

STRESZCZENIE

Syndrom żółtego nasienia (ang. *yellow semen syndrome*, YSS) u indora domowego (*Meleagris gallopavo*) opisano ponad 30 lat temu identyfikując plazmę nasienia o żółtym kolorze i wysokim stężeniu białka. Syndrom ten jest endemiczny dla populacji indora domowego, a użyte do inseminacji nasienie skutkuje obniżoną płodnością. Pomimo iż parametry jakości nasienia zostały szczegółowo opisane, przyczyna YSS wciąż pozostaje niewyjaśniona. U wielu gatunków ssaków równowaga pomiędzy testosteronem a estradiolem oraz lokalne interakcje międzykomórkowe, realizowane poprzez połączenia ścisłe, szczelinowe i przylegania mają kluczowe znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania męskiego układu rozrodczego. W porównaniu do obszernych badań prowadzonych na ssakach, niewiele wiadomo jest na temat roli lokalnie działających hormonów steroidowych oraz molekularnej budowy połączeń międzykomórkowych występujących w nabłonku tkanek rozrodczych ptaków domowych. Zatem, głównym celem niniejszej pracy było poznanie i wyjaśnienie związku pomiędzy poziomem steroidów, komunikacją międzykomórkową realizowaną przez połączenia obecne w nabłonku tkanek rozrodczych, a występowaniem obniżonej jakości nasienia u indorów z YSS. Badania prowadzono z użyciem tkanek rozrodczych i izolowanych plemników indorów YSS i indorów produkujących nasienie prawidłowe, WNS (ang. *white normal semen*, WNS). Do realizacji szczegółowych zadań naukowych zostały wykorzystane nowoczesne techniki biologii komórkowej i molekularnej takie jak: analiza immunohistochemiczna, qRT-PCR, Western blotting oraz testy ELISA.

W systemie *in vivo* wykazano niejednorodne rozmieszczenie sygnału aromatazy oraz zwiększony poziom jej ekspresji w tkankach rozrodczych i plemnikach indorów YSS. Różnice te mogą odzwierciedlać wyższą endogenną syntezę estrogenów u samców z nieprawidłowym żółtym nasieniem. Wykazano również dodatnią korelację między podwyższonym stężeniem estradiolu, a zwiększoną ekspresją receptorów estrogenowych (ER α i ER β) w jądrach i najądrzach indorów YSS. To świadczy o potencjalnej zależności pomiędzy zaburzoną równowagą hormonalną, a niższą jakością nasienia u indorów z syndromem, za czym przemawiają zmiany strukturalne proksymalnej części witki plemników indorów YSS. Co więcej, wykazane zmiany poziomu ekspresji okludyny, ZO-1, Cx43, N- i E-kadheryny oraz β -kateniny, poparte ich odmienną subkomórkową lokalizacją w tkankach rozrodczych samców YSS *versus* WNS, mogą prowadzić do

zaburzenia mikrośrodowiska tkanek, w których dochodzi do produkcji, dojrzewania i magazynowania plemników. Obserwowane w systemie *in vivo* zmiany ekspresji badanych genów zostały potwierdzone w doświadczeniach *ex vivo*, po inkubacji eksplantów jąder indorów YSS i WNS z estradiolem.

Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują na istotę równowagi hormonalnej w regulacji interakcji międzykomórkowych, co w konsekwencji może prowadzić do upośledzenia funkcji narządów i pojawiania się syndromu żółtego nasienia u indorów.

SUMMARY

Yellow semen syndrome (YSS) in domestic male turkeys (*Meleagris gallopavo*) was detected over thirty years ago by identifying seminal plasma having both a yellow color and a high protein concentration. The YSS is endemic within domestic turkey population. The yellow semen when used for insemination, results in reduced fertility and hatchability. Although semen quality parameters have been presented in detail, the cause of YSS still remains unclear. In many mammalian species the balance between testosterone and estradiol as well as local intercellular interactions performed by tight, gap and adherens junctions, are crucial for the male reproduction. Compared with extensive studies on mammals very little is known concerning a role of local steroid hormone action and the expression and molecular composition of epithelial junctions at reproductive tissues epithelia of domestic birds. Thus, the aim of the present study was placed on understanding a connection between the testosterone/estradiol ratio and junctional communication within the reproductive tissue cells as well as the lower quality of sperm occurring in YSS males. The study was performed on reproductive tissue and semen samples collected from adult YSS and WNS turkeys in both *in vivo* and *ex vivo* model using range histological, molecular and biochemical techniques, such as immunohistochemistry, qRT-PCR, Western blot or ELISA.

In the *in vivo* model results revealed a non-homogeneous distribution of aromatase, it markedly enhanced expression levels in YSS reproductive tissues and sperm compared to WNS males. These differences may reflect a higher endogenous synthesis of estrogens in the males with abnormal yellow semen. A positive correlation between increased estradiol concentration and elevated expression of ERs (ER α and ER β) in YSS testes and epididymis was observed. It suggests a potential relationship between hormonal imbalance and lower semen quality in turkeys with YSS as indicated by structural disorders of the proximal part

of the YSS spermatozoa tail. Moreover, altered levels of occludin, ZO-1, Cx43, N- and E-cadherin and β -catenin gene expression (supported by their altered subcellular distribution) in reproductive tissues of male YSS vs. WNS, may lead to impaired tissue microenvironment in which sperm are produced, developed and stored. The *in vivo* results were confirmed by *ex vivo* experiments where YSS and WNS testis explants were incubated with estradiol.

Taken together, the results indicate the essence of hormonal balance in the regulation of cell-to-cell interactions, which in consequence may result impaired organ function and the appearance of yellow semen syndrome in turkeys.

—
M. M. M. —
S. S. S.