60 minutos. A continuación se añadieron 0,5 mL de una suspensión de 5×10^8 eritrocitos de carnero \times mL sensibilizados con un antisuero contra eritrocitos de carnero preparado en conejos (hemolisina) y 1,5 mL de *buffer* veronal-salino, pH 7,4 (BVS). Se incubó a 37 °C durante 60 minutos y se centrifugó 10 minutos a 1 500 rpm. La actividad del complemento en las muestras se expresa en unidades CH50. Se incluye un control de complemento al que se añaden 0,2 mL de BVS en lugar de la preparación de inmunoglobulina endovenosa. La actividad anticomplementaria se calculó de la forma siguiente:

$$\frac{\text{CH50 en el control} - \text{CH50 en la muestra}}{\text{CH50 en el control}} \times 100$$

RESULTADOS

Se demostró la presencia de agregados anticomplementarios en 7/10 (70 %) de las muestras sin tratar, y se observó una disminución de la actividad anticomplementaria en las muestras tratadas a pH 4,0 (tabla).

TABLA. Actividad anticomplementaria obtenida en las muestras tratadas a pH 4,0 y sin tratar de los lotes de inmunoglobulinas endovenosas

Inmunoglobulinas endovenosas (No.lote)	Actividad anticomplementaria (%)	
	Muestra sin tratar	Muestra tratada
IEV 0202	32,52	12,34
IEV 9427	11,07	8,73
IEV 2005	14,94	10,12
IEV 9505	24,05	9,92
IEV 9508	39,76	11,55
IEV 9009	24,06	13,06
IEV 8502	16,82	7,09
IEV 9506	51,07	16,41
IEV 9511	42,54	13,02
IEV 8906	25,95	10,28

Se considera un valor permisible hasta el 20 % de actividad anticomplementaria.

DISCUSIÓN

Las inmunoglobulinas endovenosas son productos biológicos y difieren mucho con respecto a los productos químicos farmacéuticos. Es imprescindible garantizar un producto seguro y eficaz. La eficiencia se logra si las inmunoglobulinas son aisladas en su forma nativa y con una distribución natural. La presencia de agregados activadores del complemento en los preparados de inmunoglobulinas de uso endovenoso pueden causar severas reacciones colaterales, de ahí la importancia de la determinación en los mismos de la actividad anticomplementaria. En nuestro trabajo se detectó un aumento de la actividad anticomplementaria en 7 de las muestras sin tratar de los 10 lotes de inmunoglobulinas endovenosas estudiados, lo que indica la elevada frecuencia de formación de agregados que ocurre durante el proceso de elaboración del producto.

Existen diversos métodos que permiten obtener preparaciones de inmunoglobulinas endovenosas estables y tolerables, como es el tratamiento con pepsina y la modificación química de la molécula de

inmunoglobulina mediante agentes reductores o alquilantes, que eliminan, en ambos casos, la posibilidad de activación del complemento,⁵ la precipitación selectiva de agregados de inmunoglobulinas, con polietilenglicol,¹ cromatografía de adsorción⁶ o acidificando el preparado de inmunoglobulinas.⁴ En este último caso, se plantea que disminuyendo ligeramente el pH de la preparación a 4,0, se logran destruir los agregados anticomplementarios sin afectar la estructura y función de los monómeros de inmunoglobulinas. En los resultados obtenidos en nuestro estudio,

se observó una disminución de la actividad anticomplementaria hasta valores permisibles en las muestras portadoras de agregados, al ser acidificadas a pH 4,0, lo que indica la destrucción de estos.

Estos datos indican la importancia de la medición de la actividad anticomplementaria en los preparados de inmunoglobulinas endovenosas, tanto en el proceso de aislamiento como durante el almacenamiento, para establecer la posible presencia de agregados cuya administración puede causar serias reacciones sistémicas en el paciente.

SUMMARY

The anti-complement activity was determined in treated samples by slightly acidifying the solution up to a pH=4.0 and in untreated samples of 10 batches of immunoglobulin preparations for intravenous use. A rise in the anti-complement activity of 7 out of 10 untreated samples was shown, which indicated the presence of immunoglobulin aggregates capable of activating the complement system. The levels of anti-complement activity in the acidified samples remained within the allowable ranges. The results revealed the importance of measuring the anti-complement activity in intravenous immunoglobulin preparations so as to determine the possible presence of aggregates that can cause serious systemic reactions if they are administered to a patient.

Subject headings: DRUG COMPOUNDING/methods; IMMUNOGLOBULINS/pharmacology; IMMUNOGLOBULINS/isolation & purification; COMPLEMENT/immunology; IGG/analysis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Miekka SI, Gozde I. Anticomplementary activity of human IgG.I. Mechanism of the artifactual increase in anticomplementary activity of IgG during the assay. *Vox Sang* 1975;29(101):101-23.
2. Barandun S, Kistler P, Jeunet F, Isliker H. Intravenous administration of human gammaglobulin. *Vox Sang* 1962;7:157-60.
3. Morell A, Schurch B, Ryser D, Hofer F, Skvaril F, Barandun S. In vivo behaviour of gamma globulin preparations. *Vox Sang* 1980;38:272-5.
4. Kistler P, Stelger G. Human immunoglobulins for intravenous administration: preparation and properties. *Prog Immunobiol Standard* 1970;4:92-6.
5. Romer J, Morgenthaler JJ, Scherz R, Skvaril F. Characterization of various immunoglobulins preparations for intravenous use. I. Protein composition and antibody content. *Vox Sang* 1982;42:62-70.
6. Gronski P, Kanzy EJ, Ronneberger HJ, Geursen R, Seller FR. Quality criteria for i.v. immunoglobulins: importance of tests and product properties. *Behring Inst Mitt* 1986;80:16-20.
7. Mayer MM. Complement and complement fixation. En: Kabat EA, Mayer MM (eds). *Experimental Immunochemistry*. Illinois; Thomas Publisher, 1964. p.211-25.

Recibido: 7 de noviembre del 2001. Aprobado: 20 de noviembre del 2001.

Lic. *Ada A. Arce Hernández*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu