

**UNIVERSIDADE VILA VELHA
CURSO DE NUTRIÇÃO**

Lícia Cristina Silva de Lima Oliveira

**SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO TRATAMENTO
DA INFERTILIDADE MASCULINA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

VILA VELHA
2022

Lícia Cristina Silva de Lima Oliveira

**SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO TRATAMENTO
DA INFERTILIDADE MASCULINA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Nutrição da Universidade Vila Velha –
UVV/ES como requisito parcial para obtenção do
título de Bacharel em Nutrição.
Orientadora: Prof. Dra. Girlandia Alexandre
Brasil

VILA VELHA
2022

Lícia Cristina Silva de Lima Oliveira

**SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO TRATAMENTO
DA INFERTILIDADE MASCULINA: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Vila Velha – UVV, como requisito parcial de avaliação para obtenção do Grau de Bacharel em Nutrição.

Aprovado em 22 de Junho de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Girlandia Alexandre Brasil
Universidade Vila Velha - UVV
Orientador(a)

Prof. Me. Fernanda Semião Garcia Pedra
Universidade Vila Velha - UVV

Dra. Monica Cattafesta
Universidade Federal do Espírito Santo

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e pela minha saúde, por me dar forças para ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo dos anos de estudos.

A minha filha Alice e meu marido Christyan, por todo o apoio e pela ajuda, e por compreenderem a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

À minha mãe, (*in memoriam*), que sempre foi e sempre será minha maior incentivadora.

Ao meu pai, irmãos e família, que estiveram ao meu lado e me incentivaram nos momentos difíceis.

Aos amigos, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o tempo que me dediquei aos meus estudos.

Ao meu grupo de estudos, amigos com quem compartilhei tantos momentos e aprendizados, pelo companheirismo, apoio, troca de conhecimentos, o que foi fundamental na elaboração deste trabalho de conclusão de curso.

A professora e orientadora Girlandia, por ter desempenhado tal função com paciência, dedicação e amizade, pelas correções e ensinamentos que foram essenciais para um melhor desempenho e conclusão deste trabalho.

SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICO NO TRATAMENTO DA INFERTILIDADE MASCULINA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

LICIA CRISTINA SILVA DE LIMA OLIVEIRA¹; GIRLANDIA ALEXANDRE BRASIL^{2*}

¹ Discente curso de Nutrição, Universidade Vila Velha – UVV.

² Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Vila Velha – UVV.

* Autor de correspondência: Dra. Girlandia Alexandre Brasil. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Vila Velha – UVV. Av. Comissário Jose Dantas de Melo, 21. Boa Vista – Vila Velha, ES. Cep: 29102-037.

RESUMO

A infertilidade é um problema global que afeta cerca de 15% dos casais sexualmente ativos e, os fatores relacionados a fertilidade masculina contribuem com cerca de 50% dos casos. Atualmente, as condições que afetam a fertilidade masculina continuam imprecisas e, muitas vezes são subtratadas. Essa revisão sistemática tem como objetivo de avaliar os estudos disponíveis que investigaram os efeitos da suplementação com probiótico na infertilidade masculina. Para tanto, foi realizado uma busca nas principais bases de dados *PubMed*, *Cochrane*, *Science Direct* e *Scielo*, utilizando os termos “*probiotic*” OR “*Lactobacillus*” OR “*Bifidobacterium*” AND “*Male infertility*” OR “*male fertility*” OR “*sperm quality*” OR “*sperm motility*” OR “*oligoasthenoteratozoospermia*” e os equivalentes em português. Ao fim da pesquisa, foram incluídos quatro artigos, todos estudos clínicos randomizados, realizados em homens com infertilidade masculina idiopática (oligozoospermia, teratozoospermia e astenozoospermia). Os estudos mostraram que a administração de probióticos, exerce promissora ação antioxidante, atuando na defesa contra as espécies reativas de oxigênio (EROS) e, conseqüentemente, protegendo os espermatozoides dos danos ao DNA que estão associados a piora na qualidade espermática. Deste modo, observou-se melhora em todos os parâmetros espermáticos, com destaque para a motilidade. Deste modo, podemos concluir que a suplementação com probiótico em homens que diagnosticados com infertilidade idiopática promove efeitos positivos no esperma, sendo uma alternativa para a terapia nesses pacientes.

Palavras-chave: infertilidade masculina, Oligoasthenoteratozoospermia, probiótico, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*

ABSTRACT

Infertility is a global problem that affects about 15% of sexually active and active couples who contribute, with about 50% of cases. Currently, as conditions are many of the people and are often undertreated. This systematic review aims to evaluate the available studies that investigate the remedies of probiotic supplementation in men. Therefore, a search was performed in the main PubMed, Cochrane, Science Direct and Scielo databases, using the terms “probiotic” OR “Lactobacillus” OR “Bifidobacterium” AND “Male infertility” OR “male fertility” OR “sperm quality” OR "sperm motility" OR "oligoasthenoteratozoospermia" and the equivalents in Portuguese. At the end of the research, four articles were included, all randomized clinical studies, performed in men with idiopathic male infertility (oligozoospermia, teratozoospermia and asthenozoospermia). Studies have shown that the administration of probiotics has a promising antioxidant action, acting in the defense against reactive oxygen species (ROS) and, consequently, protecting sperm from DNA damage that is associated with worsening sperm quality. From this, improvement was observed in all sperm parameters, with emphasis on motility. Thus, we can conclude that probiotic supplementation in men diagnosed with idiopathic infertility promotes positive effects on sperm, being an alternative for therapy in these patients.

Keywords: male infertility, Oligoasthenoteratozoospermia, probiotic, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*

1. INTRODUÇÃO

A infertilidade é definida como a incapacidade de um casal engravidar espontaneamente, após o período de um ano, tendo relações sexuais sem utilização de nenhum método contraceptivo. Correspondendo ao prazo que a maioria dos casais engravidam espontaneamente. Não implicando, no entanto, que a investigação de infertilidade seja adiada até que tenha decorrido o período de 12 meses (WHO, 2000).

Esse problema acomete aproximadamente 15% dos casais sexualmente ativos e cerca de 7% dos homens em todo o mundo (NIESCHLAG; BEHRE; NIESCHLAG, 2010). As causas de infertilidade são várias, sendo ocasionadas por problemas na fisiologia reprodutiva feminina ou masculina, entretanto, o fator masculino contribui em 50% dos casos e em aproximadamente 20 a 30% é a única causa envolvida (AGARWAL et al., 2015).

No sistema reprodutor masculino, a infertilidade é caracterizada por qualquer disfunção na ejeção e qualidade do sêmen, seja caracterizado pela ausência, quantidade reduzida, mudanças na morfologia ou motilidade dos espermatozoides (WHO, 2018). Segundo Cavallini et al., (2006) aproximadamente 30% dos homens inférteis são diagnosticados como idiopáticos, ou seja, não tem causa definida.

De acordo com Dohle et al. (2005) em 40 a 60% dos casos de infertilidade masculina, a anormalidade somente é observada após a análise do sêmen. E é considerada infertilidade idiopática, quando não há histórico ou anormalidade relevante no exame físico, endócrino e em exames laboratoriais. A partir da análise do esperma e a observação dos espermatozoides é possível determinar se há alteração no número (oligozoospermia), na motilidade (astenozoospermia) ou, ainda a presença de formas anormais (teratozoospermia) dos gametas. Essas anormalidades, geralmente se apresentam em conjunto, sendo denominadas como síndrome de oligoastenoteratozoospermia (OAT).

Segundo Levine et al. (2017) entre 1973 e 2011 houve declínio de 50 a 60% na contagem dos espermatozoides em homens da América do Norte, Europa, Austrália e Nova Zelândia e recentemente, Swan (2021) relatou que se a proporção deste declínio continuar, em 2050 cerca de 40% dos casais não conseguirão engravidar naturalmente, sendo necessário recorrer à alguma tecnologia de fertilidade assistida.

Atualmente, sabe-se que a infertilidade masculina tem origem multifatorial, podendo resultar de fatores como: uso de drogas e medicamentos, distúrbios endócrinos e hormonais, poluentes ambientais, tabagismo, infecções do trato urogenital, abuso de álcool, fumo, exposição a substâncias químicas, entre outros (WHO, 2000; PASQUALOTTO, 2006;

BRINCAT et al, 2015). Essas características ainda contribuem para que a infertilidade continue sendo subdiagnosticada e subtratada (ROSENBLALL et al. 2010). Apesar da característica multifatorial na infertilidade masculina, evidências significativas apontam para sua forte correlação com o estresse oxidativo seminal (AITKEN et al., 1989; AGARWAL et al., 2006). O estresse oxidativo é uma condição de desequilíbrio fisiológico seminal, devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) ou a uma deficiência da capacidade antioxidante total (TAC) (PIZZINO et al., 2017).

Níveis elevados de ROS, podem levar a uma sequência de eventos que acarretam danos celulares aos lipídios, DNA e proteínas do espermatozoide (AGARWAL et al., 2006; AITKEN et al., 2016), o que diminui a sua capacidade de movimentar-se e, ainda, de fecundação. Estudos demonstram que homens inférteis podem ter níveis elevados de ROS e capacidade antioxidante do sêmen menos eficaz (LEWIS et al., 1997; SUBRAMANIAN et al., 2018).

O desenvolvimento da ciência nas últimas décadas, especialmente no campo da genética e da embriologia humana, além do avanço das técnicas de diagnóstico e de tratamento contribuíram para avanços consideráveis na área de saúde da infertilidade (SANTOS et al., 2013). Entretanto, Wang et al. (2022) salientam que, apesar dos esforços para identificar as causas e desenvolver novas abordagens para melhorar a fertilidade masculina nas últimas décadas, ainda existem poucos tratamentos eficazes para retardar o declínio da infertilidade masculina idiopática.

Deste modo, estudos recentes têm avaliado diferentes estratégias de suplementação com antioxidantes e seus efeitos sobre as EROs, com o objetivo de melhoria na infertilidade masculina (BOZHEDOMOV et al., 2017; KIZILAY; ALTAY, 2019; KOPETS; KUIBIDA, 2020), e foi demonstrado que antioxidantes naturais ou suplementos vitamínicos tem a capacidade de neutralizar os radicais livres melhorando, assim, os parâmetros do sêmen (BUSETTO et al., 2018; GAMIDOV; OVCHINNIKOV; POPOVA, 2019). Dentre as estratégias de suplementação que promovam ação antioxidante mais promissoras, estão as vitaminas C e E, glutathione, folato, zinco, selênio, carnitina, coenzima Q10, licopeno, e N-acetil cisteína (ROSS et al., 2010; BUI et al., 2018). Entretanto, outras abordagens, que utilizam não os antioxidantes em si, mas que podem também promover a ação antioxidante, vêm ganhando destaque.

Nesse sentido, a utilização de probióticos têm crescido, especialmente devido a sua ação antioxidante e de melhora na microbiota seminal (AMARETTI et al., 2013). Probióticos são definidos como "*microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro*" (FAO/WHO, 2001). As cepas mais comuns

pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que são produtoras de ácido lático e fazem parte de muitas fermentações industriais e artesanais de plantas, carnes e laticínios (MARCO; PAVAN; KLEEREBEZEM, 2006).

O termo microbiota descreve a comunidade de micróbios que residem em quase todas as partes do corpo humano. Já o microbioma se refere ao material genético da microbiota, que exerce funções na simbiose fisiológica e na disbiose patogênica (LUNDY et al., 2021). Grande parte da microbiota humana está alojada no trato gastrointestinal, sendo considerada um órgão adicional (VENNERI et al., 2022). As bactérias dominantes da microbiota intestinal são representadas pelos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, seguidos pelos filos *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, que fazem parte da composição de microbiota intestinal saudável e contribuem para manutenção e proteção epitélio intestinal (ECKBURG et al., 2005).

Apenas 9% da microbiota humano está localizado no trato urogenital (SIROTA; ZAREK; SEGARS, 2014). Os filos dominantes no microbioma seminal são *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Bacteroidetes* (YANG et al., 2020). Lundy et al. (2021) descobriram que a abundância de *Prevotella* foi negativamente associada à concentração de espermatozoides, em oposição a *Pseudomonas* que foi associado de forma positiva à contagem de espermatozoides móveis. Adicionalmente, a abundância aumentada de *Ureaplasma*, *Enterococcus*, *Mycoplasma* e *Prevotella* foi associada negativamente aos parâmetros espermáticos. Ademais, evidências mostram que *Lactobacillus* podem promover ação de proteção na qualidade do sêmen, sendo observada uma maior presença deste micro-organismo em amostras de morfologia normal (FARAHANI, 2021).

Deste modo, devido ao potencial dos probióticos em promover o equilíbrio do microbioma, bem como a sua capacidade antioxidante que tem forte associação à infertilidade masculina (WANG et al., 2022), o objetivo desta revisão sistemática é avaliar os estudos disponíveis que investigaram os efeitos da suplementação com probiótico na infertilidade masculina.

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma busca sistemática de artigos no período de fevereiro a março de 2022, nos idiomas inglês e português, sem limitação de data de publicação. Foram utilizadas as bases de dados PubMed, Cochrane (Central Register of Controlled Trials), Science Direct e Scielo. Os termos utilizados foram “Probiótico”, “Lactobacillus”, “Bifidobacterium”, “Fertilidade masculina”, “Infertilidade masculina”, “qualidade do esperma”, “motilidade espermática”, “Oligoasthenoteratozoospermia”. Adotou-se a seguinte combinação de seus equivalentes em inglês: ((probiotic) OR (Lactobacillus) OR (Bifidobacterium)) AND (("Male infertility") OR ("male fertility") OR ("sperm quality") OR ("sperm motility") OR (oligoasthenoteratozoospermia))), sendo adaptada para cada base de dados.

Os artigos identificados foram inicialmente avaliados pelo título e resumo. Os que atendiam aos critérios de seleção foram posteriormente lidos na íntegra. Utilizou-se os seguintes critérios de elegibilidade: estudos originais publicados com seres humanos e estudos clínicos randomizados. Sendo excluídos estudos em modelo animal ou *in vitro*, artigos de revisão e estudos em duplicata.

Os principais dados dos artigos foram inseridos em planilha, elaborada no programa Microsoft Excel®. Foram extraídas as seguintes informações: autor, ano de publicação, desenho de estudo, população estudada, número de participantes, tempo de seguimento, intervenção utilizada e os principais resultados encontrados.

3. RESULTADOS E DISCUSSAO

Nossa revisão teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com probiótico na infertilidade masculina. A busca sistemática nas bases de dados selecionados resultou em um total de 85 artigos. Após leitura de títulos, resumos e exclusões por critérios de elegibilidade, foram incluídos quatro artigos para esta revisão sistemática (Figura 1). Os estudos mostraram que o uso de probióticos para o tratamento de infertilidade masculina promove melhora nos parâmetros espermáticos, como: motilidade, concentração de espermatozoides, morfologia, volume de sêmen e contagem total de espermatozoides, sendo, portanto, estratégia relevante na terapia da infertilidade masculina.

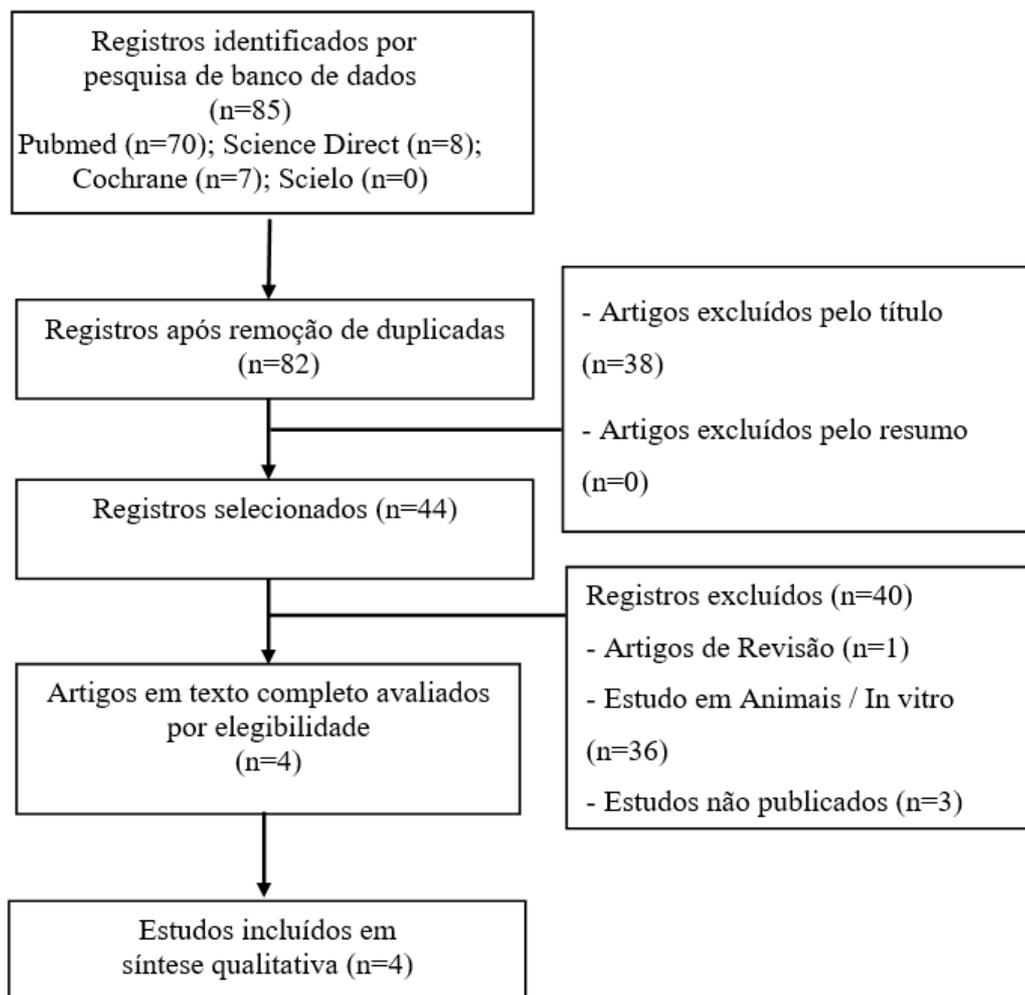


Figura 1. Fluxograma de seleção de artigos

Fonte: o próprio autor.

Os detalhes dos artigos incluídos estão na Tabela 1. Os estudos foram publicados entre os anos de 2017 e 2021. Todos foram estudos clínicos randomizados, sendo dois deles duplo-cego (MARETTI; CAVALLINI, 2017; HELLI et al., 2020), um triplo-cego (ABBASI; ABBASI; NIROUMAND, 2021) e um estudo cruzado (crossover) (VALCARCE et al., 2017). Todos os estudos foram realizados em homens com infertilidade masculina idiopática (oligozoospermia, teratozoospermia e astenozoospermia).

Os efeitos potenciais dos probióticos têm sido estudados em diversas áreas da medicina. As misturas de cepas probióticas mostraram-se benéficas em diversos desfechos, como a síndrome do intestino irritável, diarreias, atopias, infecções do trato respiratório, modulação do sistema imunológico e microbiota intestinal, doença inflamatória intestinal, entre outros (CHAPMAN; GIBSON; ROWLAND, 2011). Considerando seu uso seguro e potenciais benefícios terapêuticos, suas propriedades antioxidantes também vem ganhando atenção nas linhas de pesquisa (WANG; YU; CHOU, 2006; MISHRA et al., 2015).

Os mecanismos de ação dos probióticos podem variar entre as cepas e pode ser resultado de uma combinação de eventos. De maneira geral propõe-se que os principais mecanismos consistem na produção de enzimas ou metabólitos antimicrobianos, inibição de bactérias patogênicas devido à competição por sítios de ligação, competição por nutrientes e modulação da resposta imunológica (FAO/WHO, 2001; SAAD et al., 2013).

Wang et al. (2017) em um estudo de revisão apresentaram que as cepas probióticas podem exercer ação antioxidante de diferentes formas, incluindo: a sua capacidade quelante de íons metálicos, por possuírem suas próprias enzimas antioxidases, por produzem metabólitos antioxidantes, regularem positivamente as atividades enzimáticas antioxidante do hospedeiro e negativamente as atividades das enzimáticas de produção de ROS, aumentarem os níveis de metabólitos com ação antioxidantes de seu hospedeiro, regularem vias de sinalização e regularem a microbiota intestinal.

No campo da reprodução feminina, estudos têm demonstrado que o uso de probióticos influenciam no microbioma vaginal. Foram relatados os benefícios dos probióticos como terapia para vaginose bacteriana, aumentando a abundância de *Lactobacilos* e sendo interessante na preparação do microbioma vaginal antes da concepção (REID et al., 2001; LARSSON et al., 2008; MACKLAIM et al., 2015). Com relação a infertilidade masculina, os estudos mostraram que o uso de probióticos promove melhora nos parâmetros do espermáticos sendo indicado como terapia para esses pacientes (VALCARCE, et al., 2017; MARETTI; CAVALLINI, 2017; HELLI, et al., 2020; ABBASI; ABBASI; NIROUMAND, 2021).

Tabela 1. Descrição e principais resultados dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/Ano	Desenho	n	Tempo de seguimento	Intervenção	Resultados
Valcarce et al. (2017)	Randomizado	9	6 semanas	<i>L. rhamnosus</i> CECT8361 + <i>B. Longum</i> CECT7347 (10 ⁹ UFCs)	↑ motilidade espermática, ↓ fragmentação do DNA e níveis de H ₂ O ₂ intracelular do espermatozoide.
Maretti & Cavallini (2017)	Randomizado, duplo-cego, placebo-controlado	41	24 semanas	<i>L. paracasei</i> B21060 (5 x 10 ⁹ UFCs) + arabinogalactan 1243 mg + frutooligossacarídeo 700 mg + L-glutamina 500 mg	↑ volume do ejaculado, concentração, motilidade, número de espermatozoides ejaculados e porcentagem de formas típicas. ↑ níveis de FSH, LH e T.
Helli et al (2020)	Randomizado, duplo-cego	50	10 semanas	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>S. thermophiles</i> (2 x 10 ¹¹ UFCs)	↑ volume ejaculado, contagem total de espermatozoides, concentração, motilidade total, porcentagem de espermatozoides móveis. ↑ TAC e concentração de MDA plasmático. ↓ PCR e TNF-α. ↑ a testosterona e ↓ FSH, LH e PRL, mas não significante.
Abbasi, Abbasi, e Niroumand (2021)	Randomizado, Triplo-cego	47	11,4 semanas	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>S. thermophilus</i> (10 ⁹ UFCs) e frutooligossacarídeos.	↑ concentração de espermatozoides, motilidade e morfologia normal. ↓ peroxidação lipídica e fragmentação do DNA.

FSH = Hormônio folículo estimulante; *B* = *Bifidobacterium*; E2 = estradiol; *L* = *Lactobacillus*; LH = Hormônio luteinizante; MDA = Malondialdeído; PRL = Prolactina; PCR = Proteína C Reativa; *S* = *Streptococcus*; TAC = Total Antioxidant Capacity; T = Testosterona; TNF-α = fator de necrose tumoral α; UFC = Unidade formadora de colônias.

Dentre os parâmetros investigados, temos também a menor fragmentação do DNA do espermatozoide (VALCARCE et al., 2017; ABBASI; ABBASI; NIROUMAND, 2021), bem como a redução de níveis das EROS (VALCARCE et al., 2017), redução da peroxidação lipídica espermática (ABBASI; ABBASI; NIROUMAND, 2021), redução dos níveis de malondialdeído (MDA) e aumento da TAC (HELLI et al., 2020).

Parâmetros espermáticos

Todos os quatro artigos incluídos na presente revisão relataram melhora na motilidade espermática (VALCARCE, et al., 2017; MARETTI; CAVALLINI, 2017; HELLI, et al., 2020; ABBASI; ABBASI; NIROUMAND, 2021). Valcarce et al (2017) demonstraram melhora significativa na motilidade, após a administração de probiótico (*Lactobacillus rhamnosus* CECT8361 + *Bifidobacterium longum* CECT7347) em 9 homens astenozoospermicos, por seis semanas. A porcentagem de espermatozoides móveis aumentou cerca de seis vezes após o tratamento e se manteve sustentada nas seis semanas após a conclusão do tratamento.

Em concordância com estes resultados, Maretti e Cavallini (2017) relataram aumento significativo na motilidade progressiva dos espermatozoides ($p < 0,01$), em estudo randomizado com 41 homens com oligoastenoteratospermia idiopática. A suplementação foi realizada com probiótico Flortec[®], que continha *Lactobacillus paracasei* B21060 (5×10^9 UFCs) associado ao veículo (arabinogalactan 1243 mg + frutooligosacarídeo 700 mg + L-glutamina 500 mg). Além da melhora na motilidade, outros parâmetros também foram melhorados, como a concentração de espermatozoides ($p < 0,01$), morfologia ($p < 0,01$), volume de sêmen ($p < 0,01$) e contagem total de espermatozoides ($p < 0,01$).

Seguindo a mesma tendência, os resultados encontrados por Helli et al. (2020), demonstraram que a suplementação diária das cepas *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophiles*, (2×10^{11} UFCs), por 10 semanas, melhorou significativamente o volume ejaculado ($p = 0,041$), contagem total de espermatozoides ($p = 0,001$), concentração ($p = 0,001$), motilidade total ($p = 0,037$) e número de espermatozoides vivos ($p = 0,003$).

Da mesma forma Abbasi, Abbasi e Niroumand (2021) notaram aumento significativo na motilidade espermática ($p = 0,03$) e melhoria nos parâmetros de concentração espermática ($p = 0,004$) e morfologia ($p = 0,014$), após suplementação com

FamiLact[®] (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidófilo*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* (10^9 UFC) e frutooligossacarídeos) por 80 dias em 47 indivíduos. Essas modificações foram atribuídas a melhora no estresse oxidativo e no dano ao DNA.

Índice de Fragmentação do DNA e estresse oxidativo

Valcarce et al. (2017) demonstraram uma redução significativa ($p < 0,05$) no Índice de Fragmentação do DNA (DFI) de 25,74% para 21,11% após três semanas (T1) e 21,58% após seis semanas de tratamento (T2), sendo correlacionada com a melhora na motilidade. Após o *washout*, a melhora no DFI não foi sustentada, aumentando para 21,64% três semanas após o término do tratamento (W1) e 23,09% após seis semanas (W2).

Abbasi, Abbasi e Niroumand (2021) observaram melhora favorável na fragmentação do DNA ($p = 0,005$) nos pacientes que receberam FamiLact[®]. No grupo placebo, também foi observada diminuição da fragmentação do DNA pós-tratamento, porém, de forma menos significativa ($p=0,03$). Concomitantemente, foi realizada a técnica de coloração com cromatina A3 (CMA3), não sendo observada alteração significativa na positividade de CMA3 ($p=0,03$).

No processo de espermatogênese, a cromatina torna-se remodelada como histonas nucleares e são substituídas pela protamina, pequena molécula carregada positivamente. Essa estabilização é mais resistente a danos ao DNA (BENNETTS; AITKEN, 2005). Deste modo, o estudo de Abbasi, Abbasi e Niroumand (2021) sugere que o aumento no teor de protomina, pode não ser a causa da redução da fragmentação do DNA. Confirmando a hipótese de que a prevenção da fragmentação do DNA após o uso de probióticos foi induzido pela redução nas EROs, comprovando assim suas promissoras propriedades antioxidantes.

O estresse oxidativo foi avaliado por três, dos quatro estudos incluídos na presente pesquisa (VALCARCE, et al., 2017; HELLI, et al., 2020, ABBASI; ABBASI; NIROUMAND, 2021), demonstrando que os probióticos promovem ação antioxidante. Em estudo realizado por Valcarce et al. (2017), utilizando modelo *in vitro* para análise de ação antioxidante de probióticos em *Caenorhabditis elegans*, demonstrou maior percentual de sobrevivência dos vermes após a incubação com as cepas (*L. rhamnosus* CECT8361 58,5% e *B. longum* OCECT7347 66%) do que das réplicas de controle

positivo, utilizando a vitamina C, confirmando assim a atividade antioxidante das duas cepas.

Foram analisados também os níveis de H₂O₂ intracelular, para confirmação que as propriedades antioxidantes dos probióticos na prevenção da fragmentação do DNA, seria consequência da diminuição de EROs. O ensaio da diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA) foi usado medir os níveis de H₂O₂, sendo o percentual de células positivas reduzido em relação ao controle (16,57±3,34%), após ingestão de probiótico em T1 (5,02±0,93%) e T2 (6,2±1,77%), se mantendo até mesmo após o *washout* W1 (7,27±2,37%) e W2 (7,9±1,36%) (VALCARCE, et al., 2017).

Helli et al. (2020) avaliaram os níveis séricos e seminal MDA, produto da oxidação dos lipídeos, e utilizaram método colorimétrico para analisar a TAC sérica e seminal. Como resultado, encontraram que os níveis de TAC e MDA no plasma e no sêmen no grupo intervenção alteraram significativamente comparado com o placebo (p<0,001 e p=0,002 respectivamente). Adicionalmente, Abbasi, Abbasi e Niroumand (2021) utilizaram sonda BODIPY para avaliação de peroxidação lipídica espermática e constataram redução significativa (29,53%±19,4 a 26%±18,82; p=0.02) após a suplementação.

Estudo anterior realizado *in vitro*, forneceu evidências preliminares sobre a eficácia de probióticos em proteger espermatozoides da peroxidação lipídica e, conseqüentemente, dos efeitos negativos na motilidade e viabilidade espermática, por meio de combinação de três cepas de *Lactobacilos* (BARBONETTI et al., 2011).

Em estudo realizado com ratos, alimentados com dieta hiperlipídica, observou-se que as atividades da superóxido dismutase (SOD) e da glutathiona peroxidase (GSH-Px) no soro e esperma foram significativamente reduzidas, em comparação com ratos controle. O aumento do conteúdo MDA e de óxido nítrico (NO) no grupo que recebeu a dieta indica o desenvolvimento do estresse oxidativo e, conseqüente, peroxidação lipídica. A suplementação com probióticos restaurou as atividades de SOD e GSH-Px, diminuiu o conteúdo de MDA e NO para próximo aos dos controles, indicando sua ação antioxidante e capacidade de restaurar o dano oxidativo até certo ponto. O excesso de radicais livres demonstrou reduzir o número de espermatozoides, assim como a viabilidade e motilidade espermática (CHEN; GONG; XU, 2013).

Sabe-se que espermatozoides defeituosos são mais vulneráveis aos danos causados por estresse oxidativo, porque a composição de suas membranas plasmáticas contém porcentagens altas de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), que propiciam a

geração de EROs pelas mitocôndrias espermáticas, induzindo o aumento do processo de peroxidação lipídica (AITKEN et al., 2010). Além de não possuírem sistemas enzimáticos citoplasmáticos necessários para o reparo dano induzido pelo estresse oxidativo (AGARWAL; SALEH; BEDAIWY, 2003).

Desta forma, primeiramente os ROS irão danificar a membrana do espermatozoide, e conseqüentemente, reduzirão sua motilidade e sua a capacidade de fusão com o *oócito* (TREMELLEN, 2008; AITKEN et al., 2016). Os mecanismos que levam a redução da motilidade espermática devido ao estresse oxidativo não são conhecidos ao certo. Estudos demonstram que supostamente seja resultado de alterações axonêmicas, por possível depleção de trifosfato de adenosina (ATP) intracelular (DE LAMIRANDE; GAGNON, 1992), e anormalidade na cauda, diminuindo assim a motilidade dos espermatozoides (SYNTIN; ROBAIRE, 2001).

O estresse oxidativo também pode ocasionar o dano ao DNA, acelerando o processo de apoptose das células e conseqüente diminuição da contagem de espermatozoides, sendo correlacionado à infertilidade e à diminuição da qualidade do sêmen (AGARWAL; SALEH; BEDAIWY, 2003).

Tais evidências e resultados encontrados em nossa revisão reforçam essa hipótese de que a administração de probióticos, exerça ação antioxidante, atuando na defesa contra EROs e danos ao DNA do esperma, com conseqüente melhora nos parâmetros espermáticos, com destaque para a motilidade.

Hormônios sexuais

Dois estudos (MARETTI; CAVALLINI, 2017; HELLI, et al., 2020) avaliaram os níveis sanguíneos de hormônios sexuais após intervenção com probióticos. Maretti e Cavallini (2017) observaram que os níveis de hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e testosterona (T) aumentaram ($p < 0,01$), os de estradiol (E2) e prolactina (PRL) não tiveram alterações significativas, por outro lado Helli et al. (2020) observaram aumento dos níveis de testosterona e diminuição dos níveis séricos de FSH, LH e PRL, entretanto, esses achados não foram estatisticamente significativos ($p = 0,063$, $p = 0,21$ $p = 0,109$ e $p = 0,128$, respectivamente). Esses resultados, apesar de inconclusivos, sugerem que o uso de probiótico pode ter influência na regulação hormonal.

Catalfo et al. (2007), em seu estudo sugeriram que a suplementação com antioxidantes pode melhorar o quadro clínico de homens com varicocele. Os autores sugerem que alterações hormonais podem ser associadas a um efeito indireto de ROS na

ação das células de Leydig, principalmente na regularização dos níveis de testosterona (CATALFO et al., 2007). Ademais, evidências já haviam demonstrado que o estresse oxidativo é capaz de inibir esteroidogênese nessas células (POMERANTZ; PITELKA, 1998; MURUGESAN et al., 2005).

Desta forma, a hipótese é que aumento dos níveis de testosterona e alterações nas gonadotrofinas possa ter relação com a redução do estresse oxidativo. Uma vez que os resultados são controversos e inconclusivos, o significado fisiológico das alterações precisa ser melhor esclarecido e avaliado o real impacto do uso de probióticos nos fatores hormonais.

Fatores inflamatórios

A respeito dos fatores inflamatórios, estes foram investigados apenas por Helli et al. (2020), que determinaram os níveis séricos do fator de necrose tumoral α (TNF α) e de Proteína C Reativa (PCR), demonstrando que após a suplementação de probiótico, houve redução significativa tanto na PCR quanto no TNF α ($p=0,001$ e $p=0,003$ respectivamente). De forma semelhante, Chen et al. (2012) investigaram os efeitos *in vivo* da cepa *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 nas células epiteliais intestinais de camundongos com colite induzida por dextrano sulfato de sódio (DSS), e como resultados observaram que o uso da cepa reduziu significativamente a produção das citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e TNF- α) e aumentou a produção da citocina anti-inflamatória (IL-10), sugerindo assim a atividade anti-inflamatória potencial da cepa.

Nanda Kumar et al. (2008) em estudo anterior em camundongos tratados com DSS, sugeriram que cepas probióticas podem alterar o perfil de secreção de citocinas de pró-inflamatório para um anti-inflamatório. Desta forma, as evidências e resultados encontrados em nossa revisão demonstram a potencial ação anti-inflamatória dos probióticos.

Além disso, grandes avanços nos estudos da microbiota associada ao trato intestinal e genital, vem correlacionando as comunidades microbianas e efeitos da disbiose bacteriana na infertilidade (VENNERI et al., 2022). Em estudos revisados por Farahani et al. (2021) foi relatada maior abundância de *Prevotella* e *Estafilococo* no sêmen, correlacionando-se negativamente com a motilidade. Já a morfologia espermática anormal foi correlacionada com a diminuição *Lactobacillus*. Da mesma forma, Lundy et al. (2021) demonstraram que o microbioma testicular pode ter papel importante na

espermatogênese e que a disbiose intestinal e urinária pode ser um fator que influencia na infertilidade.

Monteiro et al. (2018) encontraram quantidade aumentada de *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Aerococcus*, *Actinobaculum*, *Neisseria*, e uma menor presença de *Lactobacillus* em grupos de oligoastenoteratozoospermia e hiperviscosidade. Também foi observada menor prevalência de *Lactobacillus* e *Propionibacterium*. Estas são bactérias Gram-positivas, que parecem ter efeito na manutenção da qualidade do sêmen, assim como potencial em diminuir a influência negativa de bactérias de Gram-negativas como *Prevotella*, *Aggregatibacter* e *Pseudomonas* (WENG et al., 2014).

A camada de células epiteliais intestinais, constitui a principal barreira à permeação e através das quais ocorre a passagem de moléculas via paracelular ou transcelular. Alterações na composição da membrana contribuem para alterações nesta barreira e conseqüentemente na permeabilidade intestinal (TRAVIS; MENZIES, 1992). A barreira intestinal não somente exerce a função de proteção do hospedeiro contra infecções e patógenos do lúmen gastrointestinal, como também permite a adequada absorção nutrientes de alimentos e líquidos (BISCHOFF, 2011).

Os probióticos podem atuar de diversas formas na fisiopatologia intestinal, porém evidências convincentes apontam para o mecanismo de aumento da função da barreira intestinal, por meio da expressão dos genes envolvidos na formação das junções epiteliais intestinais saudáveis (*tight junctions*) (ANDERSON et al., 2010). As junções formam uma adesão das células epiteliais intestinais, fornecendo uma barreira primária para o espaço intracelular (TSUKITA; FURUSE; ITOH, 2001). Blackwood et al. (2017) em estudo *in vitro* e *in vivo*, demonstrou que cepas probióticas de *Lactobacillus* fortalecem função da barreira intestinal, assim como a integridade das junções apertadas.

O estudo realizado apresentou limitações importantes quanto ao número de artigos disponíveis sobre o assunto, assim tamanho de amostras reduzidas. Apesar da variação entre os estudos em relação a administração do probióticos, sua composição, dose e duração, todos demonstraram promover melhoria nos parâmetros espermáticos e potencial para o tratamento de infertilidade masculina.

4. CONCLUSÃO

Os achados encontrados em nossa revisão evidenciam o benefício do tratamento com probióticos na infertilidade masculina. Corroborando com os resultados de melhoria dos parâmetros espermáticos, como motilidade, concentração de espermatozoides, morfologia, volume de sêmen e contagem total de espermatozoides, após o tratamento com as cepas probióticas (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*). Sendo considerado um tratamento seguro e acessível. Ressalta-se o número ainda limitado de pesquisas disponíveis sobre o uso da terapia probiótica como intervenção na infertilidade masculina e sugere-se realização de estudos em maior escala, para melhor elucidar o mecanismo de ação e aplicação dos probióticos.

REFERÊNCIAS

ABBASI, B.; ABBASI, H.; NIROUMAND, H. Synbiotic (Familaact) administration in idiopathic male infertility enhances sperm quality, DNA integrity, and chromatin status: A triple-blinded randomized clinical trial. **International Journal of Reproductive BioMedicine**, v. 19, n. 3, p. 235–244, 2021.

AGARWAL, A.; SALEH, R. A.; BEDAIWY, M. A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. **Fertility and Sterility**, v. 79, n. 4, p. 829–843, 2003.

AGARWAL, A. et al. Reactive oxygen species as an independent marker of male factor infertility. **Fertility and Sterility**, v. 86, n. 4, p. 878–885, 2006.

AGARWAL, A. et al. A unique view on male infertility around the globe. **Reproductive biology and endocrinology : RB&E**, v. 13, n. 1, 2015.

AITKEN, R. J. et al. Analysis of the Relationship Between Defective Sperm Function and the Generation of Reactive Oxygen Species in Cases of Oligozoospermia. **Journal of Andrology**, v. 10, n. 3, p. 214–220, 1989.

AITKEN, R. J. et al. New insights into sperm physiology and pathology. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 198, p. 99–115, 2010.

AITKEN, R. J. et al. Causes and consequences of oxidative stress in Spermatozoa. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 28, n. 1–2, p. 1–10, 2016.

AMARETTI, A. et al. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: In vitro and in vivo activities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 2, p. 809–817, 2013.

ANDERSON, R. C. et al. Lactobacillus plantarum MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2010.

BARBONETTI, A. et al. Effect of vaginal probiotic lactobacilli on in vitro-induced sperm lipid peroxidation and its impact on sperm motility and viability. **Fertility and sterility**, v. 95, n. 8, p. 2485–2488, 2011.

BISCHOFF, S. C. “Gut health”: a new objective in medicine? **BMC Medicine**, v. 9, p. 24, 14 mar. 2011.

BLACKWOOD, B. P. et al. Probiotic Lactobacillus Species Strengthen Intestinal Barrier Function and Tight Junction Integrity in Experimental Necrotizing Enterocolitis. **Journal of probiotics & health**, v. 5, n. 1, 2017

BOZHEDOMOV, V. A. et al. [Using L- and acetyl-L-carnitines in combination with clomiphene citrate and antioxidant complex for treating idiopathic male infertility: a prospective randomized trial]. **Urologiia (Moscow, Russia : 1999)**, n. 3, p. 22–32, 2017.

- BRINCAT, D. et al. Male factors in ART outcome prediction. **Gynecological endocrinology**, v. 31, n. 3, p. 169–175, 2015.
- BUI, A. D. et al. Reactive oxygen species impact on sperm DNA and its role in male infertility. **Andrologia**, v. 50, n. 8, p. e13012, 2018.
- BUSETTO, G. M. et al. Effect of metabolic and antioxidant supplementation on sperm parameters in oligo-astheno-teratozoospermia, with and without varicocele: A double-blind placebo-controlled study. **Andrologia**, v. 50, p. 12927, 2018.
- CATALFO, G. E. H et al. Oxidative stress biomarkers and hormonal profile in human patients undergoing varicocelectomy. **International Journal of Andrology**, v. 30, n. 6, p. 519–530, 2007.
- CAVALLINI, G. Male idiopathic oligoastheno-teratozoospermia. **Asian Journal of Andrology**, v. 8, n. 2, p. 143–157, 2006.
- CHAPMAN, C. M. C.; GIBSON, G. R.; ROWLAND, I. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? **European journal of nutrition**, v. 50, n. 1, p. 1–17, 2011.
- CHEN, X. L.; GONG, L. Z.; XU, J. X. Antioxidative activity and protective effect of probiotics against high-fat diet-induced sperm damage in rats. **Animal : an international journal of animal bioscience**, v. 7, n. 2, p. 287–292, 2013.
- CHEN, Y. et al. Lactobacillus kefirifaciens M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 63–74, 2012.
- DE LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Reactive Oxygen Species and Human Spermatozoa. **Journal of Andrology**, v. 13, n. 5, p. 368–378, 1992.
- DOHLE, G. R. et al. EAU guidelines on male infertility. **European Urology**, v. 48, n. 5, p. 703–711, 2005.
- DURACKOVA, Z. (2014). Free radicals and antioxidants for non-experts. **Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants**. Berlin, Germany: Springer Verlag, p. 3–38, 2014.
- ECKBURG, P. B. et al. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. **Science (New York, N.Y.)**, v. 308, n. 5728, p. 1635, 2005.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Cordoba, Argentina, 1-4 Outubro, 2001.

- FARAHANI, L. et al. The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: A systematic review and meta-analysis. **Andrology**, v. 9, n. 1, p. 115–144, 2021.
- GAMIDOV, S. I.; OVCHINNIKOV, R. I.; POPOVA, A. Y. Double-blind, randomized placebo-controlled study of efficiency and safety of complex acetyl-L-carnitine, L-carnitine fumarate and alpha-lipoic acid (Spermactin Forte) for treatment of male infertility. **Urologiia (Moscow, Russia : 1999)**, v. 2019, n. 4, p. 62–68, 2019.
- HELLI, B. et al. Probiotic effects on sperm parameters, oxidative stress index, inflammatory factors and sex hormones in infertile men. **Human Fertility**, 2020.
- KIZILAY, F.; ALTAY, B. Evaluation of the effects of antioxidant treatment on sperm parameters and pregnancy rates in infertile patients after varicocelectomy: a randomized controlled trial. **International journal of impotence research**, v. 31, n. 6, p. 424–431, 2019.
- KOPETS, R. et al. Dietary supplementation with a novel l-carnitine multi-micronutrient in idiopathic male subfertility involving oligo-, astheno-, teratozoospermia: A randomized clinical study. **Andrology**, v. 8, n. 5, p. 1184–1193, 2020.
- LARSSON, P. G. et al. Human lactobacilli as supplementation of clindamycin to patients with bacterial vaginosis reduce the recurrence rate; a 6-month, double-blind, randomized, placebo-controlled study. **BMC Women's Health**, v. 8, p. 3, 2008.
- LEWIS, S. E. et al. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. **Fertility and Sterility**, v. 67, 1997.
- LEVINE, H. et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. **Human Reproduction Update**, v. 23, n. 6, p. 646–659, 2017.
- LUNDY, S. D. et al. Functional and Taxonomic Dysbiosis of the Gut, Urine, and Semen Microbiomes in Male Infertility. **European Urology**, v. 79, n. 6, p. 826–836, 2021.
- MACKLAIM, J. M. et al. Changes in vaginal microbiota following antimicrobial and probiotic therapy. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v. 26, n. 0, 2015.
- MARCO, M. L.; PAVAN, S.; KLEEREBEZEM, M. Towards understanding molecular modes of probiotic action. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 204–210, 2006.
- 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**, v. 5, n. 3, p. 439–444, 2017.
- MISHRA, V. et al. Probiotics as Potential Antioxidants: A Systematic Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 14, p. 3615–3626, 2015.

MONTEIRO, C. et al. Characterization of microbiota in male infertility cases uncovers differences in seminal hyperviscosity and oligoasthenoteratozoospermia possibly correlated with increased prevalence of infectious bacteria. **American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)**, v. 79, n. 6, 2018.

MURUGESAN, P. et al. The inhibitory effects of polychlorinated biphenyl Aroclor 1254 on Leydig cell LH receptors, steroidogenic enzymes and antioxidant enzymes in adult rats. **Reproductive Toxicology**, v. 20, n. 1, p. 117–126, 2005.

NANDA KUMAR, N. S. et al. Probiotic administration alters the gut flora and attenuates colitis in mice administered dextran sodium sulfate. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 23, n. 12, p. 1834–1839, 1 dez. 2008.

NIESCHLAG, E.; BEHRE, H. M.; NIESCHLAG, S. **Andrology**. Male reproductive health and dysfunction. 3. ed. Berlin, Germany: Springer Verlag. 2010.

PASQUALOTTO, E. B.; FERREIRA, R. V.; FONSECA, G. P.; ZAGO, B. E.; GARBIN JR., C.; PASQUALOTTO, F. F. A análise seminal deve ser requisitada para homens com histórico de fertilidade prévia? **Revista brasileira de ginecologia e obstetrícia**, v. 28, n.11, p. 652-657, 2006.

PIZZINO, G. et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

POMERANTZ, D. K.; PITELKA, V. Nitric oxide is a mediator of the inhibitory effect of activated macrophages on production of androgen by the Leydig cell of the mouse. **Endocrinology**, v. 139, n. 3, p. 922–931, 1998

REID, G. et al. Probiotic *Lactobacillus* dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. **FEMS immunology and medical microbiology**, v. 32, n. 1, p. 37–41, 2001.

ROSENBLATT, C.; DELGADO FILHO, M. A.; DELGADO, D. R.; DELGADO, F. R. Infertilidade Masculina - Novos Conceitos. **Prática hospitalar**. Ano XII, n. 71, p. 85-92, 2010.

ROSS, C. et al. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. **Reproductive biomedicine online**, v. 20, n. 6, p. 711–723, 2010.

SAAD, N. et al. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 1–16, 2013.

SANTOS, R. M. T. et al. Considerações sobre infertilidade masculina. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 16, p. 21–26, 2013.

SIROTA, I.; ZAREK, S. M.; SEGARS, J. H. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology. **Seminars in reproductive medicine**, v. 32, n. 1, p. 35–42, 2014.

SUBRAMANIAN, V. et al. Seminal reactive oxygen species and total antioxidant capacity: Correlations with sperm parameters and impact on male infertility. **Clinical and experimental reproductive medicine**, v. 45, n. 2, p. 88–93, 2018.

SWAN, S. H.; COLINO, S. **Count down**: How our modern world is threatening sperm counts, altering male and female reproductive development, and imperiling the future of the human race. New York: Scribner. 2021.

SYNTIN, P.; ROBAIRE, B. Sperm Structural and Motility Changes During Aging in the Brown Norway Rat. **Journal of Andrology**, v. 22, n. 2, p. 235–244, 2001.

TRAVIS, S.; MENZIES, I. Intestinal permeability: functional assessment and significance. **Clinical Science**, v. 82, n. 5, p. 471–488, 1 maio 1992.

TREMELLEN, K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. **Human reproduction update**, v. 14, n. 3, p. 243–258, 2008.

TSUKITA, S.; FURUSE, M.; ITOH, M. Multifunctional strands in tight junctions. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 2, n. 4, p. 285–293, 2001.

VALCARCE, D. G. et al. Probiotic administration improves sperm quality in asthenozoospermic human donors. **Beneficial Microbes**, v. 8, n. 2, p. 193–206, 2017.

VENNERI, M. A. et al. Human genital tracts microbiota: dysbiosis crucial for infertility. **Journal of endocrinological investigation**, v. 45, n. 6, 2022.

WANG, Y. et al. Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. **Nutrients**, v. 9, n. 5, 19 maio 2017.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; CHOU, C. C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, v. 23, n. 2, p. 128–135, 2006.

WANG, H. et al. The Microbiome, an Important Factor That Is Easily Overlooked in Male Infertility. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, n. March, 2022.

WENG, S. L. et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: Metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple**. Cambridge, Cambridge University Press, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **International Classification of Diseases**, 11th Revision (ICD-11) Geneva: WHO, 2018.

YANG, H. et al. Potential Pathogenic Bacteria in Seminal Microbiota of Patients with Different Types of Dysspermatism. **Scientific Reports 2020 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.