



**TURUN
YLIOPISTO**

Suoliston mikrobiomi miehen hedelmättömyydessä

Tia Ekström

Luonnontieteiden kandidaatin tutkielma

Turun yliopisto

Biolääketieteen koulutusohjelma

Lääketieteellinen tiedekunta

Biolääketieteen laitos

16.5.2025

Sisällysluettelo

LYHENTEET	3
TIIVISTELMÄ	4
1. JOHDANTO	5
2. HEDELMÄTTÖMYYS	5
3. MIKROBIOMI	6
3.1. NORMAALIFLOORA	7
3.2. SUOLISTON JA KIVESTEN VÄLINEN YHTEYS	8
3.3. MIKROBIOMI JA VERI-KIVESESTE	9
4. DYSBIOOSI	10
4.1. MIKROBIT	10
4.2. TULEHDUS JA IMMUNITEETTI.....	11
4.2.1. Endotoksiinit	12
4.2.2. Siittiö vasta-aineet (ASA)	13
4.3. OKSIDATIIVINEN STRESSI	14
4.4. HORMONAALINEN SÄÄTELY	15
4.4.1. SCFA:t.....	16
5.HOIDOT	17
5.1. PROBIOOTIT, ULOSTEENSIIRTO JA ANTIBIOOTIT.....	18
5.2. ELÄMÄNTAVAT	19
6. YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET	21
LÄHTEET	23

Lyhenteet

AOS – Alginaattiolikosakkaridi – Alignate oligosaccharide

ART - Assisted reproductive technology

ASA – Siittiö vasta-aineet - Anti sperm antibodies

BTB – Veri-kiveseste – Blood-Testis barrier

GTA – Suolisto-kives-akseli - Gut-testis-axis

HIV – Immuunikato virus - Human immunodeficiency virus

HPG – Hypotalamus – aivolisäke -sukupuolirauhas-akseli - Hypotalamus – pituitary – gonad-axis

ICSI – Siittiön mikroinjektio munasoluun – Intracytoplasmic sperm injection

IL-6 – Interleukiini 6 – Interleukin 6

IL-10 – Interleukiini 10 – Interleukin 10

IVF – Koeputkihedelmöitys - In vitro fertilisaation

LPS – Lipopolysakkaridi – Lipopolysaccharide

mPOA – Väliaivojen mediaalinen preoptinen alue - Medial preoptic area

OS – Oksidatiivinen stressi – Oxidative stress

PUFA – Monitydyttymätön rasvahappo – Polyunsaturated fatty acid

ROS – Reaktiiviset happilajit - Reactive oxygen species

SCFA – Lyhytketjuinen rasvahappo – Short chained fatty acid

TGFβ3 - Muuntuva kasvutekijä β3 – Transforming growth factor β3

TNFα – Tuumori nekroositekijä α - Tumor necrosis factor α

TRL4 – Tollin kaltainen reseptori 4 – Toll like receptor 4

WHO – Maailman terveysjärjestö - World Health Organization

Tiivistelmä

NIH:n Ihmisen mikrobiomi -projektin (2007) (eng. The Human Microbiome Project) myötä mikrobiomin yhteys terveyteen on saanut merkittävää huomiota tiedeyhteisössä. Viimeaikaiset tutkimukset ovat myös viitanneet siihen, että suoliston mikrobiomilla on merkittävä vaikutus miehen lisääntymisterveyteen. Havainnot ovat olleet erityisen merkittäviä, sillä miesten hedelmällisyys ja siittiöiden laatu on ollut laskussa maailmanlaajuisesti ja sen on arvioitu kattavan noin puolet hedelmättömyystapauksista.

Merkittävä osa miesten hedelmättömyydestä on idiopaattisia. Tällä tarkoitetaan hedelmättömyyttä, jossa siemennesteen laadulliset ominaisuudet ovat normaalit, mutta mies on hedelmätön. Oksidatiivisen stressin, elämäntapojen ja hormonaalisten häiriöiden on epäilty kattavan suuren osan idiopaattisista tapauksista.

Suoliston on esitetty olevan merkittävässä roolissa näiden tekijöiden välillä, sillä se kykenee välittämään monenlaista tietoa suoliston ja kivesen välillä. Tätä yhteyttä kutsutaan suolisto-kives-akseliksi (eng. gut-testis-axis). Suolisto-kives-akselin on osoitettu olevan osana terveyden ylläpitoa sekä sairauksia. Tärkeässä roolissa on suoliston mikrobisto, eli mikrobiomi.

Häiriöt suolistomikrobiomin toiminnassa voivat vaikuttaa miehen hedelmällisyyteen tulehduksen, oksidatiivisen stressin, hormonitasapainon häiriöiden ja veri-kives-esteen (BTB) vaurioitumisen kautta. BTB:n vaurio voi aiheutua muun muassa oksidatiivisesta stressistä ja tulehduksesta. BTB toimii fyysisenä rakenteena, joka on olennainen osa spermatogeneesin mikroympäristöä. Se luo myös immunologisen esteen erottaen keholle vieraita antigenejä sisältävät kypsyvät sukusolut systeemisestä verenkierrosta, jotta ne eivät altistu kehon immuunijärjestelmälle ja siittiöiden vasta-aineille.

Oksidatiivinen stressi ei ole liitetty ainoastaan BTB:n vaurioon, vaan myös suoraan siittiöiden laadun heikkenemiseen. Siittiöt ovat erityisen herkkiä oksidatiiviselle stressille, joka vaikuttaa siittiöiden liikkuvuuteen, määrään, morfologiaan sekä DNA:n laatuun johtaen hedelmällisyyden heikkenemiseen.

Pitkittynyt tulehdus voi vaurioittaa siittiön kehitykselle välttämättömiä Sertolin ja Leygidin soluja DNA-vaurioiden, lipidien ja proteiinien hapettumisen sekä mitokondrion toimintahäiriöiden kautta. Tämä tapahtuu pääasiallisesti tulehduksesta edistävien välittäjäaineiden, kuten sytokiinien, kemokiinien, reaktiivisten happiradikaalien ja imusolujen kautta.

Suolistomikrobiomin on ehdotettu vaikuttavan myös hypotalamus-aivolisäke-sukupuolirauhas- akselin (HPG) toiminnan kautta esimerkiksi spermatogeneesiin. HPG on vastuussa gonadotropiinia vapauttavan hormonin (GnRH) erittymisestä, ja sen kautta follikkeliä stimuloivan hormonin (FSH) sekä luteinisoivan hormonin (LH) säätelystä. Viime kädessä se myös vaikuttaa testosteronin tuotantoon. Kyseiset hormonit ovat tärkeitä spermatogeneesin ylläpidossa.

1. Johdanto

Suolistomikrobiomin vaikutuksesta miehen hedelmällisyyteen on kertynyt ajan saatossa paljon näyttöä. Siitä huolimatta HPG:n vaikutukset hedelmällisyyteen ovat vielä melko kyseenalaistettuja. Suoliston bakteerien epätasapaino on kuitenkin pystytty osoittamaan vaikuttavaksi tekijäksi hedelmällisyyteen muun muassa tulehduksen, oksidatiivisen stressin ja herkkien rakenteiden, kuten veri-kives-esteen ja siementiehyiden vaurioitumisen kautta. Tutkielmassa keskitytään tarkastelemaan suoliston ja sen dysbioottisen tilan mahdollisia yhteyksiä siittiöiden laadullisiin ominaisuuksiin ja sitä kautta miehen hedelmällisyyteen.

2. Hedelmättömyys

Maailman terveysjärjestön (WHO) määritelmän mukaan hedelmättömyys on tila tai sairaus, joka määritellään kyvyttömyydeksi saavuttaa onnistunut raskaus vuoden tai pidemmän ajan säännöllisen suojaamattoman yhdynnän aikana. Hedelmättömyys koskee miljoonia ihmisiä, mukaan lukien syövästä toipuneet sekä HIV:n kanssa kamppailevat parit. ¹ On arvioitu, että noin 8-15% pareista kokee hedelmättömyyttä vuoden säännöllisen suojaamattoman yhdynnän jälkeen ³. Lisäksi noin puolet hedelmättömyydestä on peräisin miehen puolelta ³.

Hedelmättömyyden vaikutukset eivät ole ainoastaan fyysisiä. Sosiaaliset vaikutukset heijastuvat voimakkaasti parisuhteeseen ja sen myötä myös seksuaalisuuteen. Hedelmättömyyden on myös havaittu vaikuttavan parisuhteen lisäksi yleisesti sosiaalisiin suhteisiin merkittävästi. ⁴

Hedelmättömyyteen liittyy kirjo palautuvia ja palautumattomia tiloja toksiinien vaikutuksista geneettisiin sairauksiin saakka. Miehillä hedelmättömyyden yleisimmät syyt liittyvät ejakulaatiohäiriöihin, siittiöiden puutteeseen, epänormaaliin morfologiaan tai liikkuvuuden heikentymiseen ^{1,5}. Lisäksi miehen hedelmättömyyteen on osoitettu liittyvän yleinen terveydentilan

lasku ⁶ sekä kohonnut riski sairastua kives- ja eturauhassyöpiin ⁷. Alentuneeseen hedelmällisyyteen voivat johtaa urogenitaali alueen poikkeavuudet ⁸, infektiot lisääntymiselimistössä ⁹, hormonaaliset häiriöt ¹⁰ ja geneettiset poikkeavuudet ¹¹, kivespussin lämpötilan kohoaminen ^{12,13} ja immunologiset tekijät ¹⁴.

Siittiöiden määrän on arvioitu laskeneen yli 50% vuodesta 1973 vuoteen 2018 ¹⁵. Samaan aikaan hedelmättömyys on ollut kasvussa maailmanlaajuisesti. Hedelmättömyyden yleistyessä, myös hedelmöitymishoitojen tarve on kasvanut. Avustetut lisääntymisteknologiamenetelmät (ART, eng. Assisted reproductive technologies), kuten ICSI (eng. Intracytoplasmic sperm injection) ja IVF (eng. In vitro fertilization) ovat yleisimmin käytettyjä hoitoja hedelmättömyyteen. Arvioiden mukaan ART:n tarve jatkaa kasvuaan vuosittain noin 5-10 %. ¹⁶ Mikäli siittiöiden laatu heikkenee edelleen ja lapsettomuuden hoidossa joudutaan turvautumaan hedelmöityshoitoihin, aiheutuu merkittäviä kustannuksia tuleville sukupolville.

Noin 20-30 % hedelmättömyydestä on kuvattu idiopaattiseksi ¹⁷ eikä kasvavalle hedelmättömyydelle tiedetä suoria syitä ¹⁸. Idiopaattisella hedelmättömyydellä tarkoitetaan tilaa, jossa suoraa syytä hedelmättömyydelle ei löydy, mutta siemennesteen laadulliset ominaisuudet ovat normaalit. Tutkijat ovat pohtineet kasvavan hedelmättömyyden syyksi muun muassa oksidatiivista stressiä, toksiinien vaikutuksia, lämpöä, psyykkistä stressiä, sekä hormoni- ja lipiditasapainon muutoksia. Viimeaikaiset tutkimukset ovat painottaneet eksogeenisten tekijöiden vaikutusta miehen hedelmällisyyteen ¹⁹. Eksogeenisiä tekijöitä voivat olla esimerkiksi antibiootit, lämpö, ympäristömyrkyt ja saasteet. Suolistolla on tärkeä rooli eksogeenisten tekijöiden yhteydessä muuhun elimistöön, kuten kiveksiin.

3. Mikrobiomi

Ihmisen mikrobiomi on mikrobeista koostuva monimutkainen ekosysteemi, joka koostuu muun muassa bakteereista, alkueläimistä, sienistä ja viruksista. Mikrobiyhteisöjä sijaitsee suu- ja nenäontelossa, iholla, suolistossa ja jopa lisääntymiselimistössä, jonka pitkään ajateltiin olevan steriili ympäristö. Ihmisen mikrobiomi on yksilöllinen ja muovautuu koko elämän ajan ikääntyessä ²⁰, ruokavalion ^{21,22}, antibioottikuurien ²³, elämäntapojen ^{22,24} ja sairauksien vaikutuksesta. Tiedeyhteisön kiinnostus suolistomikrobiomiin on kasvanut erityisesti Ihmisen mikrobiomi -projektin ²⁵ myötä. Suolistomikrobisto on yhteyksissä monenlaisiin sairauksiin, kuten masennukseen ²⁶, syöpään ^{27,28} ja autoimmuunisairauksiin, kuten IBD:hen ²⁹ ja tyypin 1 diabetekseen ^{30,31}.

Suoliston mikrobiomi on runsaimmillaan ja monimuotoisimmillaan paksusuolella ³², jossa bakteerimäärän arvioidaan olevan noin 10^{14} bakteeria ^{33,34}. Paksusuolen mikrobit ovat tiiviissä vuorovaikutuksessa immuunijärjestelmän ³⁵, hermoston ja endokriinisen järjestelmän kanssa ³⁶. Ne osallistuvat lyhytketjuisten rasvahappojen (SCFA) tuotantoon ³⁷ sekä edistävät välttämättömien vitamiinien, B1-, B9-, B12- ja K- vitamiinien synteesiin tarvittavien entsyymien toimintaa.

Mikrobiomi säätelee ja tukee lukuisia elimistön toimintoja sekä sen homeostaasia. Sen on myös ehdotettu välittävän suolisto-kives-akselin (GTA) välityksellä kiveksiin suoliston ja sen mikrobiston vaikutuksia. Tärkeimpiä tekijöitä, jotka liittyvät suoliston mikrobiomin epätasapainon, eli dysbioosin hedelmättömyyteen ovat oksidatiivinen stressi, tulehdus ja hormonitasapainonhäiriöt.

3.1. Normaalifloora

Ihmisen suolisto on pinta-alaltaan elimistön suurimpia kokonaisuuksia, joka on kosketuksissa eksogeenisten tekijöiden, kuten ravinnon, toksiinien, lääkkeiden ja mikrobien kanssa. Siksi sillä on erityinen rooli elimistön ja ympäristön välisenä kanavana.

Vaikka mikrobit liitetään usein infektioihin ja sairauksiin, suolistomikrobisto koostuu pääosin ei-patogeenisista bakteereista, jotka työskentelevät symbioottisessa suhteessa enterosyyttien kanssa, toimien myös osana ravinne- ja lääkemetabolialla, rakenteiden ja suoliston limakerroksen ylläpitoa, immunomodulaatiota ja suojaa patogeneilta. Terveen mikrobiomin floora toimii luonnollisena suojana vieraita mikrobeita vastaan ja muodostaa keskeisen esteen patogeenisten bakteerien kolonisaatiolle suolistossa. ³⁸ Suoliston mikrobit ovat jatkuvassa vuorovaikutuksessa suolen epiteelisolujen kanssa, ja niiden uskotaan vaikuttavan erityisesti limakalvon immuunivasteisiin, joita patogeeniset mikrobit ja bakteerit voivat laukaista. Suolistobakteerien on esitetty olevan suorassa vuorovaikutuksessa Peyerin laikkujen imuunisolujen, intraepiteliaalisten lymfosyyttien sekä lamina propriaan imukudoksen kanssa. ³⁹

Terve mikrobiomi koostuu yli 1000 bakteerilajista, ja sen kommensalistiset, opportunistiset sekä mutualistiset bakteerit ovat homeostaattisessa tasapainossa sekä muun kehon kanssa, että mahdollisten patogeenisten bakteerilajien kanssa. Suoliston normaalibakteeristoon kuuluu pääosin bakteereita *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* ja *Proteobacteria* -pääjaksosta. Yleisimmät suvut on esitetty olevan *Bacteroides*, *Prevotella* ja *Ruminococcus*. ⁴⁰ *Firmicutes*-bakteereihin kuuluvan *Lactobacillaceae* on havaittu olevan ohutsuolen hallitseva bakteerilaji, kun taas

paksusuolen alueella vallitsevat puolestaan anaerobiset bakteerit, kuten *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae* ja *Rikenellaceae*.⁴¹

Bakteereiden määrittelyminen hyödyllisyyden ja haitallisuuden suhteen ei ole yksiselitteistä, sillä symbioottiset bakteeritkin voivat kasvavissa määrin olla haitallisia. Kyseessä on enemmän bakteerien tasapaino kuin yksittäisen bakteerin esiintyvyys. Tutkimukset ovat osoittaneet, että esimerkiksi runsasrasvainen ruokavalio (HFD) voi muuttaa tätä tasapainoa ja sen seurauksena heikentää miehen hedelmällisyyttä muuttamalla kivennäis- ja mikroökosysteemiä ja häiritsemällä spermatogeneesiä^{42,43}. Hao ym. (2022) havaitsivat, että korkearasvainen dieetti voi häiritä suoliston mikrobiston tasapainoa vaikuttamalla suolistomikrobien määrään, ja siten myös kivennäis- ja metabolisiin⁴⁴. Tutkimuksessa havaittiin myös, että ulosteensiirron (FMT) kautta siirtämällä erilaisia mikrobistoa voidaan vaikuttaa suoliston mikrobiomiin ja korjaavasti siirtöön laatuun. Tämä viittaa siihen, että suoliston mikrobiston ja kivennäis- ja metabolisten välillä on yhteys.

3.2. Suoliston ja kivennäis- ja metabolisten välinen yhteys

Pitkään oletettiin miehen lisääntymiselimistön olevan steriili ympäristö ja bakteerien läsnäolo miehen lisääntymiselimistössä on pääosin liitetty infektioihin, kuten epididymiittiin, orkiittiin, prostatiittiin ja uretriittiin. Sittemmin on havaittu, että miehen lisääntymiselimistö sisältää myös normaalitilassa mikrobiyhteisöjä⁴⁵.

Vaikka suolisto ja sukupuolielimistö ovat erillisiä kokonaisuuksia, ne voivat mahdollisesti vaikuttaa toistensa mikrobikoostumukseen ja toimintoihin esimerkiksi immuunijärjestelmän ja hormonien kautta. Suoliston dysbioosi on liitetty spermatogeneesin heikkenemiseen sekä sukupuolielinten mikrobien muodostaman ympäristön muutoksiin muun muassa ylipainon ja diabeteksen kautta^{44,46,47}.

Suoliston ja lisääntymiselimistön välillä olevan yhteyden on esitetty olevan kaksisuuntainen viestintäjärjestelmä, jota kutsutaan suolisto-kives-akseliksi. Kasvava aineisto tukee ajatusta siitä, että suoliston terveydellä on merkittävä rooli lisääntymiselimistön terveydessä⁴⁸. Muutokset suoliston tasapainossa vaikuttavat muun muassa spermatogeneesiin ja miehen lisääntymisterveyteen. Mikrobiomin tasapainon häiriöt voivat johtaa spermatogeneesin ja veri-kivesesteen (BTB) häiriöön¹⁹ sekä laskea siirtöön laadullisia ominaisuuksia, kuten liikkuvuutta⁴⁷.

3.3. Mikrobiomi ja veri-kiveseste

Kiveksissä Sertolin solut muodostavat veri-kivesesteeksi kutsutun fyysisen kokonaisuuden. Esteen muodostaa pääasiassa Sertolin solut ja niiden väliset tiiviit liitokset. Sertolin solujen välissä olevat liitokset koostuvat muun muassa okkludiineista, klaudiineista ja liitosadheesiomolekyyleistä. Zona occludens -proteiinit (ZO) yhdistävät ne solun tukirankaan.¹⁹

Siittiöiden kehitys on riippuvaista BTB:stä, sillä se on olennainen osa sukusolujen kehitystä sekä mikroympäristöä, joka ei ainoastaan säätele aineiden liikettä siementiehyiden luumeniin ja sieltä pois. Se luo optimaalisen mikroympäristön kehittyvien sukusolujen kehitykselle, sekä immunologisen esteen erottaen keholle vieraita antigeenejä sisältävät kypsyvät sukusolut systeemisestä verenkierrosta, niin etteivät ne altistu kehon immuunijärjestelmälle.

Jotta siittiöt kykenevät kehittymään normaalisti, BTB:n tulee säädellä läpäisevyyttään päästämällä epäkypsiä siittiöitä kulkeutumaan sen lävitse. BTB:n säätelymekanismeista tiedetään vielä melko vähän, mutta on osoitettu, että testosteronilla sekä sytokiineilla, kuten muuntuvalla kasvutekijä $\beta 3$:lla (TGF $\beta 3$) ja tuumori nekroositekijä α :lla (TNF α) on vaikutuksia BTB:n eheyden ja läpäisevyyden säätelyssä. Muun muassa Sertolin soluista ja sukusoluista erittyvien TNF α :n ja TGF $\beta 3$:n on havaittu heikentävän BTB:n eheyttä lisäämällä integraalisten proteiinien, kuten okkludiinin, soluliitosten adheesiomolekyylin A:n ja N-kadheriinin endosytoosia, laskemalla Sertolin solujen välisten tiiviiden liitosten ja basaalisolujen määrää sekä häiritsemällä niiden sijoittumista. Niiden havaittiin myös häiritsevän aktiinisäikeiden muodostamaa verkostoa. Testosteronin vuorostaan ehdotettiin lisäävän eksosytoosilla solun sisään otettujen integraalisten proteiinien kierrätystä, kun taas sytokiiniin ehdotettiin indusoivan niiden hajotusta. Palautuvat TGF $\beta 3$:n ja TNF α :n vaikutukset ovat välttämättömiä sukusolujen siirtyessä epiteelin lävitse, mutta mekanismin häiriintyessä se voi vaikuttaa hedelmällisyyttä heikentävästi.⁴⁹⁻⁵¹

Suoliston mikrobiomin on osoitettu olevan yhteydessä BTB:n läpäisevyyteen muun muassa säätelemällä sen solujen välistä adheesiota. Al-Asmakh ym. (2014) havaitsivat tutkimalla patogeenivapaita (SPF) sekä mikrobivapaita (GF) hiiriä, että BTB:n kehitys viivästyi GF hiirillä. He havaitsivat myös vähentynyttä okkludiinin, E-kadheriinin sekä ZO-2:n ilmentymistä BTB:ssä, mikä viittaa siihen, että suolistomikrobiomilla on todennäköisiä vaikutuksia BTB:n läpäisevyyteen.¹⁹

Veri-kiveseste on erityisen herkkä oksidatiiviselle stressille⁵² ja tulehdukselle⁵³. Tulehduksen tai oksidatiivisen stressin seurauksena BTB voi heikentyä, jolloin myös sen suojaava toiminta heikkenee. Tällöin BTB:n sanotaan vuotavan. Vuotava BTB altistaa siittiöt haitallisille aineille ja immuunipuolustukselle⁵⁴.

4. Dysbioosi

Vaikka suolistomikrobisto koostuu pääasiassa ei-patogeenisista bakteereista, tietynlaiset ärsykkeet voivat muuttaa suoliston mikrobiston koostumusta epätasapainoiseen tilaan. Dysbioottisessa mikrobiomissa havaitaan tavallisesti tiettyjen neutraalien- tai patogeenisten bakteerilajien liikakasvustoa, hyödyllisten bakteerien määrän vähenemistä tai yleisen bakteerien monimuotoisuuden hiipumista. Patogeenisten bakteerien suosiminen vaikuttaa negatiivisesti suolistoon, metaboliaan, immuunijärjestelmään ja jopa keskushermostoon ⁵⁵. Muun muassa *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) bakteerien suhteen on havaittu nousevan dysbioottisessa tilassa ⁵⁶. Mikrobiston muutokset altistavat suolistoa entistä voimakkaammin patogeenisten lajien hyökkäyksille esimerkiksi suoliston limakalvon heikentymisen seurauksena.

Suoliston dysbioosin on osoitettu lisäävän suoliston läpäisevyyttä. Tiettyjen bakteerien lisääntyminen, kuten musiinia hajottavan *Ruminococcus torques*-bakteerin määrän lisääntyminen heikentää suoliston limakalvoa ja lisää suolen läpäisevyyttä. Muutokset lisäävät patogeenisten bakteerien kolonisoitumista suoliston limakalvoon sekä tulehdusta suolistossa. ⁵⁷ Lisäksi suolen kasvanut läpäisevyys päästää herkemmin lävitseen verenkiertoon haitallisia aineita, endotoksiineita sekä mahdollisesti myös bakteereita ⁵⁸.

4.1. Mikrobit

Siittiöiden liikkuvuus ja morfologia määrittelevät diagnostisesti siittiön kykyä hedelmöittää munasolu. On osoitettu, että suolistomikrobiomin koostumus vaikuttaa siittiön morfologiaan ja liikkuvuuteen. Spesifejä bakteerilajeja on yhdistetty mikrobiomin tasapainon ja lisääntymisterveyden parantumiseen. Osan bakteereista on havaittu korreloivan positiivisesti siittiöiden laadun kanssa, kun taas toisten määrän on havaittu kasvavan siittiöiden laadun heikentyessä. Esimerkiksi kun *Pseudomonas* esiintyy siemennesteessä, sen on havaittu vaikuttavan hedelmällisyyteen haitallisesti, kun taas *Lactobacillus*-bakteerit korreloivat positiivisesti siittiöiden laadun kanssa. *Lactobacillus*-bakteerilla saattaa olla myös vaikutuksia *Pseudomonas*-bakteerien haitallisuuden hillitsemisessä. ⁵⁹ Hao ym. (2023) osoittivat meta-analyysissään ammoniakkin ja rikkivedyn vaikuttavan haitallisesti miehen hedelmällisyyteen suolistomikrobiston kautta. Ammoniakki ja rikkivety vähensivät hyödyllisen *Lactobacillus*-bakteerin määrää sekä nostivat hedelmällisyyden laskuun liitetyn

Bacteroides-bakteerien määrää. ⁶⁰ On havaittu, että *Bacteroides* ja *Prevotella* korreloi siittiön liikkuvuuden kanssa negatiivisesti ⁴³. *Bacteroides*-bakteerien on myös havaittu korreloivan voimakkaasti veren endotoksiinien kanssa ⁴³. Endotoksiinit, kuten lipopolysakkaridit (LPS) lisäävät suoliston tulehdustilaa ⁶¹. LPS:n vaikutuksia hedelmällisyyteen käsitellään tarkemmin kappaleessa 4.2.1.

Haitallisten bakteerien vaikutusten lisäksi monilla bakteerilajeilla on havaittu myös positiivisia vaikutuksia. Erityisesti probioottisten bakteerien, kuten *Lactobacillus* ja *Bifidobacterium* on osoitettu korreloivan hedelmällisyyttä kohentavien ja suojaavien vaikutusten kanssa. *Lactobacillus*- ja *Bifidobacterium*-bakteerien vaikutukset hedelmällisyyteen ilmenee pääasiallisesti niiden tulehdusta vähentävien ja antioksidanttisten ominaisuuksien kautta, sillä ne kykenevät vähentämään oksidatiivista stressiä ja suojaamaan siittiöitä DNA vaurioilta. ⁶²

Lactobacillus on gram-positiivinen, fakultatiivisesti anaerobinen bakteeri, joka kuuluu *Firmicutes* -heimoon. *Lactobacillus*-bakteerit osallistuvat hiilihydraattien aineenvaihduntaan, laktaatin tuotantoon sekä suoliston limakalvon tukemiseen ja immunomodulaatioon. *Lactobacillus*- sekä *Bifidobacterium*-sukujen alalajien on osoitettu vaikuttavan positiivisesti erilaisiin hedelmällisyyttä mittaaviin siittiön laadun tekijöihin. Alalajien on ehdotettu vaikuttavan siittiöiden liikkuvuuteen, H₂O₂-tasojen laskuun, ejakulaatiovolyymiin, siittiöiden määrään ja konsentraatioon, gonadotropiiniin ja testosteronin tasoihin sekä antioksidanttisen kapasiteetin kasvuun ⁶². Lisäksi *Lactobacillus*-bakteerien on osoitettu vähentävän tulehdusta lisäävien sytokiinien, kuten tuumorinekroositekijä α :n (TNF α) ilmentymistä sekä lisäävän tulehdusta hillitsevien sytokiinien, kuten interleukiini 10:n (IL-10) tuotantoa ⁶³.

4.2. Tulehdus ja immunitetti

Suolistomikrobiomilla on havaittu olevan merkittävä vaikutus immuunijärjestelmän ylläpidossa tulehdusta hillitsevien ja lisäävien vasteiden kautta. Suoliston dysbioosi voimistaa tulehdusta lisäävien tekijöiden liikatuotantoa. Tulehdusta lisäävien bakteerien määrän kasvaessa suolistossa, suoliston limakerros voi vaurioitua, johtaen suoliston läpäisevyyden kasvuun. Tämä saa aikaan bakteerimetaboliittien pääsyn verenkiertoon aiheuttaen tulehdusta lisäävien tekijöiden tuottoa sekä immuunireaktion käynnistymisen. ^{64,65}

Tulehdusta lisääviä tekijöitä ovat muun muassa IL-6 ja TNF α . Tulehdusta edistävät inflammatoriset sytokiinit lisäävät verisuonten läpäisevyyttä, kutsuvat paikalle immuunisoluja ja lisäävät niiden

jakautumista. Ne käynnistävät ja ylläpitävät tulehdustilaa. Pitkittänyt tulehdustila voi heikentää BTB:n eheyttä ¹⁹ altistaen siittiöt haitallisille yhdisteille sekä immuunijärjestelmälle. Tulehdus voi vaurioittaa myös suoraan lisääntymiselimistön kudoksia aiheuttamalla samalla oksidatiivista stressiä, vaurioita sukusoluihin ja kudoksiin, lopulta heikentäen siittiöiden toimintaa. Tulehdus vaurioittaa kiveksiä etenkin silloin, kun se on pitkittänyt tai kroonista. Tällöin spermatogeneesiä ylläpitävät kudoksen Leydigin ja Sertolin solut voivat kärsiä ja altistua DNA vaurioille, proteiini- ja lipidiperoksidaatiolle tai mitokondrioiden vaurioille, mikä johtaa Sertolin ja Leydigin solujen toiminnan ja sukusolun morfologian häiriöihin. Tulehduksen soluvaurioista ovat vastuussa pääasiallisesti tulehdusta lisäävät tekijät, sytokiinit, kemokiinit sekä reaktiiviset happiradikaalit (ROS), joita immuunisolut, kuten makrofagit, T-lymfosyytit ja syöttösolut voivat tuottaa. Stressi ja tulehdustiloissa ROS tuottavia soluja ovat myös kudosspesifiset solut, kuten Sertolin solut, Leydigin solut, tiheyttä ympäröivät peritubulaariset solut sekä sukusolut. ⁶⁶

Kiveksillä on paikallisia leukosyyttejä sekä makrofageja, jotka suojaavat kivesten kudoksia ja sukusoluja. Ne aktivoituvat paikallisesta immuunivasteesta vaurion, infektion tai inflammaation seurauksena. Samalla erittyy leukotaktisia tekijöitä, jotka kutsuvat paikalle neutrofiilejä. ⁶⁷ Solujen tehtävänä on suojata kiveksiä vauriolta ja infektiolta, mutta pitkittyneessä tulehduksessa ne voivat aiheuttaa myös vaurioita. Vaurio tyypillisesti johtuu liiallisesta ROS tuotannosta ⁶⁶. Vapaisiin happiradikaaleihin ja oksidatiivisen stressin vaikutuksiin palataan kappaleessa 4.3.

4.2.1. Endotoksiinit

Suoliston limakalvo toimii valikoivasti läpäisevänä esteenä, joka säätelee aineiden läpipääsyä päästäen lävitseen valikoivasti muun muassa ravinteita ja immuunipuolustuksen soluja estäen kuitenkin haitallisten antigeenien ja mikrobien pääsyä lävitseen. ^{63,64} Mikäli dysbioosi heikentää suoliston limakalvoa bakteerimetaboliitteja ja lipopolysakkarideja voi päästä systeemiseen verenkiertoon. Bakteerien tuottamien endotoksiinien on havaittu olevan merkittävä tekijä suolistomikrobiomin epätasapainosta johtuvassa spermatogeenin heikkenemisessä. *Bacterioides* liitännäisten endotoksiinien määrän kasvaessa on havaittu makrofagien ja T-solujen määrän kasvua suolistossa sekä merkittävää tulehdusta lisäävien sytokiinien määrän kasvua lisäkiveksessä. Ding ym. (2019) tutkimuksessa tämä on yhdistetty siittiöiden alentuneeseen liikkuvuuteen, mikä viittaa siihen, että endotoksiineilla on vaikutuksia siittiöiden liikkuvuuden heikkenemiseen lisäkiveksen tulehduksen kautta. ⁴³ Endotoksiinien on myös muissa tutkimuksissa havaittu aiheuttavan tulehdusta

lisäkiveksessä ja vaikuttavan siittiön liikkuvuuteen ⁶⁸. On kuitenkin mahdollista, että endotoksiinit voivat aiheuttaa tulehdusta kiveksessä myös systeemisen inflammaation kautta ⁶⁹.

Endotoksiinit voivat aiheuttaa tulehdusta suolistossa esimerkiksi TLR4 välitteisesti. ^{61,43} Etenkin gramnegatiivisten bakteerien ulkokalvolla oleviin rasvan ja hiilihydraatin muodostamiin LPS:ien määrän on näytetty korreloivan seerumin testosteronin laskun, siittiöiden liikkuvuuden ja spermatogeneesin heikkenemisen, steroidogeneesin ja BTB:n säätelyyn osallistuvien geenin ilmenemistasojen laskun, sekä kivesten antioksidanttisten entsyymien määrän vähenemisen kanssa ^{70,71,72}. LPS kuuluu mikrobiperäisiin molekyyli-merkkiaineisiin (MAMP), jotka voivat kulkeutua siemenjohtimen ja kivesten valtimoiden kautta kiveksiin aiheuttaen siellä vaurioita. MAMP:it voivat aktivoida kuviontunnistusreseptoreja immuunisolussa ja aiheuttaa tulehdusta kiveksissä. ⁷³ Kuten kappaleessa 4.1. mainittiin, LPS:n aktivoimien TLR4-reseptoreiden aktivaatio johtaa tulehdusta lisäävien sytokiinien, kuten TNF α :n erittymiseen. Normaalitilassa TNF α osallistuu spermatogeneesin säätelyyn, mutta tulehdustila ja korkeat TNF α :n pitoisuudet saattavat vaikuttaa inhiboivasti steroidogeneesiin, ja siten myös kivesten normaaliin toimintaan ⁶⁸. Kivekset ja spermatogeneesi ovat herkkiä LPS:n tulehduksen aiheuttamalle akuutille stressille ^{68,70}. Myös lisäkiveksen caput ja caudan alueiden on havaittu kärsivän LPS:n vaikutuksista. Wang ym. (2018) havaitsivat LPS-injektion aiheuttavan immuunisolujen kertymistä lisäkiveksen caudaan ja corpusukseen, sukusolujen apoptoosia, sekä fibroosin aiheuttamaa uudelleenmuovautumista caudan alueella. Kokeessa tulehdusta lisäävien sytokiinien pitoisuudet nousivat seerumissa neljä tuntia LPS-injektion jälkeen. Koska kokeessa havaittiin testosteronitasojen laskevan, TNF α :n, IL6:n ja IL1:n ehdotettiin inhiboivan testosteronituotantoa. ⁶⁸ LPS:n on ehdotettu myös vaikuttavan gonadotropiinivasteen heikkenemiseen ⁷⁴.

4.2.2. Siittiö vasta-aineet (ASA)

Immuunijärjestelmä on kehittynyt jo varhaisessa yksilönkehityksessä tunnistamaan elimistön omia rakenteita immuunipuolustuksen ulkopuolisiksi. Siittiöt kehittyvät vasta murrosiässä, jonka takia ihmisen immuunijärjestelmä ei tunnista niitä elimistön omiksi soluikseen. BTB suojaaa siittiöitä joutumasta kontaktiin immuunipuolustuksen kanssa. Ilman BTB:tä siittiöt joutuvat immuunijärjestelmän hyökkäyksen kohteeksi. Mikäli BTB on vaurioitunut tai sen läpäisevyys on kasvanut, immuunijärjestelmä voi alkaa tuottamaan siittiön vasta-aineita (ASA), jotka voivat päästä kontaktiin siittiöiden kanssa.

ASA:t ovat immunoglobuliineja, jotka hyökkäävät siittiön pinnalla olevia antigeeneja vastaan ⁷⁵. Ne laskevat hedelmällisyyttä heikentämällä siittiöiden liikkuvuutta ja hedelmöittämiskykyä, sekä aiheuttaen siittiöiden agglutinaatiota, eli yhteen takertumista ⁷⁶. Suoliston ja kivesten välisen yhteyden kautta tuleva oksidatiivinen stressi, hormonitasapainon häiriöt, tulehdus, erilaiset ympäristömyrkyt ja toksiinit voivat aiheuttaa BTB:n vaurioitumista altistaen siittiöt vasta-aineille.

4.3. Oksidatiivinen stressi

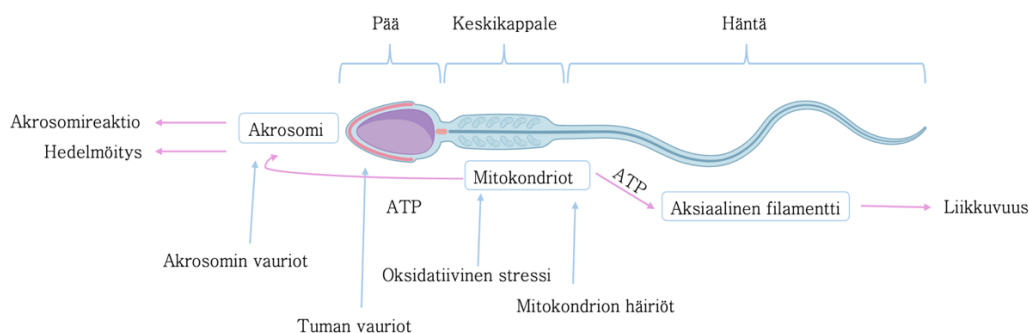
Happiradikaaleilla tarkoitetaan hapen pelkistymisestä syntyvien reaktiivisten välituotteiden muodostumista. Niitä voi syntyä esimerkiksi solun aineenvaihdunnan tuotteena endogeenisesti, tai eksogeenisesti johtuen ulkoisista tekijöistä, kuten säteily, saasteet ja tulehdukset. Vaikka happiradikaalien muodostuminen mielletään pääosin haitalliseksi, niillä on myös välttämättömiä funktioita solun normaalille toiminnalle. Happiradikaalit ovat mukana muun muassa solusignaloinnissa, geenien ilmentymisen säätelyssä ja immuunipuolustuksessa. Tällöin puhutaan fysiologisesta happiradikaalien tuotannosta, joka on säädeltyä ja tasapainossa. Mikäli happiradikaalien määrä lisääntyy liiallisesti tai niiden säätely heikkenee, elimistö kuormittuu patofysiologisista radikaaleista. Tämä voi johtaa antioksidanttien ja elimistön vapaiden radikaalien epätasapainoiseen tilaan, eli oksidatiiviseen stressiin (OS). Oksidatiivinen stressi tuottaa hapen reaktiivisia yhdisteitä, jotka voivat toimia sekundäärinä viestiaineina ja aktivoida NF- κ B-transkriptiofaktorina sekä mitogeneeni-aktivoituvaa proteiinikinaasireittiä (MAPK), mikä puolestaan indusoi inflammasomin aktivaatiota ja muovaa TLR-välitteisiä vasteita. Nämä muutokset voivat johtaa lisääntyneeseen tulehdusta lisäävien sytokiinin tuotantoon vahvistaen oksidatiivisen stressin ja tulehduksen välistä itseään vahvistavaa kierrettä ⁶⁶. Tämä altistaa solut, lipidirakenteet, DNA:n ja proteiinit happiradikaalien vaurioille ^{74,77}.

Suolistomikrobiomin on havaittu vaikuttavan oksidatiivisen stressin säätelyyn sekä antioksidanttitasoihin. Dysbioosin seurauksena suoliston mikrobiomin tasapaino häiriintyy ja saattaa laukaista kasvaneen ROS tuotannon, mikä voi vuorostaan johtaa inflammaatioon, DNA-vaurioihin, immuuniaktivaatioon ja epigeneettisiin muutoksiin metabolisten signalointireittien geneeissä. Lisäksi suoliston dysbioosi häiritsee antioksidanttisten puolustusjärjestelmien tasapainoa aiheuttaen kierrettä, joka vahvistaa dysbioosia entisestään. ⁶⁵ Dysbioosin aiheuttama oksidatiivinen stressi ja reaktiiviset happiradikaalit voivat aktivoida immuunisoluja ja johtaa tulehdussolujen infiltraatioon. Tulehdussolut voivat kulkeutua systeemisen verenkierroksen kautta kiveksiin ja aiheuttaa vauriota kudoksissa muun muassa yllä mainitulla itseään vahvistavalla mekanismilla ⁷⁸. Tulehdus voi myös

tulehdusta edistävien sytokiinien (TNF α , IL-1b, IL-6, IL-8 ja IFN γ) kautta stimuloida ROS tuotantoa aktivoimalla NADPH oksidaasia immuunisoluissa, siittiöissä ja somaattisissa soluissa ⁶⁶.

Oksidatiivinen stressi voi heikentää siittiöiden laatua ja toimintaa, vaikuttamalla mitokondrioiden toimintaan, siittiöiden liikkuvuuteen ja kykyyn hedelmöittää munasolu. Siittiöt ovat alttiita vapaiden happiradikaalien aiheuttamalle lipidiperoksidaatiolle, sillä ne sisältävät runsaasti monityydyttymättömiä rasvahappoja (PUFA) ja vain vähän soluliman entsyymikoneistoja, jotka korjaisivat oksidatiivisen stressin aiheuttamia vaurioita. ⁷⁹

Siittiöiden mitokondriot ovat myös erityisen herkkiä vapaiden happiradikaalien liialliselle tuotannolle. Mitokondrioiden eheys korreloi suoraan siittiön terveen toiminnan kanssa. Mitokondrion toiminnan on osoitettu vaikuttavan siittiöiden elinkelpoisuuteen, akrosomireaktioihin, liikkuvuuteen ja ATP:n tuotantoon. ⁸⁰ Tarkat mekanismit oksidatiivisen stressin aiheuttamalle siittiöiden liikkuvuuden heikkenemiselle ovat vielä epäselviä, mutta niiden on ehdotettu liittyvän ATP:n määrän vähenemiseen ja siittiön hännän sekä sen liikettä tuottavan aksiaalisen filamentin toiminnan häiriöihin (Kuva 1.) ⁶².



Created in BioRender.com

Kuva 1. Siittiön rakenne sekä oksidatiivisen stressin ja vaurioiden mekanismeja siittiössä. Mukaillen Tesarik ym. (2025) ⁸¹.

4.4. Hormonaalinen säätely

Miehen hedelmällisyyteen liittyy monimutkaista hormonien yhteistoimintaa. Hormonien tasapainolla on erityinen merkitys osana miehen lisääntymiselimistön terveyttä ja hedelmällisyyttä. Häiriöt hormonien tasapainossa voivat johtaa erilaisiin siittiöiden häiriöihin ⁸².

Ghasemian ym. (2017) havaitsivat hormonitasapainon vaikuttavan siittiöiden parametreihin. Follikkelia stimuloivan hormonin (FSH) ja luteinisoivan hormonin (LH) pitoisuuden nousun havaittiin heikentävän siittiön liikkuvuutta ja lisäävän siittiöiden määrää, epänormaalia morfologiaa, akrosomin häiriöitä, sekä siittiöiden kromatiinin vaurioita. Myös testosteronin pitoisuuden nousun havaittiin lisäävän siittiöiden epänormaalia morfologiaa ja kromatiinin vaurioita, mutta toisaalta lisäävän liikkuvuutta. ¹⁰

Sukusolujen kehitys ja spermatogeneesi ovat riippuvaisia hormonien vaikutuksista. Etenkin gonadotropiineista, LH ja FSH, sekä testosteronista. Suolistomikrobiomin on ehdotettu vaikuttavan hypotalamus-sukupuolirauhas-akselin toimintaan merkittävästi. HPG on tärkeässä roolissa gonadotropiiniin, sekä viime kädessä myös testosteronin tuotannossa. Testosteroni on suoraan liitännäinen miehen hedelmällisyyteen. HPG:n hormonit ovat välttämättömiä spermatogeesin sekä siittiön toiminnan ylläpidossa. Hypotalamus erittää gonadotropiineita vapauttavaa hormonia (GnRH), joka vuorostaan stimuloi LH:n ja FSH:n eritystä. LH:n vaikutukset näkyvät pääasiassa kivesten Leydigin soluissa, jotka tuottavat syklistä adenosinimonofosfaattia (cAMP) adenylylysyklaasin välityksellä. Proteiinikinaasi A (PKA) aktivoituu ja edistää testosteronin tuotantoa. FSH vuorostaan vaikuttaa spermatogeesiin androgeenien kanssa Sertolin solujen kautta. ⁸³

Suolistomikrobiomin vaikutukset HPG:n toimintaan ovat vielä epäselviä. Kuitenkin suoliston LPS:n vaikutukset gonadotropiineihin antavat viitteitä dysbioosin vaikutuksista HPG:n toimintaan. Shen ym. (2022) tutkivat LPS:n vaikutuksia kivesten toimintaan. He havaitsivat, että LPS sai aikaan hiirillä voimakkaampaa mediaalisen preoptisen alueen (mPOA) aktivaatiota hypotalamuksessa. mPOAn aktiivisuuteen liittyy FSH:n ja LH:n pitoisuuksien kohoamista verenkierrassa. Tämä antaa viitteitä siitä, että suolistosta päässeet LPS:t voivat häiritä HPG akselin toimintaa. ^{70,19}.

4.4.1. SCFA:t

Lyhytketjuisten rasvahappojen on osoitettu olevan vuorovaikutuksessa hormonaalisen säätelyn kanssa. Suolistomikrobit, etenkin *Firmicutes* ja *Bacteroidetes* -pääjakson bakteerit tuottavat hiilihydraattien fermentaation tuloksena lyhytketjuisia rasvahappoja, kuten propionaatti, asetaatti ja butyraatti ⁸⁴. Niillä on tärkeitä tehtäviä muun muassa suoliston pH:n säätelyssä, antioksidanttisessa toiminnassa sekä patogeenisten bakteerien torjunnassa ³⁷. Korkeat luminaaliset SCFA konsentraatiot voivat estää haitallisten bakteerien kasvua suolistossa ⁸⁴. Propionaatin on osoitettu olevan tärkeä glukoneogeesissä, asetaatin lipogeesissä ja butyraatin membraanien rakenteen ylläpidossa ^{37,85}.

SCFA:t, erityisesti propionaatti ja butyraatti säätelevät immunologisia vasteita sekä suoliston toimintoja ⁸⁴.

SCFA:illa on osoitettu olevan vaikutuksia myös hormonitasapainon ylläpidossa HPG:n välityksellä. Butyraatin on osoitettu vaikuttavan BTB:n eheyden ¹⁹ ja LH sekä FSH tasojen muutokseen ^{86,87}. Tämä viitteitä siihen, että butyraatilla on todennäköisesti vaikutuksia myös testosteronin tasojen vaihteluissa ja sen myötä myös spermatogeneesissä.

Suoliston SCFA:iden on osoitettu myös lieventävän TNF α indusoituvaa oksidatiivista stressiä antioksidanttisen toiminnan kautta. Tämä on merkittävää, sillä oksidatiivinen stressi sekä suoliston inflammaatio vaurioittaa kudoksia. ⁸⁸ Kuten kappaleessa 4.2 käsiteltiin, suoliston limakalvon läpäisevyys voi kasvaa inflammaation ja oksidatiivisen stressin seurauksena, jolloin endotoksiineita ja muita haitallisia aineita pääsee helpommin sen lävitse ja aiheuttaa systeemisen tulehduksen kautta vaurioita muualla elimistössä, kuten kiveksissä.

5.Hoidot

Avustettuja hedelmöityshoitoja (ART) hyödyntävät yhä useammat parit. Mikroinjektio (ICSI), jossa miehen sukusolu injisoidaan suoraan munasoluun on vakiintunut osa koeputkihedelmöitystä (IVF). ICSI:ä hyödynnetään etenkin silloin, kun miehen siemennesteen laadulliset ominaisuudet ovat huonot tai kyseessä on idiopaattinen hedelmättömyys miehen puolelta. ⁸⁹ ICSI ei kuitenkaan poista miesten kasvavan hedelmättömyyden juurisyitä ja siitä puhutaankin joskus kaksiteräisenä hoitomenetelmänä. ICSI on pääasiallinen hoitomenetelmä miehen hedelmättömyyteen ja siksi se ohittaa miehen pääasiallisen hedelmättömyyden aiheuttajan hoidon. Se on hoitomenetelmänä hyvin kallis, ja sen on epäilty joissain tapauksissa vahingoittavan munasolua häiriten sen sisäisiä rakenteita. On kiistanalaista voiko ICSI olla yhteydessä myös lisääntyneeseen alkion kromosomipoikkeavuuksien riskiin. ⁹⁰ Huolta on erityisesti herättänyt siittiön huonon laadun mukana tuomat mahdolliset komplikaatiot jälkeläisille. Vaikka ICSI on tehokas hedelmöityshoito, on tärkeää kiinnittää hedelmättömyyden hoidossa huomiota miesten hedelmättömyyden aiheuttajiin.

Siittiöiden laadullisten ominaisuuksien arvioiminen onkin keskeinen osa miehen hedelmättömyyden tutkimusta sekä mahdollisten hoitojen suunnittelua. WHO:n 2021 kuudennen painoksen mukaan siemennesteen laadun määrittely perustuu muun muassa siittiöiden makroskooppiseen ja mikroskooppiseen tutkimukseen. Makroskooppisessa tutkimuksessa seurataan siemennesteen

nesteytymistä, viskositeettiä, pH:ta ja tilavuutta. Mikroskooppisessa analyysissä keskitytään enemmän siittiöiden liikkuvuuden, konsentraation, vitaliteetin, määrän ja morfologian tarkasteluun (Taulukko 1.)⁹¹

Taulukko 2. WHO:n 2021 siittiön laadullisten ominaisuuksien viitearvojen alarajat mukailten Chung ym. (2023)⁹².

Parametri	Viitearvon alaraja
Siemennesteen tilavuus (ml)	≥1.4
Siittiöiden määrä	≥39 miljoonaa
Liikkuvuus	≥42%
Vitaliteetti	≥54%
Morfologia	≥4%
pH	≥7.2

Laskevan hedelmällisyyden ohella on alettu kiinnittää yhä enemmän huomiota keinoihin ja mahdollisiin hoitomuotoihin, joilla siittiöiden määrää, liikkuvuutta ja hedelmöityskykyä olisi mahdollista parantaa. Ulosteen siirto (FMT), probiootit, antioksidantit, elämäntavat ja lääkitysten vaikutukset ovat olleet pääasiallisessa huomiossa.

5.1. Probiootit, ulosteensiirto ja antioksidantit

Probiootit, kuten *Lactobacillus* ja *Bifidobacterium* voivat epäsuorasti vaikuttaa lisääntymiselimistön mikrobiomiin immuunijärjestelmää säätelemällä ja syrjäyttäen patogeenisiä bakteereita kilpailemalla epiteliaalisesta soluadheesiosta, ravinteista ja prebioottisista tuotteista, sekä tuottamalla antimikrobiaalisia tuotteita. Probiootit myös suojaavat suolen limakalvoa ja tulehdusta lisääviä ja hillitseviä vasteita.³⁹ Niillä on potentiaalisia antioksidanttisia vaikutuksia, joiden avulla ne vähentävät reaktiivisten happiradikaalien aiheuttamaa oksidatiivista kuormaa. Niiden on todettu kelatoivan metalli-ioneja, vaikuttavan suoliston mikrobiomin signaalintireitteihin, tuottavan antioksidanttisia yhdisteitä sekä säätelevän näiden yhdisteiden ja ROS tuottavien entsyymien toimintaa⁹³. Tutkimukset ovat osoittaneet, että probiooteilla on pystytty lisäämään siittiöiden liikkuvuutta, konsentraatiota, morfologiaa, tilavuutta ja määrää⁶². Maretti ja Cavallini ym. (2017) havaitsivat myös, että probiootit voivat nostaa siittiöiden tuotannolle ja lisääntymisterveydelle kriittisiä FSH-, LH- ja testosteronitasoja⁹⁴.

Myös FMT on viimeaikoina saanut erityistä huomiota mahdollisena tulevaisuuden hoitomenetelmänä monenlaisiin suolistoperäisiin sairauksiin, kuten ärtyvän suolen oireyhtymään (IBS) ja tulehduksellisiin suolistosairauksiin (IBD)³⁸. FMT:n on ehdotettu myös vaikuttavan positiivisesti suoliston mikrobiomin kautta miehen hedelmällisyyteen. FMT:n vaikutukset ovat suoria suoliston ja mikrobiomin kanssa, mutta sen epäsuorat vaikutukset voivat näkyä siittiöissä. Sen tarkoituksena on palauttaa suoliston tasapainoinen bakteerikanta. Hiirillä tehdyissä tutkimuksissa on havaittu, että alginaattioligosakkarideja (AOS) sisältävällä FMT:llä saatiin kohennettua siittiöiden pitoisuutta, liikkuvuutta sekä raskauden mahdollisuutta parantamalla veren ja kiven aineenvaihdunnan ja metaboliittien tasapainoa⁴⁴.

Tutkimukset ovat osoittaneet antioksidanttien vaikuttavan siittiöiden laadullisiin ominaisuuksiin. Kypsät siittiöt kantavat vain vähän endogeenisiä antioksidanttisia puolustusmekanismeja, sillä ne eivät kykene translaatioon. Tämän takia ne ovat spermatogeneesin aikana riippuvaisia ulkoisista antioksidanteista tuottavista entsyymeistä, kuten glutationiperoksidaaseista (GPX) ja peroksidiineista (PRDX).⁷⁹ Etenkin GPX4 esiintyy kiveksissä, ja sen puutteen on osoitettu aiheuttavan poistogeenisen hiiren avulla hedelmättömyyttä, johtuen pääosin siittiön laadullisten ominaisuuksien, kuten liikkuvuuden ja keskikappaleen rakenteellisista poikkeavuuksista⁹⁵.

Antioksidanttilisiä on mietitty tueksi erityisesti kiveslaskimolaajentumaan ja idiopaattiseen hedelmättömyyteen⁹⁶. Antioksidanttien on tiedetty jo pitkään suojelevan siittiöitä vapaiden happiradikaalien vaikutuksilta ja onkin huomattu, että potilailla, joilla on heikentynyt siittiöiden liikkuvuus on usein myös alentuneet siemennesteen antioksidanttitasot^{79,97}. Antioksidanttien, kuten askorbiinihapon (C-vitamiini), katalaasin, peroksidaasin, tokoferolin (E-vitamiini), lykopenin ja karnitiinin on ehdotettu neutraloivan vapaita radikaaleja. Kun taas esimerkiksi NAC:n ja seleenin on ehdotettu tukevan antioksidanttien aktiivisuutta.⁹⁸ Erilaisten antioksidanttien on näytetty parantavan siittiön liikkuvuutta, konsentraatiota ja morfologiaa⁹⁹.

5.2. Elämäntavat

Samalla kun tieto suoliston mikrobiomin vaikutuksen merkityksestä lisääntymiselimistöön ja terveyteen kasvaa, myös ravinteiden suolistoterveyden merkitys hedelmällisyyteen lisääntyy. Muutokset mikrobiomin koostumuksessa ja sen aineenvaihduntatuotteissa ovat yhteydessä ruokavalioon⁷³. Esimerkiksi länsimaalainen ruokavalio on liitetty dysbioosiin, heikentyneeseen suolen limakerrokseen sekä lisääntyneeseen suolen seinämän läpäisevyyteen⁵⁷. Kuten kappaleessa

4.2.1 kuvattiin, suoliston kasvanut läpäisevyys voi lisätä hedelmällisyydelle haitallista tulehdusta kiveksissä.

Länsimaalainen ruokavalio on usein korkearasvaista, sisältää paljon prosessoitua sokeria ja vain vähän kuituja. Tällaisen ruokavalion on havaittu nostavan bakteerien, kuten *Firmicutes*, *Ppoteobacteria*, *Mollicutes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae*, *Bilophila spp.*, *Bacteroides spp.* ja *Alistipes spp.* määrää. Se laskee samalla hyödyllisten bakteerien, kuten *Bacteroidetes*, *Prevotella*, *Lactobacillus spp.*, *Roseburia spp.*, *E.rectale*, *Bifidobacterium bifidum* ja *Enterococcus* määrää johtaen alentuneeseen SCFA:n tuotantoon. Länsimaalaisen ruokavalion on myös havaittu nostavan LPS:n sekä inflammatoristen sytokiinien määrää elimistössä.¹⁰⁰ Tämä on merkityksellistä, sillä tutkimuksissa on voitu osoittaa, että tiettyjen bakteerien, kuten *Prevotella*- ja *Bacteroides*- sukujen lisääntyminen on yhteydessä paikalliseen tulehdukseen ja siittiön liikkuvuuden sekä spermatogeneesiin häiriöihin⁴³.

Ruokavaliolla voi vaikuttaa myös positiivisesti hedelmällisyyteen. Tutkimukset ovat osoittaneet, että etenkin kuitupitoisella ruokavaliolla on positiivisia vaikutuksia siemennesteen laadullisiin ominaisuuksiin (taulukko 1.). Sillä on osoitettu olevan esimerkiksi testosteronin määrää nostavia vaikutuksia¹⁰¹. Pascual ym. (2016) havaitsivat kaneilla suoritetussa tutkimuksessa kuidun vaikuttavan siemennesteen laatuun positiivisesti¹⁰². Kuitupitoisella ruokavaliolla on voimakas vaikutus suoliston mikrobiston koostumukseen. Sen on osoitettu lisäävän hyödyllisten bakteerien, kuten *Bifidobacterium* ja *Lactobacillus* määrää^{103,104}. Myös Hermes ym. (2008) havaitsi eläinmallein, että korkea kuitupitoisuus ruokavaliossa voi lisätä SCFA:ita, vähentää haitallisten bakteereiden, kuten *Escherichia coli* määrää ulosteessa, laskea tulehdusmerkkiaineiden määrää veressä ja tulehdussoluja paksusuoleessa. Kuitupitoisen ruokavalion havaittiin lisäävän myös limaa erittävien solujen määrää suolistossa.¹⁰⁵

Suoliston mikrobeilla voidaan potentiaalisesti vaikuttaa myös BTB:n eheyteen. Butyraattia tuottavan *Clostridium Tyrobutyricum* -bakteerin on myös osoitettu korjaavan BTB:n eheyttä ja normalisoivan soluadheesioproteiinien määrää¹⁹.

Ruokavalion ohella myös lääkkeillä on merkittävä vaikutus suoliston mikrobiston koostumukseen. Lääkkeiden uskotaan olevan kaksisuuntaisessa vaikutuksessa suolistomikrobiomin kanssa. Mikrobiomin koostumus voi muuttua isännän vastetta lääkkeelle entsyymisten vaikutuksesta. Esimerkiksi lääkkeen rakenne voi muuttua vaikuttaen sen biologiseen aktiivisuuteen, toksisuuteen ja biologiseen hyötyosuuteen.¹⁰⁶ Lääkitys voi myös muuttaa mikrobiomin koostumusta epäedulliseen suuntaan esimerkiksi vähentämällä hyödyllisten mikrobien määrää, mikä lisää dybioosia ja

infektioriskiä. Bakteerien kasvua ja lisääntymistä estävien antibioottien on havaittu nostavan riskiä lipopolysakkarideja tuottavien gram-negatiivisten bakteerien kasvuun¹⁰⁷.

6. Yhteenveto ja johtopäätökset

Idiopaattisen hedelmättömyyden mekanismeja ei vielä tiedetä, mutta suolistomikrobiomilla on todennäköisesti siihen merkittävä vaikutus. Suoliston vaikutuksista miehen hedelmällisyyteen on saatavilla melko vähän informaatiota ja moni tekijä siihen liittyen, kuten suolisto-kives-akseli sekä sen kaksisuuntaisuus on vielä jokseenkin kiistelty aihe.

Suolistomikrobiomi on monimuotoinen kokonaisuus bakteereita, joista suurin osa on kommensalistisessa suhteessa isäntäelimestön kanssa. Erilaiset ulkoiset ja sisäiset ärsykkeet, kuten ravinto, elämänravat, lääkitykset, toksiinit ja ympäristömyrkyt voivat muuttaa suoliston mikrobiston koostumusta. Esimerkiksi *Firmicutes/Bacteroidetes* -bakteerien suhdetta. Tällaiset muutokset voivat horjuttaa suolistoa epätasapainoon.

Epätasapainoinen suolisto on alttiimpi toksiineille, hormonihäiriöille ja tulehdukselle. Lisäksi dysbioottinen suolisto voi heikentää suoliston limakalvoa ja johtaa bakteerimetaboliitteja ja endotoksiineja läpäisevään suoleen. Näiden tekijöiden on havaittu vaikuttavan myös lisääntymiselimistöön, erityisesti siittiön laadullisiin ominaisuuksiin, hormonitasapainoon sekä kivesten tulehdukseen. Pitkäaikainen tulehdus vaurioittaa lisääntymiselimistöön herkkiä rakenteita, kuten BTB:tä sekä heikentää siittiöiden hedelmöittämiskykyä, hormonien tuottoa ja spermatogeneesiä.

Tulehdusta on tutkittu jo pitkään. Eikä ole yllättävää, että sillä on merkitystä miehen hedelmällisyydessä suoraan kiveksen tulehdustilojen ja mahdollisesti myös suoliston tulehduksen kautta. Suuri osa eksogeenisistä tekijöistä vaikuttaa suolistomikrobiomin kautta siittiön laadullisten ominaisuuksien heikkenemiseen, BTB:n vaurioon ja hedelmällisyyteen viimekädessä tulehduksen tai oksidatiivisen stressin välityksellä. Tällöin myös suuri osa mahdollisista siittiön laadullisiin ominaisuuksiin kohdistuvista hoidoista ja elämäntavoista voidaan suunnata tulehduksen ja oksidatiivisen stressin hillitsemiseen sekä niiden aiheuttajiin.

Kokonaisuudessaan suoliston yhteys kiveksiin esiintyy todennäköisesti merkittävänä, mutta vielä huonosti ymmärrettyinä kokonaisuutena, jossa suolistomikrobiomi vaikuttaa laajasti kivesten

toimintaan. Useat tekijät, kuten ruokavalio, tulehdus ja hormonaaliset muutokset on osoitettu vaikuttavan GTA:n välityksellä. Näiden tekijöiden on havaittu vaikuttavan kivesten terveyteen ja siittiöiden laadullisiin ominaisuuksiin. Kuitenkin suoliston ja kivesten välinen yhteys sekä suoliston dysbioosin vaikutus hedelmällisyyteen vaatii vielä lisää tutkimusta, jotta tehokkaampia hoitomuotoja sen välityksellä voidaan kehittää.

Lähteet

1. Infertility. Accessed January 18, 2025. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
2. Stephen EH, Chandra A. Declining estimates of infertility in the United States: 1982–2002. *Fertil Steril*. 2006;86(3):516-523. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.02.129
3. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2015;13:37. doi:10.1186/s12958-015-0032-1
4. Baluch B, Nasser M, Aghssa MM. Psychological and social aspects of male infertility in a male dominated society. *J Soc Evol Syst*. 1998;21(1):113-120. doi:10.1016/S1061-7361(99)80007-1
5. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015;103(3):e18-e25. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.12.103
6. Salonia A, Matloob R, Gallina A, et al. Are Infertile Men Less Healthy than Fertile Men? Results of a Prospective Case-Control Survey. *Eur Urol*. 2009;56(6):1025-1032. doi:10.1016/j.eururo.2009.03.001
7. Behboudi-Gandevani S, Bidhendi-Yarandi R, Panahi MH, Vaismoradi M. A Systematic Review and Meta-Analysis of Male Infertility and the Subsequent Risk of Cancer. *Front Oncol*. 2021;11. doi:10.3389/fonc.2021.696702
8. Khan ZA, Kashif M, Yousafzai AK, Hussain A. Clinical Urogenital Anomalies Responsible for Primary Male Infertility Presenting in Infertility Clinic.
9. Fan W, Xu Y, Liu Y, Zhang Z, Lu L, Ding Z. Obesity or Overweight, a Chronic Inflammatory Status in Male Reproductive System, Leads to Mice and Human Subfertility. *Front Physiol*. 2018;8. doi:10.3389/fphys.2017.01117
10. Ghasemian F, Abolghasem Mirroshandel S, Zahiri Z. Impact of hormonal changes on the semen quality and assisted reproductive outcomes in infertile men. *J Appl Biomed*. 2017;15(3):227-232. doi:10.1016/j.jab.2017.04.003
11. Punab M, Poolamets O, Paju P, et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2017;32(1):18-31. doi:10.1093/humrep/dew284
12. Pham S, Schultz JS. Testicular thermoregulation with respect to spermatogenesis and contraception. *J Therm Biol*. 2021;99:102954. doi:10.1016/j.jtherbio.2021.102954
13. Setchell BP. The Parkes Lecture Heat and the testis. *Reproduction*. 1998;114(2):179-194. doi:10.1530/jrf.0.1140179

14. Wilson L. Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N*. 1954;85(4):652-655. doi:10.3181/00379727-85-20982
15. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Hum Reprod Update*. 2023;29(2):157-176. doi:10.1093/humupd/dmac035
16. Ravitsky V, Kimmins S. The forgotten men: rising rates of male infertility urgently require new approaches for its prevention, diagnosis and treatment. *Biol Reprod*. 2019;101(5):872-874. doi:10.1093/biolre/ioz161
17. Corsini C, Boeri L, Candela L, et al. Is There a Relevant Clinical Impact in Differentiating Idiopathic versus Unexplained Male Infertility? *World J Mens Health*. 2023;41(2):354-362. doi:10.5534/wjmh.220069
18. Ajayi AB, Ajayi VD, Oyetunji I, et al. Are semen parameters worsening? Comparing semen parameters 10 years apart. *Niger Med J J Niger Med Assoc*. 2017;58(2):72-75. doi:10.4103/0300-1652.219350
19. Al-Asmakh M, Stukenborg JB, Reda A, et al. The Gut Microbiota and Developmental Programming of the Testis in Mice. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e103809. doi:10.1371/journal.pone.0103809
20. Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486(7402):222-227. doi:10.1038/nature11053
21. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The Effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. *Sci Transl Med*. 2009;1(6):6ra14-6ra14. doi:10.1126/scitranslmed.3000322
22. Kang SS, Jeraldo PR, Kurti A, et al. Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Mol Neurodegener*. 2014;9:36. doi:10.1186/1750-1326-9-36
23. Zhao Q, Huang JF, Cheng Y, et al. Polyamine metabolism links gut microbiota and testicular dysfunction. *Microbiome*. 2021;9:224. doi:10.1186/s40168-021-01157-z
24. Clemente JC, Pehrsson EC, Blaser MJ, et al. The microbiome of uncontacted Amerindians. *Sci Adv*. 2015;1(3):e1500183. doi:10.1126/sciadv.1500183
25. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project. *Nature*. 2007;449(7164):804-810. doi:10.1038/nature06244
26. Jiang H, Ling Z, Zhang Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2015;48:186-194. doi:10.1016/j.bbi.2015.03.016
27. Hong J, Fu Y, Chen X, et al. Gut microbiome changes associated with chronic pancreatitis and pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Surg Lond Engl*. 2024;110(9):5781-5794. doi:10.1097/JS9.0000000000001724

28. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, et al. Meta-analyses of Colorectal Cancer Risk Factors. *Cancer Causes Control CCC*. 2013;24(6):1207-1222. doi:10.1007/s10552-013-0201-5
29. Frank DN, St. Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(34):13780-13785. doi:10.1073/pnas.0706625104
30. Maffei C, Martina A, Corradi M, et al. Association between intestinal permeability and faecal microbiota composition in Italian children with beta cell autoimmunity at risk for type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016;32(7):700-709. doi:10.1002/dmrr.2790
31. Brown CT, Davis-Richardson AG, Giongo A, et al. Gut Microbiome Metagenomics Analysis Suggests a Functional Model for the Development of Autoimmunity for Type 1 Diabetes. *PLoS ONE*. 2011;6(10):e25792. doi:10.1371/journal.pone.0025792
32. Zoetendal EG, Raes J, van den Bogert B, et al. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *ISME J*. 2012;6(7):1415-1426. doi:10.1038/ismej.2011.212
33. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. 2016;14(8):e1002533. doi:10.1371/journal.pbio.1002533
34. Savage DC. MICROBIAL ECOLOGY OF THE GASTROINTESTINAL TRACT. *Annu Rev Microbiol*. 1977;31(1):107-133. doi:10.1146/annurev.mi.31.100177.000543
35. Wastyk HC, Fragiadakis GK, Perelman D, et al. Gut Microbiota-Targeted Diets Modulate Human Immune Status. *Cell*. 2021;184(16):4137-4153.e14. doi:10.1016/j.cell.2021.06.019
36. Takada M, Nishida K, Kataoka-Kato A, et al. Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut-brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterol Motil*. 2016;28(7):1027-1036. doi:10.1111/nmo.12804
37. Kapoor P, Tiwari A, Sharma S, et al. Effect of anthocyanins on gut health markers, Firmicutes-Bacteroidetes ratio and short-chain fatty acids: a systematic review via meta-analysis. *Sci Rep*. 2023;13(1):1729. doi:10.1038/s41598-023-28764-0
38. Mohajeri MH, Brummer RJM, Rastall RA, et al. The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *Eur J Nutr*. 2018;57(Suppl 1):1-14. doi:10.1007/s00394-018-1703-4
39. Saad N, Delattre C, Urdaci M, Schmitter JM, Bressollier P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Sci Technol*. 2013;50(1):1-16. doi:10.1016/j.lwt.2012.05.014
40. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174-180. doi:10.1038/nature09944

41. Gu S, Chen D, Zhang JN, et al. Bacterial Community Mapping of the Mouse Gastrointestinal Tract. *PLoS ONE*. 2013;8(10):e74957. doi:10.1371/journal.pone.0074957
42. Kozopas NM, Chornenka OI, Vorobets MZ, Lapovets LY, Maksymyuk HV. Body Mass Index and Sperm Quality: Is there a Relationship? *J Hum Reprod Sci*. 2020;13(2):110-113. doi:10.4103/jhrs.JHRS_15_20
43. Ding N, Zhang X, Zhang XD, et al. Impairment of spermatogenesis and sperm motility by the high-fat diet-induced dysbiosis of gut microbes. *Gut*. 2020;69(9):1608-1619. doi:10.1136/gutjnl-2019-319127
44. Hao Y, Feng Y, Yan X, et al. Gut Microbiota-Testis Axis: FMT Mitigates High-Fat Diet-Diminished Male Fertility via Improving Systemic and Testicular Metabolome. *Microbiol Spectr*. 10(3):e00028-22. doi:10.1128/spectrum.00028-22
45. Grande G, Graziani A, De Toni L, Garolla A, Ferlin A. Male Tract Microbiota and Male Infertility. *Cells*. 2024;13(15):1275. doi:10.3390/cells13151275
46. Juárez-Rojas L, Viguera-Villaseñor RM, Casillas F, Retana-Márquez S. Gradual decrease in spermatogenesis caused by chronic stress. *Acta Histochem*. 2017;119(3):284-291. doi:10.1016/j.acthis.2017.02.004
47. Hao Y, Feng Y, Yan 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
48. Dubey I, K N, G V, et al. Exploring the hypothetical links between environmental pollutants, diet, and the gut-testis axis: The potential role of microbes in male reproductive health. *Reprod Toxicol*. 2024;130:108732. doi:10.1016/j.reprotox.2024.108732
49. Li MWM, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY. Cytokines and the junction restructuring events during spermatogenesis in the testis: An emerging new concept of regulation. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20(4):329-338. doi:10.1016/j.cytogfr.2009.07.007
50. Li MWM, Xia W, Mruk DD, et al. Tumor necrosis factor α reversibly disrupts the blood-testis barrier and impairs Sertoli-germ cell adhesion in the seminiferous epithelium of adult rat testes. Published online August 1, 2006. doi:10.1677/joe.1.06781
51. Xia W, Wong EWP, Mruk DD, Cheng CY. TGF- β 3 and TNF α perturb blood-testis barrier (BTB) dynamics by accelerating the clathrin-mediated endocytosis of integral membrane proteins: A new concept of BTB regulation during spermatogenesis. *Dev Biol*. 2009;327(1):48-61. doi:10.1016/j.ydbio.2008.11.028
52. Liu JB, Li ZF, Lu L, Wang ZY, Wang L. Glyphosate damages blood-testis barrier via NOX1-triggered oxidative stress in rats: Long-term exposure as a potential risk for male reproductive health. *Environ Int*. 2022;159:107038. doi:10.1016/j.envint.2021.107038

53. Bryan ER, Redgrove KA, Mooney AR, et al. Chronic testicular Chlamydia muridarum infection impairs mouse fertility and offspring development†. *Biol Reprod.* 2020;102(4):888-901. doi:10.1093/biolre/ioz229
54. Paul C, Robaire B. Impaired Function of the Blood-Testis Barrier during Aging Is Preceded by a Decline in Cell Adhesion Proteins and GTPases. *PLoS ONE.* 2013;8(12):e84354. doi:10.1371/journal.pone.0084354
55. DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(5):1137-1150. doi:10.1097/MIB.0000000000000750
56. Baker JM, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz MM. Estrogen–gut microbiome axis: Physiological and clinical implications. *Maturitas.* 2017;103:45-53. doi:10.1016/j.maturitas.2017.06.025
57. Martinez-Medina M, Denizot J, Dreux N, et al. Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut.* 2014;63(1):116-124. doi:10.1136/gutjnl-2012-304119
58. Candelli M, Franza L, Pignataro G, et al. Interaction between Lipopolysaccharide and Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(12):6242. doi:10.3390/ijms22126242
59. Zhang J, Liu H, Yang Q, et al. Genomic Sequencing Reveals the Diversity of Seminal Bacteria and Relationships to Reproductive Potential in Boar Sperm. *Front Microbiol.* 2020;11:1873. doi:10.3389/fmicb.2020.01873
60. Hao Y, Du X, Cai C, Zhao Y, Ren Y. Ammonia and hydrogen sulfide - new insights into gut microbiota and male infertility through meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024;14:1449453. doi:10.3389/fcimb.2024.1449453
61. Ptóciennikowska A, Hromada-Judycka A, Borzęcka K, Kwiatkowska K. Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cell Mol Life Sci CMLS.* 2014;72(3):557-581. doi:10.1007/s00018-014-1762-5
62. Oliveira LCS de L, Costa EC, Martins FDG, da Rocha AS, Brasil GA. Probiotics supplementation in the treatment of male infertility: A Systematic Review. *JBRA Assist Reprod.* 2024;28(2):341-348. doi:10.5935/1518-0557.20240013
63. De Marco S, Sichetti M, Muradyan D, et al. Probiotic Cell-Free Supernatants Exhibited Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity on Human Gut Epithelial Cells and Macrophages Stimulated with LPS. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2018;2018:1756308. doi:10.1155/2018/1756308
64. Ahmad R, Sorrell MF, Batra SK, Dhawan P, Singh AB. Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent. *Mucosal Immunol.* 2017;10(2):307-317. doi:10.1038/mi.2016.128

65. Mostafavi Abdolmaleky H, Zhou JR. Gut Microbiota Dysbiosis, Oxidative Stress, Inflammation, and Epigenetic Alterations in Metabolic Diseases. *Antioxidants*. 2024;13(8):985. doi:10.3390/antiox13080985
66. Exploring the interplay between inflammation and male fertility - Fomichova - The FEBS Journal - Wiley Online Library. Accessed April 28, 2025. <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/febs.17366>
67. Hedger MP. Testicular leukocytes: what are they doing? Published online January 1, 1997. doi:10.1530/revreprod/2.1.38
68. Wang F, Liu W, Jiang Q, et al. Lipopolysaccharide-induced testicular dysfunction and epididymitis in mice: a critical role of tumor necrosis factor alpha. *Biol Reprod*. 2019;100(3):849-861. doi:10.1093/biolre/iy0235
69. Wdowiak A, Gujski M, Bojar I, et al. Chronic Inflammation Impairs Male Fertility—A Case-Control Study in Ulcerative Colitis Patients. *J Clin Med*. 2021;10(7):1460. doi:10.3390/jcm10071460
70. Shen P, Ji S, Li X, et al. LPS-Induced Systemic Inflammation Caused mPOA-FSH/LH Disturbance and Impaired Testicular Function. *Front Endocrinol*. 2022;13:886085. doi:10.3389/fendo.2022.886085
71. Cao D, Li Y, Yang R, et al. Lipopolysaccharide-induced epididymitis disrupts epididymal beta-defensin expression and inhibits sperm motility in rats. *Biol Reprod*. 2010;83(6):1064-1070. doi:10.1095/biolreprod.109.082180
72. Reddy MM, Mahipal SVK, Subhashini J, et al. Bacterial lipopolysaccharide-induced oxidative stress in the impairment of steroidogenesis and spermatogenesis in rats. *Reprod Toxicol*. 2006;22(3):493-500. doi:10.1016/j.reprotox.2006.03.003
73. Beni FA, Saffarfar H, Elhami A, Kazemi M. Gut Microbiota Dysbiosis: A Neglected Risk Factor for Male and Female Fertility. *Cell Microbiol*. 2024;2024(1):7808354. doi:10.1155/cmi/7808354
74. O'Bryan MK, Schlatt S, Phillips DJ, de Kretser DM, Hedger MP. Bacterial Lipopolysaccharide-Induced Inflammation Compromises Testicular Function at Multiple Levels in Vivo¹. *Endocrinology*. 2000;141(1):238-246. doi:10.1210/endo.141.1.7240
75. Mazumdar S, Levine AS. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Fertil Steril*. 1998;70(5):799-810. doi:10.1016/S0015-0282(98)00302-1
76. GARCIA PC, RUBIO EM, PEREIRA OCM. Antisperm antibodies in infertile men and their correlation with seminal parameters. *Reprod Med Biol*. 2007;6(1):33-38. doi:10.1111/j.1447-0578.2007.00162.x
77. Alvarez JG, Sharma RK, Ollero M, et al. Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril*. 2002;78(2):319-329. doi:10.1016/S0015-0282(02)03201-6

78. Parmar AR, Trivedi PP, Jena GB. Dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis leads to testicular toxicity in mice: Role of inflammation, oxidative stress and DNA damage. *Reprod Toxicol Elmsford N.* 2014;49:171-184. doi:10.1016/j.reprotox.2014.08.004
79. Nowicka-Bauer K, Nixon B. Molecular Changes Induced by Oxidative Stress that Impair Human Sperm Motility. *Antioxid Basel Switz.* 2020;9(2):134. doi:10.3390/antiox9020134
80. Costa J, Braga PC, Rebelo I, Oliveira PF, Alves MG. Mitochondria Quality Control and Male Fertility. *Biology.* 2023;12(6):827. doi:10.3390/biology12060827
81. Tesarik J. Lifestyle and Environmental Factors Affecting Male Fertility, Individual Predisposition, Prevention, and Intervention. *Int J Mol Sci.* 2025;26(6):2797. doi:10.3390/ijms26062797
82. Sengupta P, Dutta S, Karkada IR, Chinni SV. Endocrinopathies and Male Infertility. *Life.* 2021;12(1):10. doi:10.3390/life12010010
83. Concepción-Zavaleta M, Paz Ibarra JL, Ramos-Yataco A, et al. Assessment of hormonal status in male infertility. An update. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.* 2022;16(3):102447. doi:10.1016/j.dsx.2022.102447
84. Dubey I, K N, G V, et al. Exploring the hypothetical links between environmental pollutants, diet, and the gut-testis axis: The potential role of microbes in male reproductive health. *Reprod Toxicol.* 2024;130:108732. doi:10.1016/j.reprotox.2024.108732
85. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* 2013;500(7464):541-546. doi:10.1038/nature12506
86. Ghosh NK, Cox RP. Induction of human follicle-stimulating hormone in HeLa cells by sodium butyrate. *Nature.* 1977;267(5610):435-437. doi:10.1038/267435a0
87. Ruddon RW, Anderson C, Meade KS, Aldenderfer PH, Neuwald PD. Content of gonadotropins in cultured human malignant cells and effects of sodium butyrate treatment on gonadotropin secretion by HeLa cells. *Cancer Res.* 1979;39(10):3885-3892.
88. Ferrer M, Buey B, Grasa L, Mesonero JE, Latorre E. Protective role of short-chain fatty acids on intestinal oxidative stress induced by TNF- α . *Cell Stress Chaperones.* 2024;29(6):769-776. doi:10.1016/j.cstres.2024.11.002
89. Zheng JF, Chen XB, Zhao LW, et al. ICSI treatment of severe male infertility can achieve prospective embryo quality compared with IVF of fertile donor sperm on sibling oocytes. *Asian J Androl.* 2015;17(5):845-849. doi:10.4103/1008-682X.146971
90. Berntsen S, Zedeler A, Nøhr B, et al. IVF versus ICSI in patients without severe male factor infertility: a randomized clinical trial. *Nat Med.* Published online April 11, 2025:1-10. doi:10.1038/s41591-025-03621-x
91. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 6th ed. Accessed May 6, 2025. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>

92. Chung E, Atmoko W, Saleh R, Shah R, Agarwal A. Sixth edition of the World Health Organization laboratory manual of semen analysis: Updates and essential take away for busy clinicians. *Arab J Urol Int J*. 22(2):71-74. doi:10.1080/20905998.2023.2298048
93. Wang Y, Wu Y, Wang Y, et al. Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*. 2017;9(5):521. doi:10.3390/nu9050521
94. Maretti C, Cavallini G. The association of a probiotic with a prebiotic (Flortec, Bracco) to improve the quality/quantity of spermatozoa in infertile patients with idiopathic oligoasthenoteratospermia: a pilot study. *Andrology*. 2017;5(3):439-444. doi:10.1111/andr.12336
95. Mitochondrial glutathione peroxidase 4 disruption causes male infertility - Schneider - 2009 - The FASEB Journal - Wiley Online Library. Accessed May 10, 2025. <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.09-132795>
96. Agarwal A, Leisegang K, Majzoub A, et al. Utility of Antioxidants in the Treatment of Male Infertility: Clinical Guidelines Based on a Systematic Review and Analysis of Evidence. *World J Mens Health*. 2021;39(2):233-290. doi:10.5534/wjmh.200196
97. Roychoudhury S, Sharma R, Sikka S, Agarwal A. Diagnostic application of total antioxidant capacity in seminal plasma to assess oxidative stress in male factor infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(5):627-635. doi:10.1007/s10815-016-0677-5
98. Dimitriadis F, Borgmann H, Struck JP, Salem J, Kuru TH. Antioxidant Supplementation on Male Fertility—A Systematic Review. *Antioxidants*. 2023;12(4):836. doi:10.3390/antiox12040836
99. Su L, Qu H, Cao Y, et al. Effect of Antioxidants on Sperm Quality Parameters in Subfertile Men: A Systematic Review and Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Adv Nutr*. 2022;13(2):586-594. doi:10.1093/advances/nmab127
100. Beam A, Clinger E, Hao L. Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota. *Nutrients*. 2021;13(8):2795. doi:10.3390/nu13082795
101. Dorgan J, Judd J, Longcope C, et al. Effects of dietary fat and fiber on plasma and urine androgens and estrogens in men: a controlled feeding study. *Am J Clin Nutr*. 1996;64(6):850-855. doi:10.1093/ajcn/64.6.850
102. Pascual JJ, Marco-Jiménez F, Martínez-Paredes E, et al. Feeding programs promoting daily feed intake stability in rabbit males reduce sperm abnormalities and improve fertility. *Theriogenology*. 2016;86(3):730-737. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.02.026
103. Wu X, Chen D, Yu B, et al. Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs. *Nutrition*. 2018;51-52:20-28. doi:10.1016/j.nut.2018.01.011

104. Fu J, Zheng Y, Gao Y, Xu W. Dietary Fiber Intake and Gut Microbiota in Human Health. *Microorganisms*. 2022;10(12):2507. doi:10.3390/microorganisms10122507
105. Hermes RG, Molist F, Ywazaki M, et al. Effect of dietary level of protein and fiber on the productive performance and health status of piglets. *J Anim Sci*. 2009;87(11):3569-3577. doi:10.2527/jas.2008-1241
106. Weersma RK, Zhernakova A, Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome. *Gut*. 2020;69(8):1510-1519. doi:10.1136/gutjnl-2019-320204
107. Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, Friedrichs A, et al. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut*. 2013;62(11):1591-1601. doi:10.1136/gutjnl-2012-303184