



Impatto del Microbiota Intestinale e Genitale sulla Fertilità Maschile

Cecilia Verga Falzacappa, biologa nutrizionista, PhD

Abstract

La fertilità maschile rappresenta un ambito complesso in cui numerosi fattori, sia endogeni che esogeni, si intrecciano per influenzare la qualità dello sperma e la capacità riproduttiva. Negli ultimi anni, la crescente applicazione di tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS) ha permesso di rivelare che il tratto genitale maschile – un tempo considerato sterile – ospita un ricco ecosistema microbico. Parallelamente, evidenze emergenti suggeriscono che il microbiota intestinale, modulato da dieta, stile di vita e fattori ambientali, possa avere effetti indiretti sulla spermatogenesi e sulla salute riproduttiva. In questo articolo si sintetizzano i dati relativi all'influenza del microbiota sia intestinale che genitale sulla fertilità maschile, con l'obiettivo di delineare le potenziali implicazioni diagnostiche e terapeutiche di queste interazioni.

1. Introduzione

L'infertilità, come definita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, è l'incapacità delle coppie di concepire dopo aver avuto rapporti sessuali regolari per oltre un anno senza l'uso di contraccettivi [1].

Recenti pubblicazioni hanno evidenziato l'importanza del microbioma seminale in relazione al sistema riproduttivo maschile e alla fertilità [2,3,4,5]. I metodi di sequenziamento genico più avanzato hanno dimostrato, infatti, che lo sperma umano non è sterile, ma ospita specifiche specie microbiche, le cui funzioni e origini non sono del tutto chiare [5-7].

Sebbene alcuni studi non abbiano riscontrato differenze significative nei generi batterici caratterizzanti il seme di uomini infertili e sani, si è osservata una maggiore presenza di disbiosi del microbioma dello sperma tra gli individui infertili [8]. Oltre agli effetti della disbiosi, i batteri in grado di causare alterazioni patologiche nel liquido seminale, compresi quelli derivanti dalla produzione di citochine, di specie reattive dell'ossigeno (ROS), di tossine e di enzimi batterici, possono influenzare negativamente il liquido seminale e la spermatogenesi [9]. Inoltre, gli squilibri nel microbioma seminale possono portare a infiammazione locale, cambiamenti anatomici nel tratto genitale e alterazioni della struttura e della funzione degli spermatozoi [10]. Si ritiene poi, che il microbioma seminale svolga un ruolo nelle risposte immunitarie e nell'antigenicità degli spermatozoi [10], con un potenziale impatto sulla fertilità e sul tasso di gravidanza [11]. Infine, lo scambio di microrganismi tra partner sessuali [12] sottolinea ulteriormente l'importanza del microbioma seminale per la salute riproduttiva e il benessere della prole [13,14].

2. Microbiota Seminale e Fertilità Maschile

La disbiosi microbica si riferisce a un'alterazione nella struttura e nella funzione delle popolazioni microbiche all'interno del microbiota umano. È caratterizzata da un cambiamento nella composizione microbica alla quale conseguono alterazioni nelle funzioni metaboliche del microbiota stesso.

Per quanto riguarda la composizione del microbioma seminale, diversi studi hanno dimostrato la presenza di Proteobatteri e Actinobatteri nel liquido seminale di uomini sani, insieme a Bacteroidetes e Firmicutes [15]. Uno studio che ha analizzato il microbioma seminale di diversi individui, ha rivelato una dominanza, tra gli altri, di *Pelomonas*, *Propionibacterium*, *Bosea*, *Xylanimicrobium*, *Pedomicrobium*, *Phyllobacterium* e *Mycobacterium*, e dalle specie di *Propionibacterium acnes* e *Corynebacterium simulans*, nei soggetti sani [16]. Un altro studio di pirosequenziamento ha identificato 21 generi di batteri nello sperma, tra cui *Ralstonia*, *Corynebacterium* e *Lactobacillus* tra gli altri [13]. I ricercatori hanno concluso che, data la variabilità interindividuale osservata nella composizione microbica seminale, il microbiota seminale sia unico e influenzato da fattori genetici e ambientali di ogni persona [13].

Confronti tra pazienti con prostatite e i controlli sani hanno rivelato un'abbondanza di *Lattobacilli*, in particolare *L. iners*, in individui sani [17]. In linea con tali evidenze, è stato riportato che nel liquido seminale a dominanza *Lattobacillica* si ha una qualità superiore [18] mentre a livelli più bassi di *Lactobacillus*, o livelli elevati di *Neisseria* e *Klebsiella pneumoniae* corrispondono condizioni come l'iperviscosità e l'oligoastenoteratozoospermia [19,7]. In accordo con Monteiro et al., uno studio che confronta il seme di partecipanti vasectomizzati o non ha rilevato che la presenza di *Lactobacillus* si associa a spermatozoi di alta qualità e a un minor rischio di prostatite [22]. In combinazione con tali risultati, è stato proposto che i *Lattobacilli* del tratto femminile possano aiutare a prevenire la perossidazione lipidica degli spermatozoi e, quindi, mantenere la qualità degli spermatozoi anche durante la migrazione seminale e la fecondazione [23]. Al contrario, un aumento della presenza di *Lactobacillus* seminale è stato anche collegato a potenziali problemi di fertilità. Tale disbiosi può compromettere la stabilità di alcuni microrganismi benefici, portando alla crescita di patogeni opportunisti [15]. Inoltre, il ruolo di *L. gasseri* nel liquido seminale è tuttoggi dibattuto [20]. Mentre alcune ricerche indicano che si trovi prevalentemente nelle secrezioni vaginali e che si correli a esiti positivi in trattamenti di fecondazione in vitro [23], altri studi hanno suggerito che *L. gasseri* può ridurre la motilità degli spermatozoi in vitro [24].

La disbiosi del microbiota del tratto genitale maschile è associata a condizioni come la prostatite, l'uretrite e l'infertilità [25]. Specie batteriche specifiche come *Escherichia coli* e *Ureaplasma urealyticum* sono collegate alla prostatite cronica e all'infiammazione nel sistema riproduttivo maschile [26].

Recenti evidenze suggeriscono che specifici generi batterici, come *Prevotella* e *Lactobacillus*, svolgono un ruolo critico nell'influenzare i parametri seminali e la fertilità, mentre la colonizzazione microbica patologica può portare a infiammazione, frammentazione del DNA spermatico e riduzione del successo riproduttivo.

Studi incentrati sull'infertilità maschile che hanno analizzato campioni di seme hanno costantemente riscontrato variazioni nella composizione del microbiota seminale di maschi infertili. In particolare, si osservavano un aumento della prevalenza di *Prevotella* e *Staphylococcus* e una diminuzione della presenza di *Lactobacillus* e *Pseudomonas* [2,7,21]. Baud et al. [21] e Farahani et al. [2] hanno ulteriormente evidenziato una correlazione negativa tra la prevalenza di *Prevotella* e la motilità degli spermatozoi. Al contrario, è stata osservata una correlazione diretta tra una ridotta abbondanza di *Lactobacillus* e una morfologia anormale degli spermatozoi.

Confrontando campioni di individui fertili e infertili, i campioni seminali degli uomini infertili mostravano una ridotta presenza di *Collinsella* e una maggiore presenza di *Aerococcus* [28]. Ricerche successive hanno evidenziato una correlazione inversa tra l'abbondanza di *Aerococcus* e leucocitospermia e viscosità del campione seminale. Inoltre, l'abbondanza di *Prevotella* si correlava negativamente con la concentrazione del seme. L'abbondanza di *Pseudomonas*, invece, si

correlava positivamente al numero di spermatozoi, pur esibendo una proporzionalità inversa con il pH del seme [28]. La ricerca, tuttavia, necessita di ulteriori dati che possano consolidare queste osservazioni.

2.2. Microbiota delle Diverse Componenti del Tratto Genitale

Oltre al liquido seminale, il microbiota del tratto genitale maschile include comparti quali il testicolo, l'epididimo, la prostata e persino la pelle del glande. Ad esempio, la revisione di Zuber et al. [19] ha evidenziato che il microbiota testicolare, pur essendo a bassa abbondanza, presenta una predominanza di phyla come Firmicutes e Actinobacteria. La presenza di specifici generi in questi comparti suggerisce che anche la colonizzazione batterica degli organi riproduttivi potrebbe avere impatti diretti sui processi spermatogenici e, di conseguenza, sulla fertilità. Inoltre, i dati emergenti indicano che il microbiota prostatico può influenzare il microambiente del liquido seminale, modificando le condizioni chimico-fisiche che regolano la funzionalità spermatica [29].

2.3. Meccanismi di Azione e Implicazioni sulla Funzione Spermatica

Il legame tra microbiota genitale e fertilità si articola su diversi livelli. In primo luogo, la presenza di batteri benefici (ad es. *Lactobacillus*) può proteggere gli spermatozoi da stress ossidativo e infiammazioni, migliorando la motilità e preservando l'integrità del DNA. Al contrario, una disbiosi – ossia uno squilibrio della comunità microbica – può innescare processi infiammatori locali. Questi processi sono spesso mediati da una produzione eccessiva di ROS, che danneggiano le membrane cellulari e possono indurre apoptosi negli spermatozoi [1]. Inoltre, i batteri patogeni possono produrre tossine e enzimi che interferiscono direttamente con la struttura e la funzione degli spermatozoi, aggravando condizioni quali ipomotilità e oligozoospermia [1,29].

3. Ruolo del Microbiota Intestinale nella Fertilità Maschile

Asse intestino-testicoli

Come dimostrato in altri sistemi, esiste un ipotetico legame tra il microbioma intestinale e il tratto urogenitale maschile. L'asse intestino-testicoli si riferisce a un'interazione tra il microbioma dell'intestino e il suo impatto sulla regolazione della funzione testicolare e si ritiene che svolga un ruolo nella salute riproduttiva maschile e nell'infertilità. Ci sono prove significative che un'alterazione del GM può portare a cambiamenti sistemici e infiammazione, quindi può influenzare l'ambiente testicolare e formare una connessione interdipendente (30). Si ritiene che la trimetilammina N-ossido (TMAO) sia una molecola di segnalazione chiave. Il TMAO è una molecola biologicamente attiva generata dal GM e associata ad un aumentato rischio di aterosclerosi e disfunzione endoteliale (31). Alti livelli di TMAO sono associati a un minor numero di cellule progenitrici endoteliali e a un maggior numero di specie reattive dell'ossigeno, contribuendo potenzialmente alla disfunzione erettile vasculogenica (32).

Tremellen nel 2016 ha evidenziato un potenziale meccanismo che collega la disfunzione intestinale negli uomini obesi e l'ipogonadismo a insorgenza tardiva, formalmente indicato come "L'endotossina intestinale che porta a un declino della funzione gonadica" (GELDING) (33). La teoria afferma che una dieta ricca di grassi e ipercalorica può innescare una rottura della barriera mucosa intestinale, portando a una perdita di endotossina batterica e a uno stato cronico di infiammazione di basso grado. Questo stato di infiammazione di basso grado può quindi portare a disfunzioni testicolari e ormonali (33). Ci sono prove che una dieta ricca di grassi possa alterare le proteine della giunzione stretta disordinate che separano il metaboloma dei microbi intestinali dalla fuoriuscita nella circolazione sistemica (34). Uno studio su topi maschi ha dimostrato che il consumo di una dieta ricca di grassi altera il liquido seminale e i microbiomi intestinali (35). Questa teoria è supportata anche da dati in studi sugli animali che mostrano che alcune endotossine

possono compromettere gli impulsi dell'ormone luteinizzante (LH) e interferire con la produzione intra-testicolare di testosterone (36, 37).

Diversi studi hanno dimostrato che il microbioma intestinale influenza i livelli di testosterone e la produzione di spermatozoi. La fermentazione batterica produce alcuni acidi grassi a catena corta, che innescano il rilascio di ormoni intestinali come il GLP-1 e il peptide YY (PYY), due peptidi anoressigeni che regolano la sazietà (13, 14). È stato anche dimostrato che gli agonisti del GLP-1 aumentano il testosterone sierico nei pazienti diabetici e/o obesi, migliorano il metabolismo degli spermatozoi, la motilità e la secrezione di insulina nei testicoli (25). La somministrazione di PYY inibisce la secrezione di GnRH nei ratti maschi e ritarda l'aumento di LH nelle femmine di pecora (29, 27). Il GM genera anche direttamente androgeni, quindi i cambiamenti nel GM possono modulare il metabolismo intestinale e degli androgeni (28). Inoltre, la deprivazione di androgeni può alterare il microbiota fecale ed esacerbare i rischi di altre malattie sistemiche come l'obesità e le malattie cardiovascolari (29).

Gli studi sugli animali hanno anche dimostrato che un FMT (Fecal Microbiome Transplant) può trattare l'infertilità e migliorare la qualità dello sperma, dimostrando un altro legame tra disbiosi intestinale e fertilità. Uno studio sui topi di Zhang et al. ha esaminato gli effetti di un FMT nei topi con spermatogenesi e qualità dello sperma danneggiate. Lo studio ha rilevato che un FMT ha migliorato la spermatogenesi, aumentato la concentrazione di spermatozoi, migliorato la motilità, aumentato i livelli di antiossidanti testicolari e proteine riproduttive chiave e aumentato l'espressione genica correlata alla spermatogenesi (30). Nei topi con diabete di tipo 1 indotto e infertilità, un FMT ha diminuito significativamente la glicemia e aumentato la qualità dello sperma, migliorato la milza e le funzioni epatiche per rafforzare l'ambiente sistemico per lo sviluppo degli spermatozoi e aumentato i metabolomi chiave del sangue e dei testicoli, come l'acido docosaesaenoico (DHA) e il testosterone (31). Altri studi hanno dimostrato una diminuzione del DHA nei testicoli di animali con diete ricche di grassi, e l'integrazione di DHA è stata associata al ripristino della fertilità nei topi maschi infertili (32, 33).

Oltre alle prove provenienti da esperimenti sugli animali, alcuni studi clinici hanno dimostrato un'associazione tra il microbioma intestinale, i livelli sierici di testosterone e la produzione di spermatozoi (34-37). In uno studio osservazionale su uomini con diabete di tipo 2, sono state osservate differenze significative nelle specie di microbiota tra uomini con e senza testosterone basso (36). Gli uomini con basso livello di testosterone sierico avevano anche una maggiore abbondanza di agenti patogeni opportunisti (36). Un altro studio ha dimostrato un'associazione significativamente positiva tra i livelli intestinali di Firmicutes e il testosterone sierico negli uomini adulti, controllando al contempo l'età, l'IMC e i livelli di lipoproteine (38). Ci sono ulteriori prove attraverso la ricerca endocrina che alcuni ormoni coinvolti nella steroidogenesi sono attivamente sintetizzati nel colon e sotto l'influenza del GM (39-41). Uno studio ha scoperto che una specifica specie microbica presente nell'intestino e nel tratto genito-urinario è in grado di metabolizzare sia i glucocorticoidi endogeni che i derivati farmaceutici, influenzando potenzialmente la biodisponibilità di alcuni metaboliti che possono influenzare l'ipertensione e la crescita della prostata (39). Nel complesso, la combinazione di questi studi dimostra un legame tra ormoni e microbi, ma sono necessarie ulteriori ricerche, soprattutto negli esseri umani, per quanto riguarda specificamente la fertilità maschile.

Sebbene la ricerca specifica sulla relazione tra microbiota intestinale e infertilità maschile sia limitata, gli studi esistenti forniscono informazioni preziose. Queste intuizioni sottolineano la necessità di ulteriori esplorazioni sulla manipolazione del microbiota intestinale nei maschi infertili.

La comprensione dell'interazione tra microbiota intestinale e genitale apre nuove prospettive per strategie terapeutiche innovative. Interventi basati su modificazioni della dieta, integrazione di probiotici e prebiotici, e modulazione dello stile di vita potrebbero essere utilizzati per ristabilire l'equilibrio microbico in entrambi i compartimenti. (53) Tali approcci, integrati con le tecniche di procreazione assistita, potrebbero migliorare significativamente la qualità dello sperma e aumentare i tassi di successo riproduttivo [2]. Inoltre, la diagnostica molecolare avanzata, basata su

NGS e metagenomica, potrà in futuro diventare uno strumento di routine per valutare lo stato microbico nei pazienti infertili e guidare interventi personalizzati.

5. Conclusioni

Le evidenze attuali delineano un quadro complesso in cui sia il microbiota genitale che quello intestinale influenzano in maniera significativa la fertilità maschile. La presenza di una comunità microbica equilibrata nel liquido seminale e nei tessuti riproduttivi sembra favorire la qualità degli spermatozoi, mentre squilibri e disbiosi sono associati a alterazioni spermatogeniche, infiammazione e stress ossidativo. Parallelamente, il microbiota intestinale, modulato dalla dieta e dallo stile di vita, gioca un ruolo cruciale nel mantenimento di un ambiente sistemico favorevole alla riproduzione.

In conclusione, l'integrazione di approcci diagnostici avanzati e interventi terapeutici mirati a modulare il microbiota rappresenta una promettente frontiera nel trattamento dell'infertilità maschile. Ulteriori ricerche sono necessarie per chiarire i meccanismi molecolari sottostanti e per sviluppare strategie personalizzate che possano tradursi in benefici clinici concreti per i pazienti.

Bibliografia

1. Zegers-Hochschild, F.; Adamson, G.D.; de Mouzon, J.; Ishihara, O.; Mansour, R.; Nygren, K.; Sullivan, E.; Vanderpoel, S.; International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil. Steril.* 2009, *92*, 1520–1524
2. Farahani, L.; Tharakan, T.; Yap, T.; Ramsay, J.W.; Jayasena, C.N.; Minhas, S. The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: A systematic review and meta-analysis. *Andrology* 2021, *9*, 115–144.
3. Javurek, A.B.; Spollen, W.G.; Ali, A.M.; Johnson, S.A.; Lubahn, D.B.; Bivens, N.J.; Bromert, K.H.; Eilersieck, M.R.; Givan, S.A.; Rosenfeld, C.S. Discovery of a Novel Seminal Fluid Microbiome and Influence of Estrogen Receptor Alpha Genetic Status. *Sci.Rep.* 2016, *6*, 23027.
4. Altmäe, S.; Franasiak, J.M.; Mändar, R. The seminal microbiome in health and disease. *Nat. Rev. Urol.* 2019, *16*, 703–721.
5. Monteiro, C.; Marques, P.I.; Cavadas, B.; Damião, I.; Almeida, V.; Barros, N.; Barros, A.; Carvalho, F.; Gomes, S.; Seixas, S. Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenotera- tozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018, *79*, e12838.
6. Mändar, R.; Punab, M.; Borovkova, N.; Lapp, E.; Kiiker, R.; Korrovits, P.; Metspalu, A.; Krjutškov, K.; Nõlvak, H.; Preem, J.K.; et al. Complementary seminovaginal microbiome in couples. *Res. Microbiol.* 2015, *166*, 440–447.
7. Weng, S.L.; Chiu, C.M.; Lin, F.M.; Huang, W.C.; Liang, C.; Yang, T.; Yang, T.L.; Liu, C.Y.; Wu, W.Y.; Chang, Y.A.; et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: Metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PLoS ONE* 2014, *9*, e110152.
8. Osadchiy, V.; Belarmino, A.; Kianian, R.; Sigalos, J.T.; Furtado, T.P.; Ancira, J.S.; Kanie, T.; Mangum, S.F.; Tipton, C.D.; Hsieh, T.M.; et al. Urine microbes and predictive

- metagenomic profiles associate with abnormalities in sperm parameters: Implications for male subfertility. *F&S Sci.* 2024, 5, 163–173.
9. Puerta Suárez, J.; Hernandez, J.C.; Cardona Maya, W.D. Molecular analysis of microorganisms in the semen and their impact on semen parameters. *Arch. Ital. Urol. Androl.* 2022, 94, 199–205.
 10. Morawiec, E.; Czerwin ski, M.; Czerwin ska, A.B.; Wiczowski, A. Semen dysbiosis-just a male problem? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022, 12, 815786.
 11. Rafiee, M.; Sereshki, N.; Alipour, R.; Ahmadipanah, V.; Pashoutan Sarvar, D.; Wilkinson, D. The effect of probiotics on immuno- genicity of spermatozoa in couples suffering from recurrent spontaneous abortion. *BMC Immunol.* 2022, 23, 32.
 12. Wittemer, C.; Bettahar-Lebugle, K.; Ohl, J.; Rongières, C.; Viville, S.; Nisand, I. Abnormal bacterial colonisation of the vagina and implantation during assisted reproduction. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 2004, 32, 135–139.
 13. Hou, D.; Zhou, X.; Zhong, X.; Settles, M.L.; Herring, J.; Wang, L.; Abdo, Z.; Forney, L.J.; Xu, C. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertil. Steril.* 2013, 100, 1261–1269.
 14. Robertson, S.A.; Sharkey, D.J. Seminal fluid and fertility in women. *Fertil. Steril.* 2016, 106, 511–519.
 15. Chen, H.; Luo, T.; Chen, T.; Wang, G. Seminal bacterial composition in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. *Exp. Ther. Med.* 2018, 15, 2884–2890.
 16. Yang, H.; Zhang, J.; Xue, Z.; Zhao, C.; Lei, L.; Wen, Y.; Dong, Y.; Yang, J.; Zhang, L. Potential Pathogenic Bacteria in Seminal Microbiota of Patients with Different Types of Dysspermatism. *Sci. Rep.* 2020, 10, 6876.
 17. Mändar, R.; Punab, M.; Korrovits, P.; Türk, S.; Ausmees, K.; Lapp, E.; Preem, J.K.; Oopkaup, K.; Salumets, A.; Truu, J. Seminal microbiome in men with and without prostatitis. *Int. J. Urol.* 2017, 24, 211–216
 18. Tomaiuolo, R.; Veneruso, I.; Cariati, F.; D'Argenio, V. Microbiota and Human Reproduction: The Case of Male Infertility. *High-Throughput* 2020, 9, 10.
 19. Mändar, R.; Punab, M.; Borovkova, N.; Lapp, E.; Kiiker, R.; Korrovits, P.; Metspalu, A.; Krjutškov, K.; Nölvak, H.; Preem, J.K.; et al. Complementary seminovaginal microbiome in couples. *Res. Microbiol.* 2015, 166, 440–447
 20. Suárez, J.P.; Maya, W.D.C. Microbiota, Prostatitis, and Fertility: Bacterial Diversity as a Possible Health Ally. *Adv. Urol.* 2021, 2021, 1007366
 21. Baud, D.; Pattaroni, C.; Vulliemoz, N.; Castella, V.; Marsland, B.J.; Stojanov, M. Sperm Microbiota and Its Impact on Semen Parameters. *Front. Microbiol.* 2019, 10, 234
 22. Barbonetti, A.; Cinque, B.; Vassallo, M.R.; Mineo, S.; Francavilla, S.; Cifone, M.G.; Francavilla, F. Effect of vaginal probiotic lactobacilli on in vitro-induced sperm lipid peroxidation and its impact on sperm motility and viability. *Fertil. Steril.* 2011, 95, 2485–2488.
 23. Okwelogu, S.I.; Ikechebel, J.I.; Agbakoba, N.R.; Anukam, K.C. Microbiome Compositions From Infertile Couples Seeking In Vitro Fertilization, Using 16S rRNA Gene Sequencing Methods: Any Correlation to Clinical Outcomes? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021, 11, 709372.
 24. Wang, H.; Chen, T.; Chen, Y.; Luo, T.; Tan, B.; Chen, H.; Xin, H. Evaluation of the inhibitory effects of vaginal microorganisms on sperm motility in vitro. *Exp. Ther. Med.* 2020, 19, 535–544.
 25. Lundy, S.D.; Sangwan, N.; Parekh, N.V.; Selvam, M.K.P.; Gupta, S.; McCaffrey, P.; Bessoff, K.; Vala, A.; Agarwal, A.; Sabanegh, E.S.; et al. Functional and Taxonomic Dysbiosis of the Gut, Urine, and Semen Microbiomes in Male Infertility. *Eur. Urol.* 2021, 79, 826–836.
 26. Zuber, A.; Peric, A.; Pluchino, N.; Baud, D.; Stojanov, M. Human Male Genital Tract Microbiota. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 6939. doi:10.3390/ijms24086939

27. Liu Y, Dai M. Trimethylamine N-oxide generated by the gut microbiota is associated with vascular inflammation: new insights into atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* (2020) 2020:4634172. doi: 10.1155/2020/4634172
28. Ostfeld RJ, Allen KE, Aspary K, Brandt EJ, Spitz A, Liberman J, et al. Vasculogenic erectile dysfunction: the impact of diet and lifestyle. *Am J Med.* (2021) 134(3):310–6. doi: 10.1016/j.amjmed.2020.09.033
29. Tremellen K. Gut endotoxin leading to a decline in gonadal function (GELDING)—a novel theory for the development of late onset hypogonadism in obese men. *Basic Clin Androl.* (2016) 26:7. doi: 10.1186/s12610-016-0034-7
30. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut.* (2009) 58(8):1091–103. doi: 10.1136/gut.2008.165886
31. Javurek AB, Spollen WG, Johnson SA, Bivens NJ, Bromert KH, Givan SA, et al. Consumption of a high-fat diet alters the seminal fluid and gut microbiomes in male mice. *Reprod Fertil Dev.* (2017) 29(8):1602–12. doi: 10.1071/RD16119
32. Shang T, Zhang X, Wang T, Sun B, Deng T, Han D. Toll-like receptor-initiated testicular innate immune responses in mouse leydig cells. *Endocrinology.* (2011) 152 (7):2827–36. doi: 10.1210/en.2011-0031
33. Daniel JA, Abrams MS, deSouza L, Wagner CG, Whitlock BK, Sartin JL. Endotoxin inhibition of luteinizing hormone in sheep. *Domest Anim Endocrinol.* (2003) 25(1):13–9. doi: 10.1016/s0739-7240(03)00042-0
34. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes.* (2012) 61(2):364–71. doi: 10.2337/db11-1019
35. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev.* (2001) 81 (3):1031–64. doi: 10.1152/physrev.2001.81.3.1031
36. Cannarella R, Calogero AE, Condorelli RA, Greco EA, Aversa A, La Vignera S. Is there a role for glucagon-like peptide-1 receptor agonists in the treatment of male infertility? *Andrology.* (2021) 9(5):1499–503. doi: 10.1111/andr.13015
37. Liu R, Zhang C, Shi Y, Zhang F, Li L, Wang X, et al. Dysbiosis of gut Microbiota associated with clinical parameters in polycystic ovary syndrome. *Front Microbiol.* (2017) 8:324. doi: 10.3389/fmicb.2017.00324
38. Khan D, Moffett C, Moffett RC. Commentary: Emerging role of GIP and related gut hormones in fertility and PCSOS. Available at: <https://www.endocrinoljournal.com/articles/commentary-emerging-role-of-gip-and-related-gut-hormones-in-fertility-and-pcos.pdf> (Accessed February 6, 2023).
39. Colldén H, Landin A, Wallenius V, Elebring E, Fändriks L, Nilsson ME, et al. The gut microbiota is a major regulator of androgen metabolism in intestinal contents. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2019) 317(6):E1182–92. doi: 10.1152/ajpendo.00338.2019
40. Harada N, Hanaoka R, Hanada K, Izawa T, Inui H, Yamaji R. Hypogonadism alters cecal and fecal microbiota in male mice. *Gut Microbes.* (2016) 7(6):533–9. doi: 10.1080/19490976.2016.1239680
41. Zhang P, Feng Y, Li L, Ge W, Yu S, Hao Y, et al. Improvement in sperm quality and spermatogenesis following faecal microbiota transplantation from alginate oligosaccharide dosed mice. *Gut.* (2021) 70(1):222–5. doi: 10.1136/gutjnl-2020-320992
42. Hao Y, Feng Y, Yan X, Chen L, Zhong R, Tang X, et al. Gut microbiota-testis axis: FMT improves systemic and testicular micro-environment to increase semen quality in type 1 diabetes. *Mol Med.* (2022) 28(1):45. doi: 10.1186/s10020-022-00473-w
43. Bunay J, Gallardo LM, Torres-Fuentes JL, Aguirre-Arias MV, Orellana R, Sepúlveda N, et al. A decrease of docosahexaenoic acid in testes of mice fed a high-fat diet is associated with impaired sperm acrosome reaction and fertility. *Asian J Androl.* (2021) 23(3):306–13. doi: 10.4103/aja.aja_76_20
44. Roqueta-Rivera M, Stroud CK, Haschek WM, Akare SJ, Segre M, Brush RS, et al. Docosahexaenoic acid supplementation fully restores fertility and spermatogenesis in

- male delta-6 desaturase-null mice. *J Lipid Res.* (2010) 51(2):360–7. doi: 10.1194/jlr.M001180
45. Cai H, Cao X, Qin D, Liu Y, Liu Y, Hua J, et al. Gut microbiota supports male reproduction via nutrition, immunity, and signaling. *Front Microbiol.* (2022) 13:977574. doi: 10.3389/fmicb.2022.977574
 46. He S, Li H, Yu Z, Zhang F, Liang S, Liu H, et al. The gut microbiome and sex hormone-related diseases. *Front Microbiol.* (2021) 12:711137. doi: 10.3389/fmicb.2021.711137
 47. Liu S, Cao R, Liu L, Lv Y, Qi X, Yuan Z, et al. Correlation between gut microbiota and testosterone in male patients with type 2 diabetes mellitus. *Front Endocrinol.* (2022) 13:836485. doi: 10.3389/fendo.2022.836485
 48. Li X, Cheng W, Shang H, Wei H, Deng C. The interplay between androgen and gut microbiota: is there a microbiota-gut-testis axis. *Reprod Sci.* (2022) 29(6):1674–84. doi: 10.1007/s43032-021-00624-0
 49. Matsushita M, Fujita K, Motooka D, Hatano K, Hata J, Nishimoto M, et al. Firmicutes in gut microbiota correlate with blood testosterone levels in elderly men. *World J Mens Health.* (2022) 40(3):517–25. doi: 10.5534/wjmh.210190
 50. Ly LK, Rowles JL 3rd, Paul HM, Alves JMP, Yemm C, Wolf PM, et al. Bacterial steroid-17,20-desmolase is a taxonomically rare enzymatic pathway that converts prednisone to 1,4-androstenediene-3,11,17-trione, a metabolite that causes proliferation of prostate cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* (2020) 199:105567. doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.105567
 51. Diviccaro S, Giatti S, Borgo F, Falvo E, Caruso D, Garcia-Segura LM, et al. Steroidogenic machinery in the adult rat colon. *J Steroid Biochem Mol Biol.* (2020) 203:105732. doi: 10.1016/j.jsbmb.2020.105732
 52. Diviccaro S, Giatti S, Borgo F, Barcella M, Borghi E, Trejo JL, et al. Treatment of male rats with finasteride, an inhibitor of 5 α -reductase enzyme, induces long- lasting effects on depressive-like behavior, hippocampal neurogenesis, neuroinflammation and gut microbiota composition. *Psychoneuroendocrinology.* (2019) 99:206–15. doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.09.021
 53. Magoutas, K.; Leathersich, S.; Hart, R.; Ireland, D.; Walls, M.; Payne, M. *Lower Semen Quality Among Men in the Modern Era—Is There a Role for Diet and the Microbiome?* *Microorganisms* 2025, 13, 147. doi:10.3390/microorganisms13010147
 54. Chatzokou, D.; Tsarna, E.; Davouti, E.; Siristatidis, C.S.; Christopoulou, S.; Spanakis, N.; Tsakris, A.; Christopoulos, P. *Semen Microbiome, Male Infertility, and Reproductive Health.* *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26, 1446. doi:10.3390/ijms26041446