

Válasz

Dr. Solti László bírálói véleményére

„Gazdasági állatok spermaminőség-ellenőrzésének automatizálási lehetőségei”

című MTA doktori értekezéséről

Keszthely, 2020. 04. 16.

Szeretném megköszönni Bírálómnak dolgozatom részletes formai és tartalmi bírálatát, különös tekintettel az építő jellegű kritikai észrevételekre, melyekre az alábbiakban igyekszem választ adni.

A rövidítések jegyzékéből valóban kimaradt a DAPI (2-(4-amidinofenil)-1H-indol-6-karboxamidin) és az MFI (medián fluoreszcencia-intenzitás).

A termékenyítés eredményességének mutatójaként azért használtuk a Non-Return Rate értékeket, mert ez az adat állt csupán a rendelkezésünkre a spermamintákat rendelkezésünkre bocsátó mesterséges termékenyítő vállalatoktól, és az adott vizsgálatok során nem állt módunkban más diagnosztikai módszert alkalmazni, kivételt ez alól csak az SCSA teszt diagnosztikai értékét megállapító kísérletünk jelentett, ahol a borjazási arányokat is rendelkezésünkre bocsátották.

A Bíráló által kiemelt értelmetlen szövegrészek valóban a szövegszerkesztő hibájának, pontosabban az azt használó szerző figyelmetlenségének eredményei: az „et al” kifejezést cseréltem a szövegszerkesztő „csere” funkciójával „és mtsai”-ra, és az említett helyeken nem vettem észre az ismételt átolvasások során sem, hogy a csere olyan szövegrészletekben is megtörtént, ahol nem kellett volna („eseményeket *alacsony*”; „tesztet *alkalmaztunk*”). A 2.1.3. alfejezet 5. sorában szereplő (13) egy hivatkozás, amit elfelejtettem kicserélni, ugyanis a dolgozat korai kéziratos verziójában csak sorszámokkal jelöltem a szövegközi hivatkozásokat (a szóban forgó hivatkozás a következő volt: Thundathil J, Gil J, Januskauskas A, Larsson B, Söderquist L, Mapletoft R, Rodriguez-Martinez H. The relationship between the proportion of capacitated sperm present in the post-thawed semen and fertility with artificial insemination. International Journal of Andrology 1999 22:366-373.). Hasonlóan, a hiányzó 1. táblázat a dolgozat korábbi verziójában szerepelt, de a tézises változatból kihagytam, a hivatkozást azonban a szövegben felejtettem.

Bírálóm felveti a kérdést, hogy mi lehet az oka az plazmamembrán-integritás magasabb eredményének az idősebb bikacsoportban (3.1.1. alfejezet) – a jelenségre a vizsgálat folyamán nem találtunk konkrét magyarázatot. A vonatkozó szakirodalom eredményei ellentmondásosak, és bár többen találtak korfüggő spermaminőség-javulást, azt jellemzően fiatal (egy éves) és idősebb (négy éves) korcsoportok között, például a vonatkozó publikációm társszerzői egy korábbi tanulmányukban (Hallap T, Håard MCh, Jaakma Ü, Larsson B, Rodriguez-Martinez H. Variations in quality of frozen-thawed semen from Swedish Red and White AI sires at one and four years of age. International Journal of Andrology 2004 27:166-171.). A jelenség hátterében állhat technológiai, takarmányozási váltás (bár a jelen esetben az előbbi nem valószínű, mert ugyanazt a spermafeldolgozási technológiát alkalmazták), illetve az alacsony mintaszám is (esetünkben hat bika).

A 3.2. fejezetben (44. oldal, 11.sor) valóban hibásan fogalmaztam, a vonatkozó állítás az elhalt, intakt akroszómájú alpopulációra vonatkozik.

A hamis pozitív és hamis negatív kifejezésekre vonatkozó javaslatot köszönöm, a jövőben ezek helyett a téves pozitív és téves negatív kifejezéseket használom.

Bírálóm hiányolta a dolgozatból a sperma szexálásra, illetve L. Johnson munkásságára vonatkozó hivatkozásokat. A flow citometria spermaszexálási alkalmazását szándékosan nem érintettem a dolgozatban, mert a sejtszeparálásra alkalmazott, úgynevezett „szorter” citométerek működése jelentősen eltér a dolgozatomban alkalmazott, úgynevezett „asztali” citométerektől, az előbbieket üzemeltetése speciális szakképzettséget igényel, maga a műszer is nagyságrendekkel drágább, mint az utóbbiak. A spermaszexálás egy termékelőállítási folyamat, míg a dolgozatomban csak a minőségellenőrzési alkalmazásokra koncentráltam.

Az új tudományos eredmények ismertetése során, az 5. és 6. eredmény esetében valóban jobban ki kellett volna hangsúlyoznom, hogy nem maga a swim-up kezelés és annak hatása volt új, hanem az, hogy a kezelés hatásait sejtszinten, erre a célra általam kidolgozott, új fluoreszcens jelölési technikákkal és citometria alkalmazásával értékeltük.

Bírálóm három kérdést tett fel, melyekre az alábbiakban válaszolok.

1. *Hogy látja az ivarszelektált sperma használatának jövőjét annak fényében, hogy magas költségeit a termékenyítési technika módosításával próbálják csökkenteni?*

Válaszom: a spermaszexálás jelenleg széles körben alkalmazott, úgynevezett „jet-in-air” citométer alkalmazására épülő technológiája bár tudományos szempontból bravúros eredmény,

véleményem szerint tovább nem fejleszthető, a műszer szortírozási sebessége és az X- és Y-kromoszómát hordozó ondósejtek azonosításának precizitása fordítottan arányos, a technika elérte a határait, amelyen a termékenyítő adagot sejtkoncentrációjának csökkentésével, és mély uterin inszeminációval csak kis mértékben lehet túllépni. Az ivarspecifikus spermaelőállítás jövőjét inkább az alternatív szexuális technikák elterjedésében látom, ilyen például az úgynevezett „optical zapping” citometria, ahol a nem kívánt ondósejteket egy nagy energiájú lézerrel elöljük. Mivel ez az eljárás nem igényel cseppképzést és fizikai szétválasztást (az elölt sejtek a szuszpenzióban maradnak), nagyságrendekkel nagyobb sebességgel képes üzemelni. A technológia már megjelent a piacon (a 23. Szaporodásbiológiai Találkozón is bemutatásra került), azonban ebben az esetben is felmerülnek olyan kérdések, amelyek további vizsgálatokat igényelnek, mint például a termékenyítő adagban maradó elölt sejtekből kiszabaduló enzimek (pl. aromás aminosav-oxidázok), amelyek károsíthatják az élő spermiumokat.

2. *Van-e tudomása arról, hogy az állattenyésztő (spermatermelő) állomások az áramlási citometriát használják-e rutinszerűen és ha igen, milyen célokra?*

Válaszom: igen, az ALTA Genetics például, ahol a PhD kutatásaim egy részét végeztem, termékenyítő állomásain rutinszerűen alkalmaz citométert, és más vállalatok is beillesztették a rutin minőségellenőrzésbe (például Finnországban). Az IMV Technologies ma már komplett citometriai rendszert (műszert, reagenseket, festőket) kínál a mesterséges termékenyítő állomások spermálaboratóriumai számára (ennek fejlesztésében tanácsadóként magam is részt vettem).

3. *Mivel magyarázza, hogy egyes hímek spermájának mélyhűthetősége jelentősen eltér a többiekétől? Lehet-e ezen a problémán szelekcióval segíteni?*

Igen, a sperma mélyhűthetőségét illetően egyedi eltérések léteztek a tejhasznosítású bikák esetében is („good freezer” és „bad freezer” bikák), de a gyakorlat csak azokat a bikákat használta, amelyeknek mélyhűthető volt a spermája (hozzátéve azt, amit Bírálóm is felvet, miszerint a „mélyhűthetőség” gyakorlatilag 50% körüli sejtkárosodást, -elhalást jelent a gyakorlatban, tehát lehet még javítani a technológián), ezzel elvégezve a szelekciót. Más fajok esetében, mint a sertés, az egyedi eltérések genetikai háttere intenzíven kutatott terület, amelyet jelentős mértékben segít a molekuláris genetikai vizsgálómódszerek egyre szélesebb körű hozzáférhetősége (pl.: Mańkowska A. és mtsai: Gene Polymorphisms in Boar Spermatozoa and Their Associations with Post-Thaw Semen Quality. Int J Mol Sci. 2020 Mar 10;21(5). pii:

E1902.; Fraser L. és mtsai: Transcriptome analysis of boar spermatozoa with different freezability using RNA-Seq. Theriogenology. 2020 Jan 15;142:400-413.).

Végül szeretném még egyszer megköszönni Bírálómnak konstruktív kritikai észrevételeit és kérdéseit – bízom abban, hogy kérdéseire adott válaszaimat elfogadhatónak tartja.

Köszönettel,

Dr. Nagy Szabolcs Tamás

egyetemi tanár

PE-GK Állattudományi Tanszék

Keszthely