

Derleme

İMMUNOKONTRASEPSİYON YÖNTEMLERİ

1. ZONA PELLUCIDA AŞILARI

Güneş SERİN\*, İlker SERİN\*\*

Geliş Tarihi : 25.03.2005

Kabul Tarihi : 16.06.2005

Immunocontraception Methods 1. Zona Pellucida Vaccines

**Summary:** Zona pellucida (ZP) glycoproteins, due to their critical role in mammalian fertilization, have been used as immunogens in contraceptive vaccines. Immunocontraception using zona pellucida antigens, specifically porcine zona pellucida (pZP), has become one of the most promising reproductive control tools in the world today. This reviews describes the importance and features of contraceptive vaccine with zona pellucida glycoproteins, with data of recently studies.

**Key words:** Immunocontraception, zona pellucida, vaccine.

**Özet:** Memelilerdeki zona pellucida glikoproteinleri fertilizasyon sürecindeki kilit rolü nedeniyle kontraseptif aşıların üretiminde immunojen olarak kullanılmaktadır. Günümüzde domuz zona pellucida (pZP) antijenleri ile yapılan immunokontrasepsiyon çalışmaları üremenin kontrolünde büyük umut vaat etmektedir. Bu derlemede zona pellucida glikoproteinleri ile hazırlanan kontraseptif aşılar son dönem çalışmaların ışığında değerlendirilecektir.

**Anahtar sözcükler:** İmmunokontrasepsiyon, zona pellucida, aşı.

Giriş

Günümüzde gerek evcil gerekse vahşi hayvan popülasyonunda görülen istenmeyen artışlar ve bunların toplum sağlığına zarar verir duruma gelmesi etkili ve güvenli kontraseptif yöntemlerin kullanımını zorunlu hale getirmiştir (1,4). Bu hayvanların östrus belirtilerinin geçici yada devamlı olarak ertelenmesi, başlayan çiftleşme dönemlerinin yatıştırılması, implantasyonun engellenmesi ve gebeliklerinin sona erdirilmesine yönelik cerrahi, fiziksel ve hormonal sağıtım seçenekleri uzun

\* Dr. ADÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Reprodüksiyon Hst. ABD

\*\* Yrd Doç Dr. ADÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Reprodüksiyon Hst. ABD, AYDIN

süredir kullanılmaktadır. Bununla birlikte özellikle sokakta başıboş olarak yaşayan kedi, köpek gibi hayvanlarının üremelerinin engellenmesinde etik açıdan tartışma konusu olan ve temelinde yaşamlarının sona erdirilmesine dayanan yöntemler de vardır. Kullanımlarına bağlı olarak değişik derecelerde etkili olan bu yöntemlerin her birinin kendilerine özgü dezavantajlarının bulunması, araştırmacıların son yıllarda alternatif yöntemler üzerinde yoğunlaşmalarına neden olmuştur. Özellikle immunokontrasepsiyon ve immunosterilizasyon gibi çalışmalar son yıllarda hızla artan biçimde araştırma konusu olmuştur (1,11).

### **İmmunokontrasepsiyon nedir?**

Memelilerdeki üreme eylemi dişi ve erkek gametlerin üretimi ve fertilizasyon yerine taşınımı, gametlerin birleşimi (fertilizasyon) ve oluşan blastosistin endometriuma implantasyonu olarak başlıca üç ana başlık altında incelenebilir (16). Reprodüktif süreç içerisindeki bu üç önemli aşamadan en az birisinde aktif ve/veya pasif immunizasyon yoluyla yapısal veya fonksiyonel hasar oluşturulması ve bu sayede gebeliğin engellenmesi immunokontrasepsiyonun (aşı ile kontrasepsiyon) temelini oluşturmaktadır (16, 18).

İmmunokontrasepsiyon bireyin immun sisteminin gebelikten korunmaya yönelik olarak aktive edilmesi olarak tanımlanabilir. Fertilité düzenleyici aşular olarak da adlandırılan bu uygulamada gonadal hormonlar, spermatozoon, ovum ve embriyoya karşı oluşturulan humoral immun yanıt sayesinde fertilizasyon geçici olarak engellenebilmektedir. Aşılama sonrası birey ortalama 12 ay kadar steril kalmakta, dolaşımdaki immunglobulin seviyesinin düşmesini takiben üreme yeteneğini tekrar kazanmaktadır (1,11). Fertil döneme geri dönüşe izin veren immunokontraseptif aşuların etkin bir yöntem oluşu, sistemik yan etkisinin bulunmayışı, tek uygulamada başarı olanağı, ve diğer yöntemlere kıyasla oldukça ucuz bir yöntem olması avantajları arasında sayılmaktadır (1, 16, 18).

İmmunokontrasepsiyonda antijen görevi yapacak dişi ve erkeğe ait çeşitli reprodüktif moleküllerden yararlanılmaktadır. Anti-gonadotropik aşular için GnRH, FSH, LH hormonları; anti-ovum aşuları için zona pellucida (ZP) antijenleri; anti-sperm aşuları için laktik dehidrogenaz-X ve membran antijenleri; embriyoya karşı geliştirilen aşular için ise plasentanın yapısındaki antijenler ve plasental hormonlar (hCG) kullanılmaktadır (8, 14, 16, 24, 25). Bir kısmı deneme aşamasında olan bu antijenler reprodüktif süreçteki görevleri, istenen immun yanıtı oluşturma gücü, kolay bulunabilirliği, ucuzluğu ve yan etkileri gibi kriterler eşliğinde değerlendirilmektedir. Dişi bireyler için üretilen ZP aşuları sayesinde monoklonal ve poliklonal anti-ZP antikoları ovumu spermatozoonla karşı bloke ederek fertilizasyonu engellemektedir. Etki mekanizması hakkında farklı iddialar olmakla birlikte pek çok memeli türünde yaygın olarak uygulanan ZP aşularından olumlu sonuçlar alınmaktadır (1, 2, 5, 11, 30).

### **Oogenezis sürecinde ZP**

Ovaryumun kortikal bölümünde primordial germ hücresinden oosit aşamasına kadar uzanan oogenezis süreci içinde 4 follikül tipi görülmektedir. Dişi gametin ilk aşaması olarak kabul edilen primordial folliküller intrauterin yaşamın 3. haftasından itibaren görülmeye başlar. Primordial follikülün içindeki oosit sadece tek sıralı folliküler hücreler ile kaplıdır. Follikül ilerleyen zaman içerisinde giderek büyür ve oosit ZP ile çevrelenmeye başlar. Bu aşamaya Primer follikül adı verilmektedir. Primer follikül safhasında ZP immunolojik olarak tespit edilebilmekle birlikte, oositi tam olarak sarmalamamaktadır (11). Sekonder follikül aşamasında ise oosit etrafındaki hücreler üreyerek katmanlaşır. Preantral dönem olarak adlandırılan bu süreç içinde ZP'nin formasyonu tamamlanmıştır. Ardından gelen tersiyer ve Graaf follikülü aşamalarında da oositler ZP ile sarılı haldedir (19).

Tüm memeli oositlerinde bulunan ve glikoprotein yapısındaki bir zar olan ZP, fertilizasyon ve erken embriyonik dönemde önemli fonksiyonlara sahiptir. ZP türe spesifik spermatozoonun tanınması, akrozom reaksiyonunun indüksiyonu, spermatozoonun ovum içine penetrasyonu, polisperminin engellenmesi ve implantasyon öncesi blastosistin çeşitli patojenlere karşı korunmasında etkili rol oynamaktadır. Memeli türlerindeki ZP biyokimyasal ve immunolojik yönden ZP-1, ZP-2 ve ZP-3 olarak adlandırılan glikoprotein yapısındaki fraksiyonları içerir ve bunlar sperm bağlayıcı reseptör görevini görür (17, 18, 30). Reprodüktif değeri yüksek olan bu yapı immunokontrasepsiyon çalışmalarında hedef organ niteliğindedir.

### **Domuz ZP (pZP) antikorlarının immunokontrasepsiyonda kullanımı**

Çok miktarda ve kolay bulunan domuz ZP'si yüksek heterospesifik yapısı sayesinde yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır (3, 15, 18, 30). Domuz ZP'sinde bulunan pZP3 $\alpha$  insan ZP1'i ile homolog özelliklere sahiptir. Bu kısım spermatozoonun ovuma tutunumu ve penetrasyonunda oynadığı rol nedeniyle primer sperm reseptörü olarak da adlandırılmaktadır (1, 17).

Aşıların hazırlanmasında kullanılan adjuvanlar aşının uygulandığı türe bağlı olarak, immunojenik yanıt oluşturma gücü ve folliküler atrofiye neden olma olasılığı yönünden değerlendirilirler. Ancak farklı türlerdeki değişken sonuçlar daha etkin ve güvenli adjuvanların üretimi gerekliliğini ortaya koymaktadır (11).

Üretilen pZP proteinlerinin reprodüktif sisteme spesifik olması nedeniyle diğer dokular üzerinde etkisi yoktur (15). Barber ve Fayrer-Hosken (2) pZP' ye karşı üretilen antikorlarının at ve köpeklerden aldıkları 14 farklı somatik doku üzerinde çapraz reaksiyon oluşturmadığını bildirmiştir.

6. **Brown R.G., Bowen W.D., Eddington J.D., Kimmins W.C., Mezei M., Parsons J.L., and Pohajdak B.:** Evidence for an long lasting single administration contraceptive vaccines in wild grey seals. *J Reprod Immunol*, 1997; 35: 43-51.
7. **Delsink A.K., van Altena J.J., Kirkpatrick J., Grobler D., Fayrer-Hosken R.A.:** Field applications of immunocontraception in African elephants (*Loxodonta africana*). *Reprod Suppl.*, 2002; 60: 117-24.
8. **Delves P.J.:** How far from a hormone-based contraceptive vaccine? *J Reprod Immunol.*, 2004; 62: 69-78.
9. **Dunbar B.S.:** Ovarian antigens and infertility. *Am J Reprod Immunol*, 1989; 21: 28-31.
10. **Dunbar B.S., Prasad S., Carin C., and Ms, Skinner S.M.:** The Ovary as an Immune Target. *J Soc Gynecol Invest*, 2001; 8(1): 45.
11. **Fayrer-Hosken R.A., Dookwah H.D., and Brandon C.I.:** Immunocontrol in dogs. *Anim Reprod Sci*, 2000; 60, 365-373.
12. **Fayrer-Hosken R.A., Barber M.R., Crane M., Collins T., and Hodgden R.:** Differences in immunocontraceptive responses in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and goats (*Capra hircus*). *Reprod Suppl.*, 2002; 60:125-9.
13. **Fayrer-Hosken R.A., Bertschinger H.J., Kirkpatrick J.F., Grobler D., Lamberski N., Honneyman G. and Ulrich T.:** Contraceptive potential of the porcine zona pellucida vaccine in the African elephant (*Loxodonta africana*). *Theriogenology*, 1999; 52: 835-846.
14. **Ferro V.A., Khan M.A.H., McAdam D., Colston A., Aughey E., Mullen A.B., Waterson M.M., Harvey M.J.A.:** Efficacy of an anti-fertility vaccine based on mammalian gonadotropin releasing hormone (GnRH-I) a histological comparison in male animals. *Vet Immunol Immunop*, 2004; 101: 73-86.
15. **Gorman S.P., Levy J.K., Hampton A.L., Collante W.R., Harris A.L., and Brown R.G.:** Evaluation of a porcine zona pellucida vaccine for the immunocontraception of domestic kittens (*Felis catus*). *Theriogenology*, 2002; 58(1): 135-49.
16. **Griffin P.D.:** Contraceptive vaccines. Erişim adresi: [www.Gfmer.ch/Books/Reproductive-health/Contraceptives\\_vaccines.html](http://www.Gfmer.ch/Books/Reproductive-health/Contraceptives_vaccines.html); 2004
17. **Gupta S.K., Jethanandani P., Apfalzulkar A., Kaul R., and Santhanam R.:** Prospects of zona pellucida glycoproteins as immunogens for contraceptive vaccine. *Hum Reprod Update*, 1997; 3 (4): 311-324.
18. **Gupta S.K., Srivastava N., Choudhury S., Rath A., Sivapurapu N., Gahlay G.K., and Batra D.:** Update on zona pellucida glycoproteins based contraceptive vaccine. *J Reprod Immunol*, 2004; 62: 79-89.
19. **Hafez E.S.E.:** Folliculogenesis, Egg Maturation and Ovulation. In: *Reproduction in Farm Animals*. Ed. Hafez, E.S.E., Philadelphia, Lea & Febiger, 1987, 130-167.
20. **Ivanova M., Petrov M., Klissourska D., and Mallova M.:** Contraceptive potential of porcine zona pellucida in cats. *Theriogenology*, 1995; 43: 969-81.
21. **Kirkpatrick J.F., Turner J.W.:** Reversibility of action and safety during pregnancy of immunization against porcine zona pellucida in wild mares (*Equus caballus*). *Reprod Suppl.* 2002; 60:197-202.

22. Kirkpatrick J.F., Turner J.W. Jr, Liu I.K., and Fayrer-Hosken R.A.: Applications of pig zona pellucida immunocontraception to wildlife fertility control. *J Reprod Fertil Suppl.*, 1996; 50: 183-9.
23. Kirkpatrick J.F., Turner J.W. Jr, Liu I.K., Fayrer-Hosken R.A., and Rutberg A.T.: Case studies in wildlife immunocontraception: wild and feral equids and white-tailed deer. *Reprod Fert Develop.*, 1997; 9(1):105-10.
24. Ladd A., Tsong Y.Y., Walfield A.M., and Thau R.: Development of an antifertility vaccine for pets based on active immunization against luteinizing hormone-releasing hormone. *Biol Reprod.*, 1994; 51: 1076-1083.
25. Levy J.K., Miller L.A., Crawford P.C., Ritchey J.W., Ross M.K., and Fagerstone K.A.: GnRH immunocontraception of male cats. *Theriogenology*, 2004; 62: 1116-1130.
26. Mahi-Brown C.A., Yanagimachi R., Hoffman J.C., and Huang Jr T.T.: Fertility control in the bitch active immunization with porcine zonae pellucidae: Use of different adjuvants and patterns of estradiol and progesterone levels in estrous cycles. *Biol Reprod.*, 1985; 32: 761-772.
27. Miller L.A., Johns B.E., and Killian G.J.: Long-term effects of PZP immunization on reproduction in white-tailed deer. *Vaccine*, 2000; 18: 568-574
28. Rutberg A.T., Naugle R.E., Thiele L.A. and Liu I.K.M.: Effects of immunocontraception on a suburban population of white-tailed deer *Odocoileus virginianus*. *Biol Conserv*, 2004; 116: 243-250.
29. Sacco A.G., Pierce D.L., Subramanian M.G., DeMayo F.J.: Ovaries remain functional in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) immunized with porcine zona pellucida 55.000 macromolecule. *Biol Reprod*, 1987; 36: 481-490.
30. Sinowatz F., Toèpfer-Petersen E., Koëlle S., and Palma G.: Functional morphology of the zona pellucida. *Anat Histol Embryol*, 2001; 30, 257-263