

## KONTRACEPCIONE VAKCINE

**Bubanovi} Ivan**

[ibubanovic@yahoo.com](mailto:ibubanovic@yahoo.com)

Medica Centar - Ni{

### UVOD

Imunokoncepcija predstavlja metodu kontrole ra|anja koja se bitno razlikuje u odnosu na sva do sada poznata kontracepciona sredstava u skoro svim elementima koji odre|uju osobine i kvalitet jedne kontracepcione procedure. Osnovni koncept ove metode sadr`an je u imunizaciji mu{karaca i/ili `ena odre|enim molekulom sa posledicnim reme}enjem reproduktivnih procesa i uspostavljanjem privremene infertilnosti. Molekuli (antigeni) koji bi mogli da budu osnova kontracepcionih vakcina su svi molekuli koji imaju klju- nu ulogu u reproduktivnom procesu, kao {to su hormoni, receptori }elijske membrane gameta, proteinski faktori maturacije i transporta gameta i sl. Prednosti imunokoncepcionih procedura u odnosu na tradicionalna kontracepciona sredstva sadr`ane su u veoma jednostavnoj primeni, visokom stepenu komfora, pouzdanosti, niskoj ceni, zatim u mogu}nosti epidemijske primene na ve}e populacije divljih ili doma}ih `ivotinja. Nasuprot ovome, postoji niz rizika i komplikacija koje su vezane za kontracepcione vakcine. Naime, zbog -injenice da antigensku osnovu kontracepcionih vakcina -ine tzv. *self* molekuli postoji realna mogu}nost pokretanja autoimunskih procesa na polnim organima kao {to je autoimunski orhitis, epididimitis, autoimunska ovarijalna bolest (AOD) i ireverzibilno o{te}enje gametogeneze i steroidogeneze. Osim toga, nove mogu}nosti kreiranja rekombinantnih mikroorganizama koji bi ekspimirali kontracepcione antigene i mogu}nost epidemijske imunizacije daju imunokoncepcionim procedurama karakteristike pravog biolo{kog oru`ja.

**Klju-ne re-i: Kontracepcija, vakcine.**

### MOLEKULI SA IMUNOKONTRACPCIONIM POTENCIJALOM

Prve kontracepcione vakcine su osmi{l}jene i testirane u eksperimentalnim uslovima tokom dvadesetih i tridesetih godina pro{loga veka. Ove vakcine su bile bazirane na sme{i spermatozoida i Freundovog adjuvansa. S obzirom da je imunizacija vr{ena celim spermatozoidima, pokretanje humoralnog poliklonalnog pa i }elijskog imunskog odgovora koji je bio usmeren protiv velikog broja spermatozoidnih antigena bila je uobi-ajena pojava. Poliklonalnost imunskog odgovora nije bila faktor efikasnosti ove vakcine, ve} izvor alergijskih i autoimunskih komplikacija.<sup>1</sup> Eksperimenti na animalnim modelima su pokazali da imunizacija membranama spermatozoida rezultuje dobrim antispermatozoidnim odgovorom i zna-ajnim smanjenjem fertiliteta imunizovanih `ivotinja.<sup>2</sup> Kummerfeld i sar.<sup>3</sup> navode smanjenje fertiliteta imunizovanih ze-ica za 98% u odnosu na fertilitet `enki u kontrolnoj grupi.<sup>3</sup> Danas je poznat veliki broj hormona, }elijskih receptora i proteinskih faktora maturacije i transporta gameta koji bi mogli imati ulogu antigenske osnove kontracepcione vakcine. Ovi antigeni se mogu klasifikovati u nekoliko najzna-ajnijih grupa:

- 1) Antigeni epididimisa, semenih kesica i prostate.
- 2) Membranski proteini spermatozoida.

- 3) Hormoni i odgovaraju}i receptori koji u-estvuju u reproduktivnom procesu; GnRH, LH, FSH, progesteron, hCG i sl.
- 4) Membranski proteini ooleme, zone pelucide (ZP) i verovatno korone radijate.
- 5) Antigeni trofoblasta i embriona.<sup>4,5</sup>

Me|u najzna-ajnije molekule sa imunokontracepcionim potencijalom spadaju epididi-malni spermatozoidni faktor (ESF), proteinski nosa- riboflavina (RCP), inhibin semene plazme (SPI), izoenzim laktat dehidrogenaze-4 (LDH-C4), spermatozoidni izoenzim hijaluronidaze (PH-20), fertilizacioni antigen (FA-1), spermatozoid-oocita vezuju}i protein-2 (SOB-2), gonadotropin rilizng faktor (GnRH),  $\beta$ -subjedinica folikulostimiliraju}eg hormona ( $\beta$ -FSH),  $\beta$ -subjedinica ho-rionskog gonadotropina ( $\beta$ -hCG), receptori zone pelucide 1,2,3 i 4 (ZP-1,2,3 i 4), receptori oocitne membrane (OM) i td.

Tabela 1. Najzna-ajnji molekuli sa imunokontracepcionim potencijalom, njihova efikasnost, naj-e{e komplikacije, mogu}nost imunizacije mu{kara/`ena i reverzibilnost fertilitnosti posle imunizacije

| Molekul/Literatura         | Funkcija                               | Kontracepciona efikasnost | Komplikacije                     | Imunizacija mu{kara/`ena | Reverzibilnost infertilitnosti |
|----------------------------|--|---------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| 26 kDa ESF <sup>7</sup>    | Maturacija spermatozoida               | 50-100%                   | Epididimitis                     | +/+                      | Spora i nepotpuna              |
| RCP <sup>8</sup>           | Metabolizam riboflavina                | 50-75%                    | /                                | +/+                      | Potpuna                        |
| SPI <sup>9</sup>           | Maturacija spermatozoida               | 75%                       | Epididimitis, orhitis            | +/+                      | Potpuna                        |
| LDH-C4 <sup>10</sup>       | Genitalni izoenzim laktat dehidrogenze | 50-98%                    | /                                | +/+                      | Potpuna                        |
| PH-20 <sup>11</sup>        | Reakcija spermatozoid-ZP               | 50-100%                   | Epididimitis, orhitis            | +/+                      | Potpuna                        |
| FA-1 <sup>12</sup>         | Reakcija spermatozoid-ZP               | 100%                      | Epididimitis, orhitis            | +/+                      | Nepotpuna                      |
| SOB-2 <sup>13</sup>        | Reakcija spermatozoid-oocita           | 70-90%                    | ?                                | +/+                      | ?                              |
| GnRH <sup>14</sup>         | Kontrola sekrecije gonadotropina       | 70-90%                    | Poreme}aj reproduktivnih ciklusa | +/+                      | Spora i nepotpuna              |
| $\beta$ -FSH <sup>15</sup> | Gonadotropinski efekti                 | 80-100%                   | Poreme}aj reproduktivnih ciklusa | +/+                      | Spora i nepotpuna              |
| $\beta$ -hCG <sup>16</sup> | Odr`avanje `utog tela trudno}e         | 70-95%                    | /                                | -/+                      | Potpuna                        |
| ZP1 <sup>17</sup>          | Reakcija spermatozoid-ZP               | 70-85%                    | AOD                              | -/+                      | Nepotpuna                      |
| ZP2 <sup>18</sup>          | Reakcija spermatozoid-ZP               | 70-85%                    | AOD                              | -/+                      | Nepotpuna                      |
| ZP3 <sup>19</sup>          | Reakcija spermatozoid-ZP               | 70-90%                    | AOD                              | -/+                      | Nepotpuna                      |
| ZP4 <sup>20</sup>          | Reakcija spermatozoid-ZP               | 76%                       | AOD                              | -/+                      | Nepotpuna                      |
| OM <sup>21</sup>           | Reakcija spermatozoid-oocita           | 100%                      | ?                                | -/+                      | ?                              |

Najzna-ajnije komplikacije koje se javljaju posle imunizacije celim }elijama, delovima }elija ili celim molekulima odnose se na razvijanje autoimunskih reakcija na semenim kesicama, epididimisu, prostati, testisima i jajnicima. Autoimunska reakcija, koja podrazumeva zapaljenjsku reakciju, limfocitnu i mononuklearnu infiltraciju, i kasnije fibroznu reakciju, dovodi do atrofije zahva}enog organa i delimi-nog pa -ak i potpunog gubitka funkcije. U najdrasti-nijim formama ove komplikacije se manifestuju kao poreme}aj steroidogeneze i gametogeneze, gubitak ritmi-nosti reproduktivnih ciklusa, gubitak libida i td. Poreme}aj funkcije bubrega zbog talo`enja imunskih kompleksa u glomerulima, arterioskleroza ili aktivacija autoimunskih proce-

sa na drugim organima su izuzetno retke ali ipak mogu) e komplikacije konreacepcione vakcinacije.<sup>4,5</sup>

## STANDARDI ZA IZBOR MOLEKULA SA IMUNOKONTRACEPCIONIM POTENCIJALOM

Ve}ina pomenutih molekula ne zadovoljava neki od kriterijuma nu`no postavljenih pred antigene kontracepcione vakcine. Standardi koji se name}u pred budu}u kontracepcionu vakcinu su visoki i odnose se na efikasnost i pouzdanost vakcine, kao i na problematiku komplikacija koje uglavnom podrazumevaju pokretanje autoimunskih procesa. Iz ovih razloga, strategija identifikacije potencijalnog antigena na kome bi se bazirala budu}a kontracepciona vakcina projektovala je mogu}e karakteristike idealnog vakcinacionog antigena. Kao proizvod ovih razmatranja definisane su osobine idealnog antigenskog kandidata imunokontracepcione vakcine kao {to su:

- Esencijalna uloga u reproduktivnom procesu.<sup>4,5,6</sup>
- Dobra imunogeni-nost.<sup>4,5,6</sup>
- Visok stepen tkivne specifi-nosti.<sup>4,5,6</sup>
- Pristupa-nost i otkrivenost antigena.<sup>4,5,6</sup>
- Puni kontracepcioni efekti se posti`u najni`im mogu}im titrom antitela.<sup>4,5,6</sup>
- Mogu}nost primene kod mu{kara i `ena.<sup>4,5,6</sup>
- Ve}ina imunizovanih jedinki reaguje uniformno.<sup>4,5,6</sup>
- Imunizacijom se posti`e infertilnost svih ili ogromne ve}ine imunizovanih jedinki.<sup>4,5,6</sup>
- Reverzibilnost infertilnosti.<sup>4,5,6</sup>
- Minimalna mogu}nost pokretanja alergijskih, anafilakti-kih i autoimunskih reakcija.<sup>4,5,6</sup>
- Imunizacija ne ometa proces gametogeneze i steroidogeneze.<sup>4,5,6</sup>
- Imunizacija ne remeti ritam menstrualnog ciklusa.<sup>4,5,6</sup>
- Imunizacija ne smanjuje libido.<sup>4,5,6</sup>
- Niska cena proizvodnje vakcine i same vakcinacije.<sup>4,5,6</sup>

## MODELI IMUNOKONTRACEPCIONIH PROCEDURA

U odnosu na tradicionalne vakcine procedura kontracepcione vakcinacije se razlikuje u nekim va`nim elementima. Sami celjevi kontracepcionih imunizacionih procedura su sadr`ani u kontroli prira{tja ljudi i `ivotinja na nivou jedinke, porodice i populacije. Osim toga, tradicionalne vakcine su u svakom slu-aju bazirane su na stranim molekulima, dok su kontracepcione vakcine bazirane na tzv. *self* molekulima, odnosno na molekulima -ije je prisustvo u organizmu fiziolo{ko pa je njihova imunogeni-nost znatno manja. Iz ovih razloga imunizacija ovim antigenima je naj-e{e ote`ana i zahteva specifi-niju imunizacionu proceduru kao i dodatnu obradu vakcinacionog antigena. Na kraju, mo`e se re}i da je ireverzibilna senzibilizacija na vakcinacioni antigen jedna od najpo`eljnih karakteristika tradicionalnih vakcina. Nasuprot ovome, mogu}nost desenzibilizacije i reverzibilnost fertilitnosti u imunokontracepcionom smislu je veoma po`eljna karakteristika kontracepcione vakcine.<sup>4,5</sup>

U odnosu na vreme dejstva kontracepcione vakcine mogu biti podeljene na prefer-tilizacije i postfertilizacije. Mehanizmi akcije prefertilizacionih vakcina zasnovani su na inhibiciji maturacije, imobilizaciji, aglutinaciji, citolizi spermatozoida ili blokiranju spermatozoidnih, zonalnih i oocitnih receptora specifi-nim receptorima. Postfertilizacije vakcine su bazirane na antigenima ranog konceptusa, trofoblasta, embriona i posteljni-hormona, tako da se efekti postfertilizacionih vakcina mogu okarakterisati kao abortogeni.<sup>4,5</sup>

Kontracepcione vakcine se mogu primenjivati kako na mu{karcima tako i na `enama. U kontracepcionom smislu kod `ena postoji mogu}nost imunizacije na veliki broj molekula, pa -ak i na antigene spermatozoida. Sa aspekta komplikacija kontracepcione imunizacije najprihvatljivijim se -ini model imunizacije `ena antigenima koji poti-u iz mu{kog genitalnog trakta, jer je u tom slu-aju mogu}nost javljanja komplikacija imunizacije u vidu pokretanja autoimunskih mehanizama samo teoretska. Nasuprot ovome, sama priroda reproduktivnog procesa us-

kratila je mogućnost kontracepcione imunizacije antigenima postfertilizacionih vakcina, antigenima ZP i oocite. Mogućnosti koje preostaju za potencijalnu kontracepcionu vakcinu namenjenu muškarcima su vaccine bazirane na antigenima (faktorima) maturacije spermatozoida, membranskim antigenima spermatozoida i hormonima kao što su FSH i LH.<sup>4,5</sup> Osim aktivne imunizacije u cilju postizanja kontracepcionih efekata, danas se sve više istražuje mogućnost pasivne imunizacije antitelima. Za razliku od aktivne imunizacije kada se imunizacija postiže inokulacijom antigena, pasivna kontracepciona imunizacija se zasniva na administriranju specifičnih tzv. antifertilizacionih antitela, koja su najčešće monoklonska i dobijena su industrijskim putem. Molekule se inaktiviraju postiče pasivnom imunizacijom može da bude bilo koji od molekula sa kontracepcionim potencijalima. Najveća prednost pasivne imunizacione procedure u odnosu na proceduru aktivne imunizacije je u strogom selekcionisanju ciljnog antigena ili čak epitopa antigena, administriranju monospecifičnih antitela, maloj mogućnosti kolateralnih oštećenja tkiva i izostanku aktivacije ćelijskog imuniteta. S obzirom da je aktivnost administriranih antitela ograničena u vremenskom smislu, padom titra antitela ispod određene granice, fertilitet imunizovane jedinke je siguran i potpun. Druga mogućnost za ponovno uspostavljanje fertiliteta imunizovane jedinke sastoji se u tretmanu specifičnim anti-antitelima (npr. anti-anti-ZP antitela), koja mogu neutralisati anti-fertilizaciona antitela (u ovom slučaju anti-ZP antitela) i dovesti do ponovnog uspostavljanja fertiliteta. Procedura pasivne kontracepcione imunizacije je znatno manje komforna u odnosu na proceduru aktivne imunizacije. Naime, zbog potrebe za stalnim ponavljanjem pasivne imunizacije (svaka 2 do 3 meseca) i zbog neophodnosti permanentnog održavanja određenog titra antifertilizacionih antitela, smatra se da imunizacija kontracepcionim vakcinama pruža znatno više udobnosti, odnosno obavezu revakcinacije svakih 6 do 12 pa i više meseci. Osim toga, kontracepciona procedura pasivne imunizacije ne pruža mogućnosti masovne ili epidemijske imunizacije domaćih i divljih životinja. Ograničenja u tom smislu su višestruka i odnose se na nemogućnost primene rekombinantnih mikroorganizama i nemogućnost oralne administracije antifertilizacionih, odnosno kontracepcionih antitela. Sa aspekta pouzdanosti, prednost se takođe daje proceduri aktivne imunizacije. Ovo se objašnjava mogućnošću imunizacije pasivno imunizovanih jedinki na sama kontracepciona antitela, odnosno na mogućnost produkcije anti-anti-fertilizacionih antitela (npr. anti-anti-ZP antitela), koja bi umanjila u-inak pasivne imunizacije.<sup>4,5</sup>

Diseminirajuće metode imunokontracepcije podrazumevaju sve one procedure bazirane na vakcinama sa živim rekombinantnim mikroorganizmima koji ekspiriraju kontracepcioni antigen, tako da se nakon imunizacije ili bolje rečeno inficiranja određenog broja jedinki, mikroorganizam proširi i imunizuje celitavu populaciju. Ovaj vid imunokontracepcije se još naziva i *vektorska imunokontracepcija* i naročito je pogodan za primenu na populacijama sitnih glodara kao što su miševi i pacovi. Pored prednosti koje pruža vektorska imunokontracepcija kao što su efikasnost, jednostavnost i niska cena procedure, postoje određene opasnosti i potencijalne komplikacije koje ova metoda nosi sa sobom. U tom smislu najčešće se pominje mogućnost nekontrolisanog širenja vektora na druge populacije tretirane vrste, nemogućnosti vremenskog ograničenja delovanja vektora, mutiranje vektora i njegovo širenje na druge vrste i ljude ili čak zloupotreba imunokontracepcionih vektora i njihova primena u vojne svrhe.<sup>4,5,6</sup>

## ZAKLJUČAK

Kontracepciona imunizacija predstavlja jednu sasvim novu mogućnost u celokupnom fenomenu kontrole prirođajnih ljudi i životinja. Ova metoda u problematiku kontracepcije unosi neke sasvim nove kvalitete kao što je masovna i neselektivna primena na velike populacije, vektorsko širenje kontracepcionog agensa, niske cene proizvodnje vaccine, velika udobnost i sigurnost procedure. Carl Djerassi, koji je od mnogih autora proglašen "ocem *anti-baby*" pilula, o ideji imunokontracepcije je rekao: "Imunokontracepcija predstavlja najrevolucionarniji napredak u celokupnoj problematici kontracepcije. Ovaj pristup radikalno menja naše shvatanje kontracepcije i kontrole rađanja kod ljudi i životinja".<sup>22</sup>

## LITERATURA

1. Bernstein L. et al., Localized and systemic hypersensitivity reactions to human seminal fluid. *Ann Int Med* 1981; 94: 459-463.
2. Menge A.C. et al., Sperm fraction responsible for immunologic induction of pre and postfertiization fertility in rabbit. *Biol Reprod* 1979; 20: 931-937.
3. Kummerfeld H.L. Infertility and embryonic mortality in female rabbits immunized with different sperm preparations. *Biol Reprod* 1976; 14: 300-305.
4. Bubanovi} I., Najman S., Pop-Trajkovi} Z. *Imunokoncepcija*, monografija, Mrlje{-Beograd, 2002.
5. Christian J.H. *Contraceptive Research and Development: Looking to the Future*. 1996; The National Academy of Scientist USA.
6. Barlow N.D. The ecological challenge of immunocontraception: editor's introduction. *J of Applied Ecology* 2000; 37: 897-902.
7. Umashashi C. et al., Antibody Discretion to 26 kDa Epididymal Sperm Protein Inhibit Sperm Maturation, Function and Fertility Significantly in Mouse. In: *Reproductive Immunology*. Eds. Gupta S.K. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1999; 316-333.
8. Karande A.A. et al., Early pregnancy termination in rats immunized with denaturated chicken riboflavin carrier protein. *Ind J Biochem Biophys* 1991; 28: 476-480.
9. Vanage G.R. et al., Effect of immunization with synthetic peptide corresponding to region 1-17 of human seminal plasma inhibin on fertility of male rats. *Arch Androl* 2000; 44/1: 11-21.
10. Goldberg E., LDH-C4 as an immunocontraceptive model. In: *Gamete Interaction: Prospects for Immunocontraception*, Eds. Alexander N.J. et al., Wiley-Liss, New York, 1990.
11. Tung K.S.K. et al., Immunobiological consequence of immunization of female mice with homologous spermatozoa: induction of infertility. *J Reprod Immunol* 1979; 1: 145-158.
12. Naz R.K. et al., Recombinant fertilization antigen-1 causes a contraceptive effect in actively immunized mice. *Biol Reprod* 1998; 59/5: 1095-1100.
13. Lefevre A. et al., Characterization and isolation of SOB2, a human sperm protein with a potential role in oocyte membrane binding. *Mol Hum Reprod* 1997; 3/6: 507-516.
14. Miller L.A. et al., Immunocontraception of white-tailed deer with GnRH vaccine. *Am J Reprod Immunol* 2000; 44/5: 266-274.
15. Moudgal N.R. et al., Responsiveness of human male volunteers to immunization with ovine follicle stimulating hormone vaccine: results of a pilot study. *Hum Reprod* 1997; 12/3: 457-463.
16. Kharat E. et al., Analysis of menstrual records of women immunized with anti-hCG vaccines inducing antibodies partially cross-reactive with hLH. *Contraception* 1990; 41: 293-299.
17. Gupta S.K. et al., Prospects of zona pellucida glycoproteins as immunogens for contraceptive vaccine. *Hum Reprod Update* 1997; 3/4: 311-324.
18. Sun W. et al., A contraceptive peptide vaccine targeting sulfated glycoprotein ZP2 of the mouse zona pellucida. *Biol Reprod* 1999; 60/4: 900-907.
19. Afzalpurkar A. et al., 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; 12/12: 2664-2670.
20. Koyama K., et al., Antibody response to a synthetic pZP4 peptide recognized by a fertilization-blocking monoclonal antibody. In: *Reproductive Immunology* Eds. Gupta S.K. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1999; 295-302.
21. Naz R.K. et al., Inhibition of murine sperm-oolemma binding by antibodies to an oocyte membrane (OM) antigen: implication in contraceptive vaccine development. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45/1: 52-61.
22. Djerassi C., The bitter pill. *Science* 1989; 245: 356-357.