

Geleceğin Gebelikten Korunma Yöntemi; İmmunokontrasepsiyon

CONTRACEPTION METHOD OF FUTURE : IMMUNOCONTRACEPTION

Selman LAÇİN*, Tayfun ÖZÇAKIR**

* Doç.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

**Yrd.Doç.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, MANİSA

Özet

Günümüzde daha yaygın, etkin ve daha güvenli kontraseptif yöntemlere acilen ihtiyaç olduğu aşikardır. Bu yazıda alternatif bir yöntem olan immunokontrasepsiyon, yani kişinin immun sisteminin gebelikten korunmaya yönelik olarak aktive edilmesi konusu bugün ve gelecek açısından irdelenmiştir.

İmmunokontrasepsiyon konusunda özellikle son yıllardaki yerli ve yabancı literatür gözden geçirilmiştir.

Her iki cinse ait gamet hücreleri olan sperm ve oositler potansiyel antijenik hedefler olarak düşünülmüş ve her iki hücre tipine yönelik pekçok araştırma yapılmıştır. Memeli oositlerinde bulunan özgün bir ekstrasellüler matriks proteini olan zona pellucida'nın üç majör glikoproteini (ZP-1, ZP-2, ZP-3) üzerindeki çalışmalar halen sürmektedir. Aynı şekilde, monoklonal antikor teknolojisinin gelişmesi ile sperm üzerinde bulunan birçok antijen aynı amaca hizmet edebilme olasılıkları açısından tanımlanmıştır (FH-1, PH 20, PH 30, SP10 vb. gibi). Son yıllarda sperm-oosit interaksyonunda önemli rolü olduğu gösterilen integrinler, nitrik oksit, kadherinler gibi birçok adezyon molekülü üzerindeki çalışmalar dikkat çekicidir. Hormonlardan ise FSH ve özellikle anti-hCG antikorları bugüne kadar insan çalışması yapılmış olan tek immunokontraseptiftir. Tüm gelişmeler gözden geçirildiğinde libidoyu ve hormon üretimini bozmayan, efektif ve yan etkilerden arındırılmış kontraseptif bir aşının önümüzdeki on yıl içerisinde kullanıma girmesi pek muhtemeldir. Genetik bilimindeki ilerlemeler birçok alanda olduğu gibi kontraseptif aşılar da ilerlemenin temellerini oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: İmmunokontrasepsiyon,
sperm antijenleri, oosit antijenleri

T Klin Jinekoloj Obst 2004, 14:126-130

Summary

It is obvious that more wide spread, more effective and more reliable contraceptive methods are needed. This paper is about the present and future aspects of an alternative contraceptive method, immunocontraception, where a person's immune system is activated to act in a contraceptive manner.

Local and international literature about immunocontraception has been detected.

Sperm and oocyte, gamete cells of both sexes, have been considered as potential antigenic targets and many studies have been done about both cells. Studies about three major glycoproteins (ZP-1,ZP-2,ZP-3) of the zona pellucida, an extracellular matrix protein found in mammalian oocytes still continue despite ovarian follicle damage and premature ovarian failure. Similarly many antigens on the sperm cell have been identified (FH-1,PH20, PH30, SP10 etc.) with the development of monoclonal antibody technology. Interesting are studies about integrins, nitric oxide, cadherins and other adhesion molecules that take a role in sperm-oocyte interaction. FSH and especially anti-hCG antibodies are the only hormonal immunocontraceptives studied on humans. In the light of all studies and developments it is possible that a contraceptive vaccine that does not interfere with libido and hormone production, is effective and has no side effects will be on the market in the coming ten years. Development of genetics is the base of many fields as well as of contraceptive vaccines.

Key Words: Immunocontraception, sperm antigens,
oocyte antigens

T Klin J Gynecol Obst 2004, 14:126-130

Günümüzde 6 milyarı aşan dünya nüfusu ve yakın bir gelecekte, 2010 yılında, 75 milyonu aşacak olan ülkemiz nüfusu düşünüldüğünde daha yaygın, etkin ve daha güvenli kontraseptif yöntemlere acilen ihtiyaç olduğu ortadadır. Bu

yazıda immunokontrasepsiyon, yani kişinin immun sisteminin gebelikten korunmaya yönelik olarak aktive edilmesi konusu bugüne değin gelinen nokta ve gelecek açısından irdelenecektir.

İmmunokontrasepsiyon halen insanlarda pratikte kullanımı olmayan bir yöntem olduğundan bu yazı yeni ufukları içermektedir. Ancak unutulmamalıdır ki bugün çok geniş kullanım alanı olan kontraseptif yöntemlerin pek çoğu çok kısa bir süre öncesine kadar ufuktaki konulardı (örneğin OK; 1960, bakırlı RIA; 1965, sadece progesteron içeren “mini pill” haplar; 1970, depo progesteron; 1975, implantlar; 1985 vb. gibi). Günümüzde yaygın olarak kullanılan bu yöntemlerin hemen tamamı yan etki, uzun ve kısa dönemli potansiyel riskler, güvenilirlik gibi konular sebebiyle tartışma yaratmaktadır ve yaratmaya da devam edecektir. Elbette halen tüm yanlarıyla ideal bir korunma yöntemi yoktur ama sağlığımızla ilgili kaçınmak ya da korunmak istediğimiz bir konu olduğunda genel anlamda ilk olarak aklımıza gelen yöntem aşılama değil midir? Üstelik kontraseptif yöntemlerle ilişkili en önemli problemler hormonların ve mekanik araçların olası yan etkileri olduğuna göre aşılamanın bu amaçla kullanımı teorik olarak da uygundur.

Kontraseptif Aşılamanın Temel Noktaları- Avantaj ve Dezavantajlar

Her iki cinse ait gamet hücreleri olan sperm ve oositler ve bu hücrelerin oluşumundaki basamaklar yani follikülogenezis ve spermatogenezis, kontraseptif hedefler olarak belirlenebilir. Ancak follikülogenezisin durdurulması granüloza hücrelerinden estrogen yapımını da engelleyeceğinden sorunlara yol açacağı aşıkardır. Kadında doğrudan oositlerin kendisine yönelecek bir immun yanıt oluşturulması daha mantıklı gibi görünmektedir.

Spermilerin kuvvetli antijenik özellikleri bulunduğu ve bundan da yararlanılabileceği fikri ise yaklaşık 100 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Temelde erkeğin spermatogenezine ya da doğrudan spermelerine yönelecek bir immun yanıt hem kadında hem de erkekte oluşturulabilir. Ancak sürekli olarak milyonlarca sayıda üretilen spermeler, kontrasepsiyona yetecek miktarda bir antikor düzeyine ulaşmayı güçleştirmektedir. Dolayısıyla anti-sperm antikor oluşumu açısından kadın genital traktusunun hedef alınması daha mantıklı görünmektedir.

Gebelik ürünü olan embriyonun salgıladığı hCG'ye karşı oluşacak olan antikorlar ya da

implantasyonu bozacak veya erken dönemde blastosistin rejeksiyonunu sağlayacak bir immun yanıt da aynı amaca hizmet edecektir. Ancak aslında “self” olan bu antijenlere karşı oluşacak immun yanıtın yeterince güçlü ve devamlı olması ve belirli aralıklarla da olsa bu yanıtın monitörizasyonu, üstesinden gelinmesi gerekli problemlerdir. Ayrıca antijenlere karşı oluşacak immun yanıtın kan antikor düzeyleri her zaman hedef dokudaki amaca ulaşmaya yeterli konsantrasyon anlamına gelmeyebilir. Bir kez aşı yapıldığında en azından birkaç ay geri dönüşümünün olamaması, yani OK ya da RIA gibi kontrolün her an kişinin elinde olmaması ve yine seksüel yolla bulaşan hastalıklara karşı koruyuculuğun olmaması da immunokontrasepsiyonun diğer dezavantajları olarak sayılabilir.

Potansiyel Hedefler

I. Oosit Antijenleri

Oosit hedeflendiğinde, sperm-oosit interaksyonunda çok önemli rolü olan ve oositi çevreleyen Zona Pellucida (ZP) geniş olarak incelenmiştir. Memeli oositlerinde bulunan özgün bir ekstrasellüler matriks proteini olan zona pellucida'nın üç majör glikoproteini (ZP-1, ZP-2, ZP-3) ve bunların alt gruplarını içerdiği bilinmektedir (1). Spermin tanınması ve akrozom reaksiyonunun başlatılmasından sorumlu olan ZP-3'den yoksun transgenik farelerin infertil oldukları gösterilmiştir (2). Spermdeki akrozom reaksiyonunu indükleyen ZP-3'ün bu özelliğinin hem hücrenin yüzeyindeki karbonhidrat yan zincirler, hem de reseptör aktivasyonu için gerekli olan çapraz bağlanmayı etkileyecek peptid içeriği olduğu düşünülmektedir (3). Bu noktaların açığa çıkarılması ile birlikte ZP-3'ün immunokontrasepsiyon için uygun bir hedef olduğu düşünülmüş ve üzerinde birçok çalışma yapılmıştır.

Hayvanlarda ve özellikle primatlarda ZP-3'e karşı oluşturulan antikorlarla kontrasepsiyon belirgin bir oranda sağlanabilmiştir (4-6). Ancak çalışmaların tamamına yakınında yan etki olarak overlerde follikül hasarı ve sonrasında da prematüre over yetmezliği ortaya çıkmıştır. Bu önemli yan etkiden bahsetmeyen çalışmalarda ise takip zamanının yeterince uzun olmadığı düşünülebilir (7-8).

Bir grup araştırmacı follikül yetmezliği sorununun karbonhidrat yan zincirlerinin sebep olduğu patojenik epitoplara ile geliştiğini ve öncelikle bu konunun çözülmesi gerektiğini bildirmişlerdir (9). Ancak deglikozile ZP-3 antijenleri kullanılarak yapılan primat çalışmalarında da benzer sonuçlarla karşılaşılmıştır (10-11). Bu problemin temelde antijenik saflaştırma sorunlarına bağlı olduğu düşünülmeyle beraber, rekombinant teknoloji ile hazırlanan proteinler immunogen olarak kullanıldığında bile görülmesi problemin bu denli basit olmadığını düşündürmektedir.

Yapılan immunohistokimya çalışmalarında ovarian patolojinin otoimmün bir ooforit olduğu ve overi atake eden lenfositik popülasyonun büyük oranda T lenfositlerden oluştuğunun anlaşılması ile birlikte bu popülasyonu uyarmayacak bir antijenik uyarı verilmesi yani sadece B lenfosit epitoplara kullanılarak immunizasyon sağlanması fikri üzerinde yoğunlaşmıştır (12). Marmosetler üzerinde yapılan ZP-3 haritalama çalışmaları sonucunda belirlenen ZP-3'ün 330-337 arası amino asitlerinin B lenfositleri uyardığı, buna karşın ölçülebilir bir T hücre cevabı oluşturmadığı ancak bu kez de kontrasepsiyonun istenilen düzeyde olmadığı son dönemlerde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarından (13).

Bu sonuçlara ulaşılması ile ZP proteinlerinden 1 ve 2 üzerinde de gerek in-vitro gerekse de in-vivo (primatlarda) araştırmalar yapılmış ve halen yapılmaktadır (14-15). Ancak otoimmün ooforit oluşturmadan oosit antijenlerine karşı yeterli düzeyde kontrasepsiyon sağlayacak bir antikor düzeyine ulaşamadığından bu aşamada insan çalışmalarına henüz geçilememiştir.

II. Sperm Antijenleri

Spermlere karşı oluşmuş antikor (antisperm-antikor) kavramı günümüzde zaten bilinmektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından infertil hastalarda %2-10 oranında rastlandığı ve infertiliteden sorumlu olabileceği, ayrıca vazektomi yapılan erkeklerde de kan testis bariyerinin kırılması nedeniyle %70'lere varan oranda anti-sperm antikorların varlığı bildirilmiştir (16-17).

Kadın genital yollarındaki hedefe ilerleyen az sayıdaki sperme daha kolay etkili olunabilmesi açısından, antisperm antikorlarının erkekten çok kadında kullanım olasılığının araştırılması daha uygun gözükmektedir. Sperm yüzey antijenlerinin kontraseptif amaçla kullanımının ilk klinik denemesi 1932 yılında Baskin tarafından gerçekleştirilmiştir (18). ABD'de kadınlara kocalarından aldığı spermleri enjekte ederek geliştirdiği yöntemi "spermatoksik aşı" adıyla ilk kez patentlendiren araştırmacının çalışmaları etik kısıtlamalar nedeniyle devam etmemiştir. Günümüzde monoklonal antikor teknolojisinin gelişmesi ile sperm üzerinde bulunan birçok antijen (FH-1, PH 20, PH 30, SP10 vb. gibi) aynı amaca hizmet edebilme olasılıkları açısından tanımlanmıştır (Tablo 1). Bunların arasında en dikkat çekici olanlarından biri PH-20'dir. Bir sperm yüzey hyaluronidazı olan ve kümülüs hücrelerini eriterek spermin oosite ulaşmasını sağlayan PH-20 nin antijenik özellikleri kullanılarak oluşturulan antikorlar, dişi ve erkek kobaylarda kontraseptif etkinlik göstermiştir (19). Ancak zona pellucida proteinlerinde görülen bir yan etki olan ooforit benzeri otoimmün orşit tablosu geliştiği de bildirilmiştir (20). Bu etkinin kobaylara özgü mü olduğu yoksa diğer türlerde de görülüp görülmeye-

Tablo 1. Sperm antijenik özellikleri

Antigen	Karakteristik	Mab aktivitesi
FA-1	51 kDa otofosforilasyon aktivitesi	Sperm-zona bağlanması inhibisyonu
PH-20	Testis spesifik hyaluronidaz Kobay, maymun ve insanda..	Kobaylarda aktif immunizasyonla reversible infertilite
PH-30	Testis spesifik membran proteini, oosit yüzeyindeki integrin reseptörleriyle etkileşiyor	Mab sperm-oosit füzyonunun inhibisyonu
SP-10	İç akrozom membranında lokalize glikoprotein	Mab sperm-oosit füzyonunun inhibisyonu, baboonlarda fertilitede düşüş
YPL-12	Testise spesifik, 12 kDa ağırlığında	Sperm-zona bağlanmasını inhibe ediyor

Mab: Monoklonal antikor

ceği konusu henüz aydınlatılmamıştır. Bir başka sperm yüzey antijeni olan SP-10 kullanılarak elde edilen antikorlarla otoimmün orşit gelişmediği bildirilmiştir (21). Naz ve arkadaşlarının (22) 2000 yılında yayınladıkları çalışmalarında Fertilizasyon Antijen-1 (FA-1) konusunda alınan sonuçların da oldukça ümit verici olduğu görülmektedir.

Fertilitenin oluşmasındaki anahtar nokta sperm-oosit füzyonu olduğuna göre bu ilişkinin detaylarıyla ortaya konması kontrasepsiyon amacına yönelik hedefleri de net olarak belirleyecektir. Bu bağlamda son yıllarda sperm-oosit interaksyonunda önemli rolü olduğu gösterilen integrinler, nitrik oksit, kadherinler gibi birçok adezyon molekülü üzerinde de çalışmalar sürmektedir (23-25).

III. Embriyonel Antijen ve Hormonlar

Son yıllarda aynı konuda ümit vaat eden bir diğer molekül ise riboflavin taşıyıcı proteindir. Bu molekülün denatüre ekstraktları ile antikor oluşumu sağlanarak embryo gelişimi çok erken safhada bloke edilebilmekte ve gebelik sonlanmaktadır (26). Bu konuda da henüz insan çalışmalarına geçilememiştir.

Hormonlar açısından bakıldığında erkekte FSH kadında ise hCG potansiyel hedefler gibi durmaktadır. Özellikle anti-hCG antikorları bugüne kadar insan çalışması yapılmış olan tek immunokontraseptiftir. İlk çalışmalarda (27) LH ile kros-reaksiyon vermiş olan anti-hCG antikorları daha sonra B-hCG'nin karboksi terminaline karşı oluşturulmuş, immunojenite kazanması için difteri veya tetanoz toksoidi ile birleştirilmiş ve hiç bir yan etki gözlenmemiştir (28). Etkinliği oldukça yüksek olduğu belirtilen anti-hCG aşının etkisi progesteronlarla nötralize edilebilmektedir. Yine etkinliğinin reversible olduğu bildirilen anti-hCG aşısının Hindistan'da faz-II çalışmaları yapılmış ve önümüzdeki yıllarda daha geniş topluluklarda denenmesi beklenmektedir (29).

Sonuç olarak libidoyu ve hormon üretimini bozmayan, efektif ve yan etkilerden arındırılmış kontraseptif bir aşının önümüzdeki on yıl içerisinde kullanıma girmesi pek muhtemeldir. Genetik bilimindeki ilerlemeler birçok alanda olduğu gibi kontraseptif aşılar da ilerlemenin temel dayanaklarından birini oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Bauskin RA, Franken D, Eberspacher U, et al. Characterization of human zona pellucida glycoproteins. *Mol Hum Reprod* 1999; 6: 534-40.
2. Rankin T, Familiari M, Le E, et al. Mice homozygous for an insertional mutation in the Zp3 gene lack a zona pellucida and are infertile. *Development* 1996; 122: 2903-10.
3. Wasserman PM. Mammalian fertilization.: molecular aspects of gamete adhesion, exocytosis and cell fusion. *Cell* 1999; 96: 175-83.
4. Paterson M, Kooathan PT, Morris KD, et al. Analysis of the contraceptive potential of antibodies against native and deglycosylated porcine ZP-3 in vivo and in vitro. *Biol Reprod* 1992; 46: 523-34.
5. Bagavant H, Thillai Koothan P, Sharma MG, et al. Antifertility effects of porcine zona pellucida-3 immunization using permissible adjuvants in female bonnet monkeys: reversibility, effect on follicular development and hormonal profiles. *J. Reprod. Fertil.* 1994; 102: 17-25.
6. Afzalpurkar A, Shibahara H, Hasegawa A, Koyama K, Gupta SK. Immunoreactivity and in vitro effect on human sperm-egg binding of antibodies against peptides corresponding to bonnet monkey zona pellucida-3 glycoprotein. *Hum. Reprod* 1997; 12: 2664-70.
7. Sacco AG, Subramanian MG, Yurewicz EC, et al. Heteroimmunization of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) with a purified porcine zona antigen (PPZA): immune response and biologic activity of antiserum. *Fertil. Steril* 1983; 39: 350-8.
8. Sacco AG, Pierce DL, Subramanian MG, et al. Ovaries remain functional in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) immunized with porcine zona pellucida 55,000 D macromolecule. *Biol. Reprod* 1987; 36: 481-90.
9. Keenan JA, Sacco AG, Subramanian MG, et al. Endocrine responses in rabbits immunized with native versus deglycosylated porcine zona pellucida antigens. *Biol Reprod* 1991; 14: 150-6.
10. Dunbar BS, Lo C, Powell J, Stevens V. Use of a synthetic peptide adjuvant for the immunization of baboons with denatured and deglycosylated pig zona pellucida glycoproteins. *Fertil. Steril* 1989; 52: 311-8.
11. Paterson, M, Thillai Koothan P, Morris KD, et al. Analysis of the contraceptive potential of antibodies against native and deglycosylated porcine ZP3 in vivo and in vitro. *Biol. Reprod* 1992; 46, 523-34.
12. Rhim SH, Miller SE, Robey F, et al. Autoimmunity disease of the ovary induced by a ZP3 peptide from the mouse zona pellucida. *J Clin Invest* 1992; 89: 28-35.
13. Govind CK, Hasegawa A, Koyama K, Gupta SK. Delineation of a conserved B cell epitope on bonnet monkey (*Macaca radiata*) and human zona pellucida glycoprotein-B by monoclonal antibodies demonstrating inhibition of sperm-egg binding. *Biol Reprod.* 2000; 62 (1): 67-75.
14. Skinner SM. Mapping of dominant B-cell epitopes of a human zona pellucida protein (ZP1) *Biol Reprod* 1999; 61: 1373-80.
15. Shigeta M, Hasegawa A, Hamada Y, Koyama K. Analysis of B cell epitopes of a glycoprotein porcine zona pellucida (pZP1). *J Reprod Immunol* 2000; 47(2): 159-68.

16. Lombardo F, et al. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. *Hum Reprod Update* 2001 Sep-Oct; 7 (5): 450-6.
17. Law HY, Bodmer WF, Mathews JD, Skegg DC. The immune response to vasectomy and its relation to the HLA system. *Tissue Antigens* 1979 Aug; 14 (2): 115-39.
18. Baskin MJ. Temporary sterilization by the injection of human spermatozoa. A preliminary report. *Am J Obstet Gynecol* 1932; 24: 892-7.
19. Primakoff P, Lathrop W, Woolman L, Cowan A, Myles D. Fully effective contraception in male and female guinea pigs immunized with the sperm protein PH-20. *Nature* 1988; 335: 543-6.
20. Tung KS, Primakoff P, Woolman-Gamer L, Myles DG. Mechanism of infertility in male guinea pigs immunized with sperm PH-20. *Biol Reprod* 1997; 56 (5): 1133-41.
21. Sehgal S, Koul D, Verma S. Effect of immunisation with human SP-10 in male rodents. *Am J Reprod Immunol* 1996; 36: 167-74.
22. Naz RK, Zhu X. Recombinant fertilization antigen-1 causes a contraceptive effect in actively immunized mice. *Biol Reprod* 1998; 59 (5): 1095-100.
23. Gaudreault C, Montfort L, Sullivan R. Effect of immunization of hamsters against recombinant P26h on fertility rates. *Reproduction* 2002; 123: 307-13.
24. Carino C, Diaz L, Mendez I. Zona Pellucida antigens in the human oocytes: their importance in contraceptive strategies. *Rev Invest Clin* 2001; 53 (2): 174-80.
25. Vidaeus CM, von Kapp-Herr C, Golden WL, Eddy RL, Shows TB, Herr JC. Human fertilin beta: identification, characterization, and chromosomal mapping of an ADAM gene family member. *Mol Reprod Dev* 1997 Mar; 46 (3): 363-9.
26. Adiga PR, Subramanian S, Rao J ve Kumar M. Prospects of riboflavin carrier protein (RCP) as an antifertility vaccine in male and female mammals; *Hum. Reprod. Update* 1997; 3: 325-34.
27. Goodwin LO, Karabinus DS, Pergolizzi RG. Presence of N-cadherin transcripts in mature spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 2000 Jun; 6 (6): 487-97.
28. Francavilla F, Santucci R, Macerola B, Ruvolo G, Romano R. Nitric oxide synthase inhibition in human sperm affects sperm-oocyte fusion but not zona pellucida binding. *Biol Reprod* 2000 Aug; 63 (2): 425-9.
29. Talwar GP, Sharma NC, Dubey SK, Salahuddin M, Das C, Ramakrishnan S, et al. Isoimmunization against human chorionic gonadotropin with conjugates of processed β -subunit of the hormone and tetanus toxoid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 218-22.
30. Pal R, Singh O. Absence of corpus luteum rescue by chorionic gonadotropin in women immunized with a contraceptive vaccine 2001; 2: 332-6.
31. Talwar GP, Singh O, Pal R, Chatterjee N, Sahai P, Dhall K, et al. A vaccine that prevents pregnancy in woman. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8532-6.

Yazışma Adresi: Dr.Selman LAÇIN

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
MANİSA
lacins@egenet.com.tr