

Kontraseptif Aşılar

Contraceptive Vaccines: Review

Müberra NAMLI KALEM,^a
Aydın KÖŞÜŞ,^a
Nermin KÖŞÜŞ,^a
Ziya KALEM,^b
Ayla AÇAR ESER^a

^aKadın Hastalıkları ve Doğum AD,
Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Ankara

^bSerbest Hekim,
Çorum

Geliş Tarihi/Received: 19.06.2014
Kabul Tarihi/Accepted: 02.10.2014

Yazışma Adresi/Correspondence:
Müberra NAMLI KALEM
Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
muberranamli@hotmail.com

ÖZET Dünya nüfusunun ve istenmeyen gebelik oranlarının giderek artması, dünya çapında majör bir halk sağlığı sorunudur. Dünya nüfusu günümüzde 6,8 milyara kadar ulaşmıştır ve her 12 yılda bir de 1 milyar daha artmaktadır. Dünya çapında her yıl 80 milyon kadının plansız veya istenmeyen gebeliklerle karşı karşıya geldiği ve bu gebeliklerin de 45 milyon kadarının istemli olarak sonlandırıldığı tahmin edilmektedir. Bu kadınların çoğunluğunun da bir kontraseptif yöntem kullandığı bilinmektedir. Bütün bu bilgiler istenmeyen gebelikten korunmak konusunda alternatif bir kontraseptif yöntemle kesinlikle ihtiyaç olduğu anlamına gelmektedir. Bu konuda iyi bir aday yöntem olan immünokontrasepsiyonda ana prensip, istenmeyen gebeliğe karşı korunmak için immün sistemi kullanmaktır. Kontraseptif aşı geliştirilmesi için 1900'lü yıllardan beri çok sayıda hedef seçilmiştir ve kullanılmaktadır. Seçilen hedeflere göre kontraseptif aşılar üç ana gruba ayrılabilirler. İlk grupta yer alan GnRH, FSH ve LH aşıları gamet üretimini inhibe ederler; ikinci grup gamet fonksiyonlarını bozan aşılar, antisperm ve zona pellucida aşıları bu gruptadır; üçüncü grup aşılar ise fertilizasyon sonrası hCG'yi bloke eder. hCG'yi hedef alan aşılar kadında Faz 1 ve Faz 2 çalışmalara ulaştığı ve cesaret verici sonuçlar alındığı halde, kontraseptif aşıların insan kullanımı kısa vadede mümkün gözükmemektedir. Kontraseptif aşıların majör problemlerinden biri, immün yanıtın bireyler arasında çok geniş varyasyonlar göstermesidir. Gelecekte genomiks, proteomiks ve immünolojideki gelişmelerle birlikte daha spesifik hedefler ve daha güçlü aşılar geliştirilebilecektir. Bu makalenin amacı, kontraseptif aşı çalışmaları ile ilgili geçmişten günümüze edinilen bilgilerin derlenip özetlenmesidir.

Anahtar Kelimeler: Aşılar, gebelik önleyici; doğum kontrolü, immünolojik; koryonik gonadotropin, beta alt ünitesi, insan; sperm-ovum ilişkileri

ABSTRACT The population growth and unintended pregnancies are major public health issues worldwide. The world population has exceeded 6.8 billion and is increasing by 1 billion every 12 years. An estimated 80 million women have unintended or unwanted pregnancies worldwide annually and 45 million of these end in abortion. Most of these women use some type of contraceptive. All of these means there is an absolute need for an alternative form of contraceptive. Basic principle of immunocontraception is using the immune system to provide protection against an unwanted pregnancy. Since the 1900s, several antigens have been used as target for developing contraceptive vaccines. According to the targets, contraceptive vaccines can be categorized into three groups. First group GnRH, FSH, LH based vaccines inhibits production of gametes; the second group antisperm and zona pellucida based vaccines, impairs gamete outcome and the third group blocks the human chorionic gonadotropin (hCG) after fertilization. Although the vaccines targeted hCG that has undergone phase 1 and phase 2 clinical trials in women as a contraceptive vaccines with the encouraging results; nevertheless immunocontraception for the human use will not be available in the near future. One of the major challenges for the contraceptive vaccines is inter-individual wide variation of the immune response. In the future, in relation to progress in the field of genomics, proteomics and immunology; more specific targets and more potent vaccines will be developed. The aim of this article is to review and summarise past and present knowledge about contraceptive vaccines researchs.

Key Words: Vaccines, contraceptive; contraception, immunologic; chorionic gonadotropin, beta subunit, human; sperm-ovum interactions

doi: 10.5336/gynobstet.2014-41152

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2016;26(1):42-51

Dünya sağlık örgütü (DSÖ), aile planlamasını bireylerin ve çiftlerin diledikleri zaman aralığında ve diledikleri sayıda çocuk sahibi olabilmelerini sağlamak şeklinde tanımlamaktadır.¹ Kontrasepsiyon başarısı kadın seksüel ve reproduktif sağlığında olduğu kadar toplumların gelecek planlamasında da çok önemli role sahiptir. Özellikle az gelişmiş ülkelerde hızlıca artan ve endişe oluşturan dünya nüfusunu kontrol altında tutabilmek, gelişmiş ülkelerde ise istenmeyen gebelik oranlarındaki artışa engel olabilmek için son 50 yılda kontraseptif yöntem geliştirme çalışmaları büyük bir ivme kazanmıştır.^{2,3}

Günümüzde kullanılmakta olan kontraseptif yöntemlere rağmen hâlâ istenmeyen gebelikler oluşmaktadır, bu nedenle kolay uygulanabilir, etkili ve gelişmiş ülkelerde olduğu kadar gelişmekte olan ülkelerde de ulaşılabilir daha iyi bir yöntem arayışı devam etmektedir.^{4,5} İmmünokontrasepsiyon; vücudun immün defans mekanizmalarını istenmeyen gebelik oluşumunu engellemek için kullanmak prensibine dayanır ve kontraseptif aşı çalışmaları bu büyük boşluğu doldurabileceği umuyla sürdürülmektedir.⁶

Uzun zamandır devam eden bu çalışmalarda, çeşitli hayvan türlerinde erkek ve dişide büyük başarılar elde edilmiş, aşılarda vahşi doğa popülasyon planlamalarında ve evcil hayvanlarda cerrahi sterilizasyonun yerine kullanılmaya hazır hale gelmiştir.^{6,7} İnsan kullanımında ise kısıtlayıcı faktörlerden dolayı sadece kadın popülasyonunda human koryonik gonadotropin (hCG) aşılı Faz 2 seviyelerine ulaşmayı başarabilmiştir. Bireysel immünitadaki varyasyonlar nedeniyle kısıtlanmakta olan çalışmalar kontraseptif aşılarda kısa vadede insan kullanımına sunulacağı mesajını vermese bile hâlâ ümit verici olarak devam etmektedir.⁷⁻¹⁰

Bu derlemede, kontraseptif aşılarda vadettikleri tarihçesi, bugünü, handikapları ve geleceği konusu incelenecektir. Dönem dönem artan ve azalan heyecanlarla seyreden bu zorlu konuda büyük katkıları olan Aitken ve Mc Laughlin ekibinin 2011 yılında yayımladıkları derlemedeki şu cümle önemlidir: *İnsan fertilité kontrolünde kontraseptif aşı çalışmaları E.O. Wilson'ın Marksizm hakkındaki ünlü yorumunu çağrıştırmaktadır- "Harika teori, yanlış tür".*¹¹

İMMÜNOKONTRASEPSİYONUN VADETTİKLERİ

İmmünokontrasepsiyon, aktif veya pasif immünizasyon yoluyla reproduktif sürecin herhangi bir basamağındaki bir ajana yönelik immün reaksiyon oluşmasını sağlayarak, süreci o basamakta durdurmayı hedeflemektedir. Bu bakış açısıyla hâlen kullanılan kontraseptif yöntemlere çok sayıda üstünlüğü vardır:

- Erkeklerde de kullanılabilir olması
- Menstrüel, sistemik, metabolik, endokrin problemlerden bağımsız olması
- Seksüel aktiviteden bağımsız olması
- Uygulama kolaylığı (sistemik-oral)
- Öngörülen uygulama sıklığının uzun olması (6,12,18 ay)
- Kullanıcı hatalarının azalmış olması
- Yüksek etkinliğe sahip olması
- Ekonomik üretim sağlanabilmesi

İdeal bir kontraseptif aşı yukardaki özelliklere ek olarak aynı zamanda güvenli, uzun etkili, istenildiğinde reversibl ve hedefine spesifik olmalıdır.^{4,6,7,11,12}

İMMÜNOKONTRASEPSİYONUN TARİHÇESİ

İmmünokontrasepsiyonun tarihçesi 1899 yılında Karl Landsteiner ve Serge Metchnikoff adlı araştırmacıların birbirinden bağımsız olarak farklı türlerde sperm enjeksiyonunun antikor cevabı oluşturduğunu göstermelerine dayanır.^{13,14} 1900'lü yılların başlarında sperm enjekte edilen hayvanlarda bir infertilite süreci oluşturulabildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmeye devam edilirken; Morris J Baskin 1932 yılında yayımladığı çalışma ile bu konuda bir çığır açmıştır.¹⁵ Baskin, bu çalışmada ilk defa kendi eşlerinin spermi ile fertil kadınlarda reversibl bir infertilite süreci oluşturmuştur. Hatta bu spermatoksik aşı için 1937 yılında US patenti alınmıştır (US patent no 2103240) ancak aşının nonspesifik olması, ilerki yıllarda çalışmaların etik olarak kısıtlanmasına yol açmıştır. 1950-1970 yılları arasında antisperm aşı çalışmaları sürdürülmüş; 1970'lerde ise araştırmacılar kontraseptif aşı geliştirmede sperm yanı sıra diğer hedeflerin de kullanımını araştırmaya başlamışlar-

dır. İlerleyen yıllarda idiyopatik infertilitede immünojenik faktörlerin rol oynadığını düşündüren çalışmaların sperm, zona pellucida ve FSH'ye karşı otoantikolar geliştiğini göstermiş olması, immünokontrasepsiyonda cesaret verici olmuştur.¹⁶⁻¹⁸ Kontraseptif aşı geliştirme çalışmaları, reproduktif sistemde kritik rol oynayan hormon ve proteinlere karşı humoral ve/veya hücrel immünite geliştirme ve böylece biyolojik aktivitelerini nötralize ederek fertilitiyi bloke etmek amacıyla yönelik olarak özellikle hCG üzerinden sürdürülmektedir.¹⁹

HEDEF ANTİJENLERE GÖRE KONTRASEPTİF AŞILAR

Kontraseptif aşilar, reproduktif trakt boyunca hedef aldıkları antijene göre üç büyük sınıfa ayrılırlar:

1. Gamet üretimini hedef alan aşilar: GnRH, FSH ve LH'yi immün sistem aracılığı ile nötralize etmek veya reseptörlerine karşı immün yanıt oluşturmak suretiyle gametogenezini inhibe ederler.

2. Gamet fonksiyonlarını hedef alan aşilar: Sperm ve oosit spesifik proteinlere karşı immün yanıt oluşturarak fonksiyonlarını bozarlar.

3. Fertilizasyon sonrasını hedef alan aşilar: hCG yi immün mekanizmalar aracılığı ile nötralize ederler.^{6,7,10,19}

Her aşı grubu, kendi hedef antijeninden sonraki fertilizasyon basamaklarını bloke etmektedir ve bu şekilde aşının istenmeyen etki profili şekillenmektedir. Gamet üretimini hedef alan aşiların hormonal disfonksiyona yol açması ve hCG aşısının aslında fertilizasyona değil de implantasyona engel olduğu gerçeği; teorik olarak insan kullanımında sperm ve oosit arasındaki etkileşimi bloke etmenin ideal yaklaşım olduğunu düşündürmektedir.^{11,19}

GAMET ÜRETİMİNİ HEDEF ALAN AŞILAR

GnRH AŞILARI

GnRH, primer olarak hipotalamustan sentez ve sekrete edilen bir dekaeptiddir.²⁰ Over, testis, prostat ve plasenta gibi bazı doku ve organlarda da varlığı/sentezi gösterilmiştir.^{21,22} GnRH, ön hipofizden FSH, LH üretimini tetikler. FSH ve LH sistemik dolaşıma katıldıktan sonra gonad fonksiyonlarını sti-

mule ederek hem gamet oluşumunu hem de seks steroidlerinin üretimini uyarırlar.^{6,7}

GnRH agonist ve antagonistleri ovarian stimulus protokollerinde, hormon bağımlı kanser terapilerinde ve kontrasepsiyonda kullanmak için yüksek potansiyele sahip ajanlardır.^{19,23,24} GnRH karşıtı monoklonal antikoların fare, köpek ve maymunlarda laboratuvar deneyimleri GnRH'nin reproduktif süreçte kritik rol oynadığını ve fertilitate blokajında kullanılabileceğini göstermiştir.^{25,26}

Başlangıçta GnRH aşilarının etkinlikleri düşük ve türler arası varyasyonlar fazla olduğu için geliştirme çalışmalarında immün cevabı generalize etmek için tetanoz toksoidi (TT), difteri toksoidi (DT), hemocyanin, ovoalbumin gibi taşıyıcı proteinlerle konjugasyonları formülize edilmiştir.²⁷ Rekombinant DNA teknolojisi ile aşılarda uygun maliyetin artırılması ve üretim sürecindeki partiler arası farklılıkların giderilmesi hedeflenmiştir.²⁸ İmmünizasyonu arttırabilmek için bakteri ve viral vektörler kullanarak T-helper immüniteden de yardım alınmıştır.²⁹

GnRH aşı çalışmalarının neticesinde laboratuvar, evcil hayvan ve vahşi doğada alınan sonuçlarda vahşi atlarda GonaCon B%39-64, SpayVac %27-48 gibi oranlardan, tekrarlayan immünizasyonlarda alageyiklerde SpayVac%100, evcil kısıraklarda SpayVac%100, erkek domuzlarda İmproVac%100 gibi başarılı sonuçlara kadar geniş bir varyasyon izlenmektedir. Bu bilgiler özellikle tekrarlayan immünizasyonlarda en yüksek kontraseptif başarıya ulaşıldığını göstermektedir.³⁰⁻³²

GnRH aşilarının hem erkek hem dişi popülasyonda kullanılabilir olması en önemli avantajıdır. Ancak bunun yanında GnRH aşiları ile sağlanan immünitede gonadotropin sekresyonu inhibe olur, seks steroidlerinin üretimi azalır, prostat, testis ve over gibi reproduktif organlarda atrofi gelişir, libido kaybı gibi hormon bağımlı davranış değişiklikleri olur. Hormon bağımlı davranış supresyonu ve fertilitenin supresyonu hayvan popülasyonunda çok iyi bir kombinasyon olmakla birlikte, insan klinik yaklaşımında hiç hormonal yan etki istenmemektedir ve %100 etkinlikte düzeyi hedeflenmektedir.³³

Sonuç olarak insanda hipotalamusun fertilitate blokajı için çok yüksek bir basamak olduğu gerçe-

ğine dayanılarak GnRH veya GnRH bazlı kontraseptif aşı geliştirme çalışmalarına devam edilmektedir.

FSH AŞILARI

FSH dışında ovaryan folikül gelişiminde rol alır, erkekte ise seminifer tubulus gelişiminde ve spermatogenezde rol alır. Bu konudaki çalışmalarda FSH antikörlerinin erkek Bonnet maymunlarında spermatogenez bozduğu, erkek farelerde FSH reseptör blokajının testis gelişimini geriletmediği, erkek Rhesus maymunlarının FSH ile aktif immünizasyonunun testosteron seviyelerini etkilemeden spermatogenez azalttığı gösterilmiştir.³⁴⁻³⁶ Hayvan çalışmalarında FSH immünizasyonunun libidoyu etkilemediği gösterilmiştir.³⁷ Fertilitenin reversibl olduğu ve aşının herhangi bir yan etkisine rastlanmadığı da bildirilmiştir.³⁸

FSH bazlı kontraseptif aşılarda erkeklerde Faz 1 başlangıç çalışmaları cesaretlendirici sonuçlar vermiştir. Beş gönüllü ile yapılan bu çalışmada Moudgal NR sperm sayısının azaldığı, FSH, LH ve testosteron seviyelerinin etkilenmediği, sadece seminal plazma transferrin seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir, çalışma etik nedenlerle iletilememiştir.³⁹ Fakat FSH bazlı kontraseptif aşılarda fertilitenin regülasyonunda pratik bir öneri olarak sunulabilmesi için istenmeyen yan etkilerinin olmayacağına dair çok kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

LH AŞILARI

LH, reproduktif sistemde önemli rol oynayan bir hormondur, her iki cinsiyette de steroidogenez ve dışında ovulasyonda etkilidir. Bu nedenle kontraseptif aşı geliştirmede hedef olarak düşünülmüştür fakat tüm çalışmalarda LH immünizasyonunun steroid hormon üretimini bozduğu gözlemlendiği için insanda fertilitenin regülasyonunda LH aşısına şans verilmemiştir.⁴⁰⁻⁴²

GAMET FONKSİYONLARINI HEDEF ALAN AŞILAR

ANTİSPERM AŞILAR

Spermatozoa; otoantijenik ve izoantijenik özelliğinden dolayı, erkek ve dişi her iki cinsten de antisperm antikörler (ASA) oluşturabilmektedir.⁴³

Spermatozoa erkek immün sisteminden kan-testis bariyeri ile korunmaktadır. Sirkülasyondaki antikörler erkek genital traktusa rete testis, vas deferens, seminal vesikül ve prostat yoluyla süzülür ve ilişki sonrası dişi genital traktusa transfer edilir ve kontraseptif etki oluşturmak üzere sperme bağlanır. Dişi genital traktusu diğer bütün mukozal traktuslardan farklı, immünolojik olarak eşsiz bir yapıya sahiptir. İncelenen insan ve hayvan modellerinde, vajinadan ovaryan foliküllere kadar her alanda mukozal immünitenin çeşitli komponentlerini farklı kombinasyonlarla bulundurduğu tespit edilmiştir.⁴⁴ Ayrıca dişi genital traktusun da semen içindeki spermatozoaya karşı çeşitli bölgelerde lokal genital trakt immünitesi oluşturarak antikör sentezlediği gösterilmiştir ki; bu antikörler aglutinasyon, immobilizasyon, kapasitasyonun veya akrosom reaksiyonunun inhibisyonu gibi olumsuz etkilerle sperm fonksiyonlarını bozabilmektedir. Bu kompleks yapı immünizasyondaki varyasyonları ve aşı üretiminde ilave zorlukları beraberinde getirmektedir.^{44,45}

Baskin'in, 20 fertil kadına eşlerinin spermini enjekte ettiği ve bu kadınlarda en az bir yıl süreli infertilite elde ettiği pilot çalışma, insanda antisperm antikörlerle infertilite sağlanabileceğini ilk defa göstermiştir.¹⁵ İnfertil çiftlerde hem kadında hem erkekte %2-30 ve vazektomili erkeklerde %70 oranında ASA rastlanması spermin her iki cins için de yüksek derecede immünojenik olduğunu desteklemektedir.⁴⁶

Sperm spesifik proteinlerle elde edilen bir kontraseptif aşı ile oluşturulan antikörlerin diğer hiçbir somatik hücre ile etkileşime girmemesi önemlidir. Başarılı bir kontraseptif aşı üretimi için sperm antijeni sperm spesifik olmalı, yüzeyden eksprese olmalı, özellikle dişi genital traktusta antikör seviyelerini yeterince yükseltebilmelidir. Erkek kullanımına hazırlanan ideal bir antisperm aşı ise spermatogenezisi ve sperm maturasyonunu etkilememeli, orşit veya epididimite neden olmamalıdır.^{43,46,47}

Farklı laboratuvarlarda çeşitli sperm antigenleri veya genler tanımlanmış, klonlanmış ve kullanılmıştır. Rekombinant, sentetik peptid veya DNA yapısında olabilen antigenlerle aşılama netice-

sinde çeşitli hayvan türlerinde her iki cinste de sistemik veya lokal antikor yanıtı indüklenmiş ve reversibl bir kontraseptif etki oluşturulmuştur. Sperm antikorlarının sperm fonksiyonları ve fertilizasyon üzerine etkilerini in vitro olarak inceleyen 400'den fazla yayımlanmış çalışma vardır, fakat çok az sayıda in vivo çalışma mevcuttur.⁴⁸⁻⁵⁰ İn vitro koşullarda yüksek konsantrasyonlarda ve uzun süreli inkübasyon periyotlarında herhangi bir antikor veya immünglobulin de sperm fonksiyonları ve fertilizasyonu belli bir derecede etkileyebileceği için immünokontrasepsiyonda asıl olan in vivo etkinin değerlendirilmesidir.⁴³

Antisperm antijen olarak kontraseptif etkisi araştırılan çok sayıda sperm-spesifik protein sıralanabilir: FA-1, YLP 12, LDH-C4, P10G, A9D, SP17,56, 80kDaHSA,Eppin, Semenogelin, Izumo, CatSper1,2,3,4,proacrosin,CRISP1, Bin1b bunlardan sadece bir kısmıdır.^{19,43}

Sperm-spesifik proteinlerle üretilen hiçbir kontraseptif aşı, hayvan deneylerindeki prelinik güvenlik değerlendirmelerini geçememiş ve insan Faz I klinik çalışmalarına ulaşamamıştır. İnsan dışı primat modellerde sperm antijen ile aşılamanın etkilerini değerlendiren bir çalışmada, dişi Babunlarda LDH C4 immünizasyonu ile fertilitenin azaldığı gösterilmiştir, fakat bir başka grup LDH C4 dişi maymun immünizasyonunun fertiliteyi etkilemediğini yayımlamıştır.^{51,52} Erkek maymunların Eppin ile immünize edildiği bir çalışmada %70 oranında anti-Eppin antikor gelişmiş ve infertilite sağlanmış ve immünizasyon kesilince fertilite geri dönmüştür.⁵³ Bu çalışmalarda antisperm immünizasyonun potansiyel immünopatolojik etkileri araştırılmamıştır. Ancak spermin oto ve isoantijenik potansiyeli değerlendirilmiş ve her iki cinste de çalışılabileceği görülmüştür.⁴⁶

Kontraseptif aşılardan immünojenitesini arttırmak, özellikle genital trakt immün yanıtını indüklemek için ajanların farklı uygulama yolları, farklı adjuvantlar, multipl içerikli taşıyıcı proteinler, virus-like partiküller denenmektedir. Son zamanlarda DNA aşılı ve multi epitop/multi peptid aşılı çalışılmaktadır.^{43,54,55} Antisperm immünokontrasepsiyonda sperm-zona pellucida basamağının en akılcı hedef olduğu düşünülmektedir.⁵⁶ Sperm ve

zona pellucida antijen kombinasyonu da geliştirilmiş ve fare çalışmaları yapılmaktadır.⁵⁷

Uzun yıllardır çalışılan ve çok sayıda sperm spesifik proteinin dökümanete edildiği bu alanda insan kullanımına sunulacak kontraseptif aşı üretiminde uygun antijeni önerebilmek için hâlâ çok erkendir; çok daha fazla bilimsel veri ve sıkı çalışmalar gerektiği düşünülmektedir.

ZONA PELLUCİDA AŞILARI

Memeli reproduktif sisteminde fertilite regülasyonunda immünolojik girişim amaçlı kullanılabilecek çok sayıda hedeften biri de zona pellucidadır (ZP). İnfertilite çalışmalarında ZP'ye karşı otoantikorlar da tespit edilmiştir. Doğal infertilitede var olan bu antikorlar araştırmacılara ZP immünizasyonunun fertilite blokajında insanda güvenle, yan etki potansiyeli olmadan kullanılabileceğini düşündürmüştür.¹²

Zona pellucida, memeli oositini çevreleyen glikoprotein yapıda ekstrasellüler bir kılıftır. Birbirinden biyokimyasal ve immünolojik olarak farklı, ZP₁, ZP₂ ve ZP₃ olarak sınıflandırılan üç ayrı glikoprotein içeriği vardır. mRNA içeriğine göre ZP_A, ZP_B, ZP_C olarak da sınıflandırılmışlardır. Oositi çevreleyen ZP, spermatozoanın tür spesifik olarak oosite bağlanması ve tanınmasında aracılık eder, oosite bağlanan spermatozoanın akrosom reaksiyonunu indükler, polispermik fertilizasyonu önler ve implantasyona kadar olan süreçte büyüyen blastokisti korur. ZP'ye karşı geliştirilen immünite, bu basamaklarda blokaja yol açar.^{7,9,12}

ZP protein ve bu proteinleri kodlayan DNA aşılı ile ilgili çok sayıda hayvan çalışması yapılmıştır. Farklı hayvan türlerinde dişilerin ZP proteinleri ile aktif immünizasyonunun fertiliteyi azalttığı gösterilmiştir.⁵⁸⁻⁶¹ Güncel bir çalışmada, ZP glikoproteinlerinin yapılarının ve fertilizasyon sürecindeki fonksiyonlarının türler arasında çeşitlilik gösterdiği ortaya konulmuştur.⁵⁸ ZP proteinlerinin türler arasındaki dizin ve etkilerinin bu farklılığı heterolog immünizasyonu mümkün kılıyor görünmektedir. Türler arasındaki çapraz reaksiyona örnek olarak domuzda ait ZP₃'e karşı geliştirilen antikorların insan ZP'de oluşturduğu immün yanıt gösterilmiştir.⁶²

ZP'de bazlı kontraseptif aşılarla oluşturulan infertilitenin ooforite yol açtığı ve foliküler atrezi ile seyreden ovarian distrofi neticesinde ortaya çıktığı gözlemlenmiştir.¹⁰⁻¹² Ancak birtakım adjuvanlarla çok iyi purifiye edilen bazı aşılarla ovarian patolojinin azaltılabildiği görülmüştür.^{63,64}

Özellikle vahşi hayvan kullanımı uygun bulunan ZP aşılarını insan kullanımına sunabilmek için ZP protein kodlayan DNA aşılar, ZP protein eksprese eden vektör çalışmaları, rekombinant aşılar gibi teknolojik çok sayıda yenilik denenmiştir.⁶⁵⁻⁶⁹ Fakat ovarian hasar, insan kullanımı için kabul edilemez bir kısıtlayıcı olmuştur.

Ooforit gelişiminin ooforite yol açan T-hücre epitoptan kaynaklandığı tespit edildikten sonra, B-hücre epitope immünizasyonu denenmiştir ve bu çalışmada ovarian patoloji olmadan fertilitate blokajı sağlanabilmiştir.⁷⁰⁻⁷² Bu çalışmayı takiben B-hücre epitopların kullanılabilmesi için monoklonal antikor immünizasyon denemeleri ivme kazanmıştır.⁷³

Bugüne kadar yapılan araştırmalar, gelecekte B-hücre epitope immünitesi kullanılarak üretilen ZP bazlı kontraseptif aşıların insan kullanımına girebileceği ümidini doğurmuştur.¹⁹

FERTİLİZASYON SONRASINI HEDEF ALAN AŞILAR

HUMAN KORYONİK GONADOTROPİN (hCG) AŞILARI

hCG, ovumun fertilizasyonundan hemen sonra ortaya çıkar ve embriyonun implantasyonunda kritik rol oynar. hCG'nin inaktivasyonunun dışı fizyolojisinde, ovulasyonda, seks steroid hormon üretiminde ve menstrüel regülasyonda hiçbir olumsuz etkiye yol açmadığı gösterilmiştir; bu yüzden hCG immünokontrasepsiyonda iyi bir hedef olarak ön plana çıkmaktadır.^{74,75} hCG'nin asıl olarak fertilizasyonu değil implantasyonu bloke ettiği gerçeği aslında hCG bazlı aşıların kontrasetif aşı değil doğum kontrol aşısı olarak anılmasını gerektirmektedir.⁴

hCG'nin β -subuniti 145 amino asit uzunluğundadır ve 30 amino asit uzunluğunda karboksi terminal peptid (CTP) uzantısına sahiptir. β -hCG ve β -hCG CTP her ikisi de insan kullanımına

uygun aşı üretiminde immünogen olarak kullanılmışlardır.

β -hCG CTP ile dışı Babunların immünizasyonunun fertilitateyi azalttığı gösterildikten sonra DSÖ tarafından Avusturalya'da Faz 1 çalışmalarına başlandı.⁷⁶ Otuz tüp ligasyonu yapılmış kadın sentetik CTP'nin DT (difteri toksini) konjugasyonu ile aşılandı. İmmünize kadınların altı aylık izlemi sonunda herhangi bir olumsuz etki ile karşılaşılmadı.⁸ Faz 1 çalışmalardan alınan cesaretle DSÖ, İsveç'te Faz 2 kontraseptif aşı çalışmalarını başlattı. Ancak yan etkiler nedeniyle bu çalışmalar sonlandırıldı.

β -hCG'de farklı taşıyıcı proteinlerle konjuge edilerek kontraseptif aşı geliştirmek için araştırıldı. Farklı hayvan modellerinde geniş immünogenite ve güvenlik çalışmaları yapıldı ve β -hCG-TT (tetanoz toksini) konjugasyonu ile İsveç, Şili, Brezilya ve Finlandiya'da Faz 1 çalışmaları başlatıldı. Bu araştırmalarda aşının immünogenik olduğu fakat immünize kadınların antikor titrelerinde değişiklik olduğu gösterildi. Çoğu immünize kadının antikor titreleri düşük kalıyordu, fakat aşılanmanın güvenli olduğu görüldü.⁷⁷⁻⁸⁰ hCG'nin TT ve DT ile farklı kombinasyonları ile fertil kadınlarda Hindistanda çok merkezli olarak Faz 2 çalışmalara başlandı. Bu çalışmalarda antikor eşik değer seviyesi 50 ng/mL olarak belirlendi. 50 ng/mL üstündeki antikor seviyelerine ulaşmış kadınlarda 1224 siklusa sadece bir gebelik oluştu. Fertilitedeki blok reversibl idi, antikor seviyeleri 35 ng/mL altına indiğinde fertilitate geri dönüyordu. Bu aşı formülasyonlarında immünogenite arttırılmıştı, fakat katılımcıların ancak %80'inde eşik değer üstüne çıkmak mümkün olabiliyordu. Herhangi bir yan etki ile karşılaşılmadığı belirtilmiştir.^{74,81}

Faz 2 çalışmalarda hCG ile immünize olan ve fertilitate arzusu nedeniyle tekrarlayan aşı dozlarını istemeyen antikor seviyeleri eşik değer altında kalan kadınlarda gerçekleşen gebelikler takip edilmiş ve doğan bebekler 2-3,5 yıllık sürelerle izlenmiştir. Netice olarak anti-fertilitate etkisinin reversibl olmasının yanı sıra gebeliklerin olağan problemlerle seyrettiği ve doğan bebeklerin gelişimlerinin normal olduğu yayımlanmıştır.⁸²

İlerleyen yıllarda çeşitli rekombinant proteinlerle hCG aşı geliştirme çabaları devam etmiş, günümüzde hayvan deneylerinde %100 immüniteye ulaşan formülasyonlar elde edilmeye başlanmıştır.^{83,84}

hCG aşısı, immünizasyondaki varyasyonların aşılması durumunda kadın kontrasepsiyonunda kullanıma girmesi en muhtemel kontraseptif ajan olarak görülmekle birlikte, güvenlik ve teratojenite çalışmaları için tanınması gereken en az 20 yıllık bir süre var gibi görünmektedir.¹⁹

KONTRASEPTİF AŞILAR VE KANSERDE İMMÜNOTERAPİ

GnRH ve hCG aşılarının her ikisi de hormon eksprese eden ve hormon bağımlı kanser tedavilerinde kullanım alanı bulmuştur.⁸⁵

GnRH karşıtı aşıların her iki cinsten de kullanılabildiği bilinmektedir. GnRH, FSH ve LH yoluyla gamet ve seks steroidleri üretimini denetlemektedir. Bu yüzden aşı olarak fertiliten kontrolünde kullanılabilme potansiyeli kadar kadın ve erkek seks hormon bağımlı kanserlerinde de özellikle prostat kanserinde kullanımı söz konusudur.^{86,87}

Son yıllarda çok sayıda çalışmada ileri evre çeşitli kanserlerin hCG veya subunitlerini eksprese ettiği ve hCG sekrete eden tümöre sahip olan has-

taların daha az sağkalım ve kötü prognoza sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca bu kanserlerde değişmez özellik metastaz yapmaları ve kullanılan kemoterapötiklere direçli olmalarıdır. hCG'ye karşı geliştirilen antikorların bu tür hücrelerin replikasyonunu in vivo ve in vitro durdurduğu ve tümörde nekroza yol açabildiği gösterilmiştir.⁸⁸ Böylece yeni geliştirilmekte olan anti-hCG aşıları için asıl hedefinden uzak ama belki daha geniş bir kullanım alanı ortaya çıkmıştır.⁸⁹

hCG aşılarının kanser kullanımı ile ilgili çalışmalar baş döndürücü bir hızla devam etmektedir. hCG tüm insan malignitelerinde kanser promoter olarak kabul edilmekte ve artık koriokarsinoma ve germ hücreli tümörler haricinde de çok sayıda kanserde çalışılmaktadır: serviks, meme, akciğer, vulva, vajen, mesane, prostat, karaciğer, mide, kolorektal kanserleri lenfoma ve lösemiler.⁸⁸⁻⁹⁰

SONUÇ

Kontraseptif aşıların güçlü ve zayıf yönleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Kontrasepsiyonda immünolojik bakış açısı uygun maliyetli ve kullanıcı hatalarından uzak görüldüğü için özellikle Hindistan ve Çin gibi nüfus planlama sıkıntısı yaşayan ülkelerde kabul gör-

TABLO 1: Kontraseptif aşıların güçlü ve zayıf yönleri.¹⁹

Hedef	Güçlü yönler	Zayıf yönler	Klinik uygulama
GnRH	Dişi-erkek her iki cinsten de çalışır. Kontraseptif etkisi hayvanlarda gösterilmiştir	Gonadotropin sekresyonunu ve seks steroid üretimini inhibe eder, reproduktif organlarda atrofiye yol açar	Veteriner uygulamaları için uygundur. İnsanda kullanılması muhtemel gözükmemektedir
LH	İnsan dışı primatlarda kontraseptif etkisi gösterilmiştir	Steroid hormon profilini bozar	Veteriner ve insan kullanım çalışmaları sürdürülmemektedir
FSH	İnsan dışı primatlarda geniş immünizasyon çalışmaları ve insanda erkekte Faz 1 çalışmaları yapılmıştır	İnsan dışı primatlarda spermatogenezisi azaltmakta birbiriyle çelişen sonuçlar göstermektedir	Daha fazla güvenlik ve etkinlik çalışmasına ihtiyaç vardır
Sperm-spesifik proteinler	Çok sayıda sperm-spesifik protein mevcuttur	Uzun dönem güvenlik çalışmaları yapılmamıştır	İnsanda kontraseptif aşı geliştirmek için iyi bir adaydır
Zona pellucida	Hayvanlarda kontraseptif etkisi gösterilmiştir. İmmünize hayvanların uzun dönem izleminde sağlığı tehdit eden bir etkiye rastlanmamıştır	Ooforit gelişmesine yol açmaktadır	Veteriner uygulaması için uygundur. İnsan kullanımı için ooforite yol açması handikapı aşılmalıdır
hCG	Güvenlik çalışmaları yapılmıştır. Kadında kontraseptif etkisi gösterilmiştir. Antifertilite etkisi reversibldir	Aşılanan kadınlarda yetersiz antikor titreleri ve immün yanıtta varyasyonlar oluşmaktadır	İnsanda kontraseptif aşı geliştirmek için iyi bir adaydır

müştür, ekolojik denge koruma çalışmaları dâhilinde vahşi doğa ve hayvan popülasyonunun planlanmasında ise kontraseptif etkinin reversibl olması veya etkinliğin %100 olması zorunluluk arz etmediğinden uzaktan iğne ile uygulama veya hayvan yemine karıştırıp üremeyi azaltmak gibi fikirlerin cazibesi ışığında uygulamaya konmaya çalışılmaktadır.^{11,33}

Kontraseptif aşılarda insan kullanımına sunulmadan önce aşılması gereken üç önemli bariyer vardır: İmmünokontrasepsiyonda hedef kitle genç ve sağlıklıdır ve diğer kontraseptif yöntemlere kolaylıkla ulaşabilmektedir oysa kontraseptif aşılarda hâlen kullanılan yöntemlere kıyasla etkinliğinde bir üstünlüğü henüz sağlanamamıştır. İkinci majör problem, immünize bireylerin immün yanıtları arasındaki variabilitedir. Antikor titrelerinin takibi ve ek aşı dozları gerektirmesi kullanımı kısıtlamaktadır. Üçüncü olarak da kontraseptif aşılarda güvenliğinin tespit edilmesi için otoimmün hasar oluşturma potansiyeli ve teratolojik araştırmaları

da içeren uzun dönem güvenlik çalışmaları gerekmektedir ki öngörülen süre 20 yıl civarıdır.^{4,7,10,19,43,83}

Kontraseptif aşı geliştirilmesi çalışmaları vaksinoloji, immünoloji, moleküler biyoloji, hücre biyolojisi, reproduktif endokrinoloji birimlerinin ileri düzeyde spesifik çalıştığı multidisipliner bir sistemle yürütülmektedir. Buna rağmen yukarıdaki bilgiler ışığında söylenebilir ki; yaklaşık 80 yıldır sürdürülmekte olan kontraseptif aşı geliştirme stratejileri henüz istenen düzeye ulaşmamıştır. Buradaki en önemli sebep, önerilen hedeflerden hiçbirisinin tek başına istenmeyen etkilerden korunmak ve istenen etkinliğe ulaşmak konusunda yeterli olamamasıdır. İmmün yanıtı optimize etmek ve etkinliği düzeltmek amaçlandığında immünokontrasepsiyonun geleceği muhtemelen proteomiks ve genomiksten faydalanılarak çok daha spesifik hedefler belirlenmesi ve multiepitop aşı üretimi ile mümkün olacak gibi görünmektedir.⁹¹

KAYNAKLAR

- Say L. Contraception. WHO, Ensuring human rights in the provision of contraceptive information and services: Guidance and recommendations. 1st ed. Geneva, WHO Press; 2014. p.1-10.
- Bongaarts J, Johansson E. Future trends in contraceptive prevalence and method mix in the developing world. *Stud Fam Plann* 2002;33(1):24-36.
- Trussell J. Contraceptive failure in the United States. *Contraception* 2004;70(2):89-96.
- Naz RK. Contraceptive vaccines: success, status, and future perspective. *Am J Reprod Immunol* 2011;66(1):2-4.
- Hugon-Rodin J, Chabbert-Buffet N, Bouchard P. The future of women's contraception: stakes and modalities. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1205:230-9.
- Jones WR. Contraceptive vaccines. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1996;10(1):69-86.
- Aitken RJ. Immunocontraceptive vaccines for human use. *J Reprod Immunol* 2002;57(1-2):273-87.
- Jones WR, Bradley J, Judd SJ, Denholm EH, Ing RM, Mueller UW, et al. Phase I clinical trial of a World Health Organisation birth control vaccine. *Lancet* 1988;1(8598):1295-8.
- Naz RK, Gupta SK, Gupta JC, Vyas HK, Talwar AG. Recent advances in contraceptive vaccine development: a mini-review. *Hum Reprod* 2005;20(12):3271-83.
- Gupta SK, Bansal P. Vaccines for immunologic control of fertility. *Reprod Med Biol* 2010;9(1):61-71.
- McLaughlin EA, Aitken RJ. Is there a role for immunocontraception? *Mol Cell Endocrinol* 2011;335(1):78-88.
- Gupta SK, Jethanandani P, Afzalpurkar A, Kaul R, Santhanam R. Prospects of zona pellucida glycoproteins as immunogens for contraceptive vaccine. *Hum Reprod Update* 1997;3(4):311-24.
- Landsteiner K. [Knowledge about specifically acting on blood cells sera]. *Bakt* 1899;25:546-9.
- Metchnikoff E. [Studies on cell resorption]. *Ann Inst Pasteur* 1899; 13(3):737-79.
- Baskin MJ. Temporary sterilization by the injection of human spermatozoa. A preliminary report *Am J Obstet Gynecol* 1932;24(6):892-7.
- Ingerslev HJ. Antibodies against spermatozoal surface-membrane antigens in female infertility. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1981;100:1-52.
- Kelkar RL, Meherji PK, Kadam SS, Gupta SK, Nandedkar TD. Circulating auto-antibodies against the zona pellucida and thyroid microsomal antigen in women with premature ovarian failure. *J Reprod Immunol* 2005;66(1):53-67.
- Haller-Kikkatalo K, Salumets A, Uibo R. Review on autoimmune reactions in female infertility: antibodies to follicle stimulating hormone. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:762541.
- Gupta SK, Shrestha A, Minhas V. Milestones in contraceptive vaccines development and hurdles in their application. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10(4):911-25.
- Delves PJ. How far from a hormone-based contraceptive vaccine? *J Reprod Immunol* 2004;62(1-2):69-78.
- Khodr GS, Siler-Khodr TM. Placental luteinizing hormone-releasing factor and its synthesis. *Science* 1980;207(4428):315-7.
- Hsueh AJ, Erickson GF. Extrapituitary action of gonadotropin-releasing hormone: direct inhibition ovarian steroidogenesis. *Science* 1979;204(4395):854-5.
- Vickery BH. Comparison of the potential for therapeutic utilities with gonadotropin-releasing hormone agonists and antagonists. *Endocr Rev* 1986;7(1):115-24.

24. Schultze-Mosgau A, Griesinger G, Altgassen C, von Otte S, Hornung D, Diedrich K. New developments in the use of peptide gonadotropin-releasing hormone antagonists versus agonists. *Expert Opin Investig Drugs* 2005;14(9):1085-97.
25. Gupta SK, Singh O, Talwar GP. Characteristics and bioefficacy of monoclonal antigonadotropin releasing hormone antibody. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985;7(3):104-8.
26. Talwar GP, Gupta SK, Singh V, Sahal D, Iyer KS, Singh O. Bioeffective monoclonal antibody against the decapeptide gonadotropin-releasing hormone: reacting determinant and action on ovulation and estrus suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82(4):1228-31.
27. Hodges JK, Hearn JP. Effects of immunisation against luteinising hormone releasing hormone on reproduction of the marmoset monkey *Callithrix jacchus*. *Nature* 1977;265(5596):746-8.
28. Hsu CT, Ting CY, Ting CJ, Chen TY, Lin CP, Whang-Peng J, et al. Vaccination against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) using toxin receptor-binding domain-conjugated GnRH repeats. *Cancer Res* 2000;60(14):3701-5.
29. Walker J, Ghosh S, Pagnon J, Colantoni C, Newbold A, Zeng W, et al. Totally synthetic peptide-based immunocontraceptive vaccines show activity in dogs of different breeds. *Vaccine* 2007;25(41):7111-9.
30. Fuchs T, Thun R, Parvizi N, Nathues H, Koehrmann A, Andrews S, et al. Effect of a gonadotropin-releasing factor vaccine on follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone concentrations and on the development of testicles and the expression of boar taint in male pigs. *Theriogenology* 2009;72(5):672-80.
31. Janett F, Stump R, Burger D, Thun R. Suppression of testicular function and sexual behavior by vaccination against GnRH (Equity) in the adult stallion. *Anim Reprod Sci* 2009;115(1-4):88-102.
32. Killian G, Kreeger TJ, Rhyan J, Fagerstone K, Miller L. Observations on the use of GonaCon in captive female elk (*Cervus elaphus*). *J Wildl Dis* 2009;45(1):184-8.
33. Kirkpatrick JF, Lyda RO, Frank KM. Contraceptive vaccines for wildlife: a review. *Am J Reprod Immunol* 2011;66(1):40-50.
34. Murty GS, Rani CS, Moudgal NR, Prasad MR. Effect of passive immunization with specific antiserum to FSH on the spermatogenic process and fertility of adult male bonnet monkeys (*Macaca radiata*). *J Reprod Fertil Suppl* 1979;26:147-63.
35. Sairam MR, Krishnamurthy H. The role of follicle-stimulating hormone in spermatogenesis: lessons from knockout animal models. *Arch Med Res* 2001;32(6):601-8.
36. Srinath BR, Wickings EJ, Witting C, Nieschlag E. Active immunization with follicle-stimulating hormone for fertility control: a 4 1/2-year study in male rhesus monkeys. *Fertil Steril* 1983;40(1):110-7.
37. Moudgal NR, Ravindranath N, Murthy GS, Dighe RR, Aravindan GR, Martin F. Long-term contraceptive efficacy of vaccine of ovine follicle-stimulating hormone in male bonnet monkeys (*Macaca radiata*). *J Reprod Fertil* 1992;96(1):91-102.
38. Moudgal NR, Jeyakumar M, Krishnamurthy HN, Sridhar S, Krishnamurthy H, Martin F. Development of male contraceptive vaccine—a perspective. *Hum Reprod Update* 1997;3(4):335-46.
39. Moudgal NR, Murthy GS, Prasanna Kumar KM, Martin F, Suresh R, Medhamurthy 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):457-63.
40. Thau RB, Sundaram K, Thornton YS, Seidman LS. Effects of immunization with the beta-subunit of ovine luteinizing hormone on corpus luteum function in the rhesus monkey. *Fertil Steril* 1979;31(2):200-4.
41. Thau RB, Sundaram K. The mechanism of action of an antifertility vaccine in the rhesus monkey: reversal of the effects of antisera to the beta-subunit of ovine luteinizing hormone by medroxyprogesterone acetate. *Fertil Steril* 1980;33(3):317-20.
42. Remy JJ, Bozon V, Couture L, Goxe B, Sалlesse R, Garnier J. Suppression of fertility in male mice by immunization against LH receptor. *J Reprod Immunol* 1993;25(1):63-79.
43. Naz RK. Antisperm contraceptive vaccines: where we are and where we are going? *Am J Reprod Immunol* 2011;66(1):5-12.
44. Mestecky J, Moldoveanu Z, Russell MW. Immunologic uniqueness of the genital tract: challenge for vaccine development. *Am J Reprod Immunol* 2005;53(5):208-14.
45. Kutteh WH, Moldoveanu Z, Mestecky J. Mucosal immunity in the female reproductive tract: correlation of immunoglobulins, cytokines, and reproductive hormones in human cervical mucus around the time of ovulation. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14(Suppl 1):S51-5.
46. Naz RK, Rowan S. Update on male contraception. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2009;21(3):265-9.
47. Naz RK. Status of contraceptive vaccines. *Am J Reprod Immunol* 2009;61(1):11-8.
48. Naz RK, Phillips TM, Rosenblum BB. Characterization of the fertilization antigen 1 for the development of a contraceptive vaccine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83(15):5713-7.
49. Saling PM, Waibel R. Mouse sperm antigens that participate in fertilization. III. Passive immunization with a single monoclonal antisperm antibody inhibits pregnancy and fertilization in vivo. *Biol Reprod* 1985;33(2):537-44.
50. Naz RK. Effects of sperm-reactive antibodies present in human infertile sera on fertility of female rabbits. *J Reprod Immunol* 1990;18(2):161-77.
51. O'Hern PA, Liang ZG, Bamba CS, Goldberg E. Colinear synthesis of an antigen-specific B-cell epitope with a 'promiscuous' tetanus toxin T-cell epitope: a synthetic peptide immunocontraceptive. *Vaccine* 1997;15(16):1761-6.
52. Tollner TL, Overstreet JW, Branciforte D, Primakoff PD. Immunization of female cynomolgus macaques with a synthetic epitope of sperm-specific lactate dehydrogenase results in high antibody titers but does not reduce fertility. *Mol Reprod Dev* 2002;62(2):257-64.
53. O'Rand MG, Widgren EE, Sivashanmugam P, Richardson RT, Hall SH, French FS, et al. Reversible immunocontraception in male monkeys immunized with eppin. *Science* 2004;306(5699):1189-90.
54. Zhu X, Naz RK. Fertilization antigen-1: cDNA cloning, testis-specific expression, and immunocontraceptive effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94(9):4704-9.
55. Hardy CM, Clarke HG, Nixon B, Grigg JA, Hinds LA, Holland MK. Examination of the immunocontraceptive potential of recombinant rabbit fertilin subunits in rabbit. *Biol Reprod* 1997;57(4):879-86.
56. Naz RK, Zhu X, Kadam AL. Identification of human sperm peptide sequence involved in egg binding for immunocontraception. *Biol Reprod* 2000;62(2):318-24.
57. Choudhury S, Kakkar V, Suman P, Chakrabarti K, Vratil S, Gupta SK. Immunogenicity of zona pellucida glycoprotein-3 and spermatozoa YLP(12) peptides presented on Johnson grass mosaic virus-like particles. *Vaccine* 2009;27(22):2948-53.
58. Gupta SK, Bhandari B, Shrestha A, Biswal BK, Palaniappan C, Malhotra SS, et al. Mammalian zona pellucida glycoproteins: structure and function during fertilization. *Cell Tissue Res* 2012;349(3):665-78.
59. Wood DM, Liu C, Dunbar BS. Effect of alloimmunization and heteroimmunization with zonae pellucidae on fertility in rabbits. *Biol Reprod* 1981;25(2):439-50.
60. Skinner SM, Mills T, Kirchick HJ, Dunbar BS. Immunization with zona pellucida proteins results in abnormal ovarian follicular differentiation and inhibition of gonadotropin-induced steroid secretion. *Endocrinology* 1984;115(6):2418-32.
61. Mahi-Brown CA, Yanagimachi R, Hoffman JC, Huang TT Jr. Fertility control in the bitch by active immunization with porcine zonae pellucidae: use of different adjuvants and patterns of estradiol and progesterone levels in estrous cycles. *Biol Reprod* 1985;32(4):761-72.

62. Sacco AG, Yurewicz EC, Subraminian MG, DeMayo FJ. Zona pellucida composition: species cross reactivity and contraceptive potential of antiserum to a purified pig zona antigen (PPZA). *Biol Reprod* 1981;25(5):997-1008.
63. Bagavath H, Thillai-Koothan P, Sharma MG, Talwar GP, Gupta SK. Antifertility effects of porcine zona pellucida-3 immunization using permissible adjuvants in female bonnet monkeys (*Macaca radiata*): reversibility, effect on follicular development and hormonal profiles. *J Reprod Fertil* 1994;102(1):17-25.
64. Upadhyay SN, Thillai-Koothan P, Bamezai A, Jayaraman S, Talwar GP. Role of adjuvants in inhibitory influence of immunization with porcine zona pellucida antigen (ZP-3) on ovarian folliculogenesis in bonnet monkeys: a morphological study. *Biol Reprod* 1989;41(4):665-73.
65. Rath A, Choudhury S, Hasegawa A, Koyama K, Gupta SK. Antibodies generated in response to plasmid DNA encoding zona pellucida glycoprotein-B inhibit in vitro human sperm-egg binding. *Mol Reprod Dev* 2002;62(4):525-33.
66. Rath A, Batra D, Kaur R, Vrati S, Gupta SK. Characterization of immune response in mice to plasmid DNA encoding dog zona pellucida glycoprotein-3. *Vaccine* 2003;21(17-18):1913-23.
67. Zhang X, Lou YH, Koopman M, Doggett T, Tung KS, Curtiss R 3rd. Antibody responses and infertility in mice following oral immunization with attenuated *Salmonella typhimurium* expressing recombinant murine ZP3. *Biol Reprod* 1997;56(1):33-41.
68. Jackson RJ, Maguire DJ, Hinds LA, Ramshaw IA. Infertility in mice induced by a recombinant ectromelia virus expressing mouse zona pellucida glycoprotein 3. *Biol Reprod* 1998;58(1):152-9.
69. Govind CK, Gupta SK. Failure of female baboons (*Papio anubis*) to conceive following immunization with recombinant non-human primate zona pellucida glycoprotein-B expressed in *Escherichia coli*. *Vaccine* 2000;18(26):2970-8.
70. Rhim SH, Millar SE, Robey F, Luo AM, Lou YH, Yule T, et al. Autoimmune disease of the ovary induced by a ZP3 peptide from the mouse zona pellucida. *J Clin Invest* 1992;89(1):28-35.
71. Luo AM, Garza KM, Hunt D, Tung KS. Antigen mimicry in autoimmune disease sharing of amino acid residues critical for pathogenic T cell activation. *J Clin Invest* 1993;92(5):2117-23.
72. Lou Y, Ang J, Thai H, McElveen F, Tung KS. A zona pellucida 3 peptide vaccine induces antibodies and reversible infertility without ovarian pathology. *J Immunol* 1995;155(5):2715-20.
73. 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.
74. Talwar GP, Singh O, Pal R, Chatterjee N, Sahai P, Dhali K, et al. A vaccine that prevents pregnancy in women. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(18):8532-6.
75. Talwar GP. A unique vaccine for control of fertility and therapy of advanced-stage terminal cancers ectopically expressing human chorionic gonadotropin. *Ann N Y Acad Sci* 2013;1283:50-6.
76. Stevens VC, Powell JE, Lee AC, Griffin D. Antifertility effects of immunization of female baboons with C-terminal peptides of the beta-subunit of human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril* 1981;36(1):98-105.
77. Talwar GP, Sharma NC, Dubey SK, Salahuddin M, Das C, Ramakrishnan S, et al. Isoimmunization against human chorionic gonadotropin with conjugates of processed beta-subunit of the hormone and tetanus toxoid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976;73(1):218-22.
78. Kumar S, Sharma NC, Bajaj JS, Talwar GP, Hingorani V. Clinical profile and toxicology studies on four women immunized with Pr-beta-HCG-TT. *Contraception* 1976;13(2):253-68.
79. Nash H, Johansson ED, Talwar GP, Vasquez J, Segal S, Coutinho E, et al. Observations on the antigenicity and clinical effects of a candidate antipregnancy vaccine: beta-subunit of human chorionic gonadotropin linked to tetanus toxoid. *Fertil Steril* 1980;34(4):328-35.
80. Shahani SM, Kulkarni PP, Patel KL, Salahuddin M, Das C, Talwar GP. Clinical and immunological responses with Pr-beta-hCG-TT vaccine. *Contraception* 1982;25(4):421-34.
81. Talwar GP, Singh OM, Gupta SK, Hasnain SE, Pal R, Majumbar SS, et al. The HSD-hCG vaccine prevents pregnancy in women: feasibility study of a reversible safe contraceptive vaccine. *Am J Reprod Immunol* 1997;37(2):153-60.
82. Singh M, Das SK, Suri S, Singh O, Talwar GP. Regain of fertility and normality of progeny born during below protective threshold antibody titers in women immunized with the HSD-hCG vaccine. *Am J Reprod Immunol* 1998;39(6):395-8.
83. Purswani S, Talwar GP. Development of a highly immunogenic recombinant candidate vaccine against human chorionic gonadotropin. *Vaccine* 2011;29(12):2341-8.
84. Purswani S, Talwar GP, Vohra R, Pal R, Panda AK, Lohiya NK, et al. *Mycobacterium indicus pranii* is a potent immunomodulator for a recombinant vaccine against human chorionic gonadotropin. *J Reprod Immunol* 2011;91(1-2):24-30.
85. Talwar GP, Vyas HK, Purswani S, Gupta JC. Gonadotropin-releasing hormone/human chorionic gonadotropin beta based recombinant antibodies and vaccines. *J Reprod Immunol* 2009;83(1-2):158-63.
86. Diwan M, Dawar H, Talwar GP. Induction of early and bioeffective antibody response in rodents with the luteinizing hormone-releasing hormone vaccine given as a single dose in biodegradable microspheres along with alum. *Prostate* 1998;35(4):279-84.
87. Parkinson RJ, Simms MS, Broome P, Humphreys JE, Bishop MC. A vaccination strategy for the long-term suppression of androgens in advanced prostate cancer. *Eur Urol* 2004;45(2):171-4; discussion 174-5.
88. Talwar GP, Gupta JC, Shankar NV. Immunological approaches against human chorionic gonadotropin for control of fertility and therapy of advanced-stage cancers expressing hCG/subunits. *Am J Reprod Immunol* 2011;66(1):26-39.
89. Cheever MA, Allison JP, Ferris AS, Finn OJ, Hastings BM, Hecht TT, et al. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin Cancer Res* 2009;15(17):5323-37.
90. Cole LA. hCG, five independent molecules. *Clin Chim Acta* 2012;413(1-2):48-65.
91. Aitken RJ, Baker MA, Doncel GF, Matzuk MM, Mauck CK, Harper MJ. As the world grows: contraception in the 21st century. *J Clin Invest* 2008;118(4):1330-43.