

---

**Effect of probiotic on the reproductive system and testosterone of rats  
intoxicated with hexavalent chromium in the diet**

**Efeito de probiótico no sistema reprodutor e testosterona de ratos intoxicados com  
cromo hexavalente na dieta**

Received: 2023-06-30 | Accepted: 2023-07-01 | Published: 2023-07-05

---

**João Marcelo Martins Coluna**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5085-7772>

Universidade do Oeste Paulista, Brasil

E-mail: [joacoluna@unoeste.br](mailto:joacoluna@unoeste.br)

**Laura Franco Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5689-7227>

Universidade do Oeste Paulista, Brasil

E-mail: [laurasusuane@gmail.com](mailto:laurasusuane@gmail.com)

**Sophia de Castro Bremer**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2100-9189>

Faculdade de Medicina de Marília, Brasil

E-mail: [sophiabremer@gmail.com](mailto:sophiabremer@gmail.com)

**Heliard Rodrigues dos Santos Caetano**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2564-2192>

Universidade do Oeste Paulista, Brasil

E-mail: [heliard@unoeste.br](mailto:heliard@unoeste.br)

**Luiz Waldemar de Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3753-3006>

Universidade do Oeste Paulista, Brasil

E-mail: [oliveira@unoeste.br](mailto:oliveira@unoeste.br)

**Rogéria Keller**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7315-986X>

Universidade do Oeste Paulista, Brasil

E-mail: [rogeriakeller@unoeste.br](mailto:rogeriakeller@unoeste.br)

**Hermann Bremer-Neto**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9592-8896>

Universidade do Oeste Paulista, Brasil

E-mail: [hermann@unoeste.br](mailto:hermann@unoeste.br)

---

### ABSTRACT

Hexavalent chromium (Cr VI) is a toxic and carcinogenic agent. The aim of this study was to evaluate the effects of probiotic supplementation on the prostate, seminal vesicle, testis and testosterone hormone level in rats, as a preclinical model, intoxicated with increasing doses of Cr VI, in the form of potassium dichromate. The experimental period lasted 90 days and used 80 young male rats randomly allocated into eight groups (n=10): two doses of probiotic and four doses of potassium dichromate incorporated into the diet. After the experimental period, the animals were weighed, euthanized and samples of blood, prostate, seminal vesicle and testis were collected and histological evaluations and hormonal measurements were performed. The probiotic supplemented in the diet reduced ( $p<0.05$ ) the toxic effects of CrVI on the prostate, seminal vesicle, testis and testosterone hormone levels. The results also revealed that the incorporation of increasing doses of potassium dichromate caused toxic effects in a dose-dependent manner.

**Keywords:** Testicle; Prostate; Seminal vesicle; Testosterone; Potassium dichromate.

---

### RESUMO

O cromo hexavalente (Cr VI) é um agente tóxico e cancerígeno. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de probiótico na próstata, vesícula seminal, testículo e nível hormonal de testosterona em ratos, como modelo pré-clínico, intoxicados com doses crescentes de Cr VI, na forma de dicromato de potássio. O período experimental foi de 90 dias e utilizou 80 ratos machos jovens aleatoriamente alocados em oito grupos (n=10): duas doses de probiótico e de quatro doses de dicromato de potássio incorporadas na dieta. Após o período experimental, os animais foram pesados, eutanasiados e amostras de sangue, próstata, vesícula seminal e testículo foram colhidas e realizadas as avaliações histológicas e medições hormonais. O probiótico suplementado na dieta reduziu ( $p<0,05$ ) os efeitos tóxicos do Cr VI na próstata, vesícula seminal, testículo e níveis hormonais de testosterona. Os resultados também revelaram que a incorporação de doses crescentes de dicromato de potássio acarretou efeitos tóxicos de maneira dose dependente.

**Palavras-chave:** Testículo; Próstata; Vesícula seminal; Testosterona; Dicromato de potássio.

---

## INTRODUÇÃO

O crômio é um elemento metálico e a eliminação de resíduos da combustão de combustíveis fósseis e industriais são os grandes responsáveis pela contaminação dos alimentos e água por esse metal pesado. No estado hexavalente (Cr VI), causa efeitos adversos aos homens, animais e plantas (PARK, 2020; WANG et al., 2023; YOUNAN et al., 2016).

O dicromato de potássio faz parte do grupo de compostos do Cr VI e pode sofrer absorção por inalação, exposição dérmica e pela via oral (KHALAF et al., 2020; WU et al., 2019). Dentro da célula é convertido a uma forma mais estável, o Cr III, produzindo espécies reativas de oxigênio (ROS), que por sua vez causam estresse oxidativo e efeitos tóxicos, que inclui a peroxidação lipídica, danos ao DNA, citotoxicidade, mutagênese e carcinogênese (WANG et al., 2023, 2015).

Em humanos, trabalhadores da indústria de galvanoplastia, a exposição ao Cr VI demonstrou diminuir a contagem e motilidade de células espermáticas, bem como o aumento da concentração no soro do hormônio folículo-estimulante (FSH) (JOFFE, 2003). Os resultados também revelaram diminuição da concentração de espermatozoides e aumento de espermatozoides anormais em camundongos (ACHARYA et al., 2006), ratos (LI et al., 2001; SAOULI et al., 2023), coelhos (YOUSEF et al., 2006) e macacos (SUBRAMANIAN et al., 2006). Além disso, demonstrou em ratos inibir o Sirt1/Nrf2 e a via Sirt1/PGC-1 $\alpha$ , levando ao distúrbio da dinâmica mitocondrial em testículos e promovendo estresse oxidativo, acarretando a apoptose testicular e autofagia (WANG et al., 2023).

Em ratos, a microbiota intestinal converteu o Cr VI em Cr III, forma menos tóxico, indicando que microrganismos podem contribuir para a defesa do hospedeiro (KANNAN et al., 2012) e em camundongos, a suplementação na dieta da bactéria *Lactobacillus plantarum* TW1-1, probiótico, demonstrou atenuar a toxicidade induzida por Cr VI, modificando a estrutura e funcionamento da comunidade microbiana intestinal, através da “remediação intestinal”. Esse processo parece ser direto e eficiente na reparação de danos nos tecidos causados pela poluição por metais pesados e pode desempenhar um papel no tratamento em humanos (WU et al., 2017). Dentre os microrganismos probióticos, destacam-se os gêneros de bactérias *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus* e que já demonstraram atividade antioxidante (Singh et al., 2007), captadora de radicais livres (Getoff, 2007) e mitigadora de efeitos tóxicos de contaminantes (Reddivari et al., 2017; Ruan et al., 2015). Portanto, abordagens alternativas são necessárias para diminuir e ou prevenir os efeitos deletérios desse agente tóxico, o que foi demonstrado em murinos (ŚREDNICKA et al., 2021; WU et al., 2017). O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de probiótico na próstata, vesícula seminal, testículo e nível hormonal de testosterona em ratos, como modelo pré-clínico, intoxicados com doses crescentes de crômio VI, na forma de dicromato de potássio.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Aprovação ética

Este estudo foi realizado após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (Protocolo nº 785 e 1.233), da Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.

### Animais, cuidados e design experimental

Oitenta ratos Wistar machos, 23 dias de idade e peso médio de  $50,03 \pm 3,81$  g, foram mantidos em gaiolas individuais de acrílico durante o período experimental de 90 dias, sob as mesmas condições padrão de iluminação (ciclo claro/escuro de 12/12 h) e temperatura controlada de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . As dietas e água de bebida foram fornecidas à vontade. Foram feitas a ocultação da alocação usando uma tabela de sequência gerada pelo programa R (HARRELL; R DEVELOPMENT CORE TEAM; HARRELL, 2015), assim como o tratamento, estratégia de manejo e ocultação das avaliações e análises dos resultados, para reduzir o risco de viés (RODRIGUES et al., 2021).

Os ratos foram randomicamente alocados em oito grupos (n=10): grupo controle (C), dieta basal (Socil, Descalvado, São Paulo, Brasil); grupos 12DK, 24DK e 36DK, dieta basal incorporada com doses crescentes de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , 99.9% de pureza, marca Merck KGaA, Darmstadt, Germany): 0, 0,12, 0,24 e 0,36 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  por quilo da dieta basal; grupo probiótico (P) = dieta basal suplementada com 0.2% de probiótico (*Lactobacillus acidophilus*; *Streptococcus faecium*; *Bifidobacterium thermophilum*; e *Bifidobacterium longum*, dose de 2–5  $10^9$  unidades formadores de colônia (CFU) cada); e grupos 12DKP, 24DKP e 36DKP, dieta basal incorporada com 0.12, 0.24 e 0.36 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  e suplementadas com 0,2% de probiótico na dieta. A dosagem do probiótico suplementado na dieta foi realizada conforme recomendação do fabricante (Proenzime®, Embrapec, Paranavaí, Paraná, Brasil).

### Eutanásia e coleta de amostras

Após o período experimental, os animais foram pesados e anestesiados por via intraperitoneal, com dosagem de  $30 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$  de peso vivo de Tiopental  $50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  (Thiopentax, Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. – São Paulo/SP, Brasil). Amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca, centrifugadas para obtenção do plasma e posteriormente transferidas para microtubos e armazenadas em freezer a  $-80^\circ\text{C}$ . Após a coleta de sangue, os animais foram eutanasiados por exsanguinação (RODRIGUES et al., 2021). Depois de constatada clinicamente a morte, amostras do sistema reprodutor (testículo, vesícula seminal e próstata) foram coletadas e pesadas em balança analítica digital (Shimadzu - modelo AY220, Japão).

### Determinação dos níveis plasmáticos de testosterona e análise histológica da vesícula seminal, próstata e testículos

A testosterona plasmática total foi avaliada usando uma técnica direta de radioimunoensaio plasmático (Coat-a-Count, DPC, Los Angeles, EUA). A leitura foi realizada pelo contador Gama Counter® - Cobra II (Packard BioScience Company), no Laboratório de Dosagem Hormonal - Departamento de Endocrinologia - Faculdade de Medicina Veterinária - UNESP - Araçatuba - Brasil.

As amostras de testículo, vesícula seminal e próstata foram fixadas em solução de Davidson modificada e coradas pelo método da hematoxilina e eosina. Foram realizadas 30 fotografias por órgão utilizando um microscópio Leica (modelo DM750, Alemanha) acoplado a uma câmera de vídeo (Image-Pro Plus V7 - Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, EUA). Os critérios histopatológicos de maneira cega por dois patologistas: adenoma, adenocarcinoma, papiloma escamoso, carcinoma de células escamosas, neoplasias mesenquimais, hiperplasia atípica, metaplasia escamosa, contração tubular e degeneração do epitélio seminífero foram descritos em escores: Escore 0: ausência de alteração; Escore 1: alteração leve; Escore 2: alteração moderada e escore 3: alteração acentuada e foram transformados em frequência (%), utilizando a Standardized System of Nomenclature and Diagnostic Criteria Guides (SSNDC), da Society of Toxicologic Pathology (MANN et al., 2012).

### Estimação do crômio VI

A dieta basal e amostras da água de beber e aparas de madeira foram analisadas, antes e durante o período experimental, e os resultados não revelaram a presença de crômio no estado de oxidação VI. As dietas contendo dicromato de potássio foram analisadas e ajustadas para conter 0,12, 0,24 e 0,36 g de  $K_2Cr_2O_7$ /Kg da dieta basal (BREMER NETO et al., 2005).

### Análise estatística

Inicialmente, todos os grupos de dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para validar o pressuposto de normalidade, pelo qual foi constatado que os pesos dos órgãos avaliados apresentaram distribuição paramétrica, com pequenos graus de assimetria. Desta forma, para determinar se os grupos experimentais paramétricos diferiram entre si, recorreu-se ao teste de análise de variância em uma via (ANOVA one-way) com contrastes pelo método de Tukey. Para comparações nas quais o pressuposto de homogeneidade de variâncias foi violado, segundo o teste de Levene, a estatística F foi calculada aplicando-se a correção de Welch, e os contrastes foram realizados pelo método de Games-Howell. Para verificar se os escores relativos às lesões microscópicas detectadas no exame histopatológico diferiram entre os grupos experimentais, recorreu-se ao teste de Kruskal-Wallis com contrastes pelo método de Student-Newman-Keuls.

Todas as análises foram conduzidas no programa SPSS for Windows v. 13.0 (FIELD, 2009). O nível de significância adotado foi de 5%.

## RESULTADOS

Não foram observados casos de mortalidade e ou de comportamento anormal decorrentes da toxicidade ao Cr VI incorporado em doses crescentes à dieta basal, bem como lesões microscópicas: adenoma, adenocarcinoma, papiloma escamoso, carcinoma de células escamosas e neoplasias mesenquimais, assim como lesões macroscópicas. A média do peso corporal final (g) diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) e de modo dose-dependente, com a incorporação de doses crescentes de dicromato de potássio na dieta e a suplementação do probiótico atenuou essa diminuição ( $p < 0,05$ ). O peso relativo da próstata aumentou ( $p < 0,05$ ) com a incorporação de doses crescentes de dicromato de potássio e a suplementação do probiótico reduziu o aumento do peso ( $p < 0,05$ ). A média dos pesos relativos da vesícula seminal, testículo e concentração do hormônio testosterona diminuíram ( $p < 0,05$ ) nos grupos de animais submetidos à exposição oral subcrônica, 90 dias, ao dicromato de potássio em doses crescentes (0, 12, 0,24 e 0,36 g de  $K_2Cr_2O_7$  por Kg da dieta) e a suplementação do probiótico atenuou a perda nos grupos também intoxicados com as doses crescentes de dicromato de potássio (Tabela 1).

**Tabela 1** - Média do peso absoluto corporal final (g) e relativo (g/100 g peso corporal) e Média  $\pm$  DP dos órgãos (g) e concentração plasmática de testosterona (ng/mL), avaliados em ratos Wistar intoxicados com doses crescentes de dicromato de potássio e com ou sem a suplementação do probiótico na dieta (n=80).

Grupos	Parâmetros avaliados				
	Peso corporal final	Peso relativo da próstata	Peso relativo da vesícula seminal	Peso relativo do testículo	Testosterona
C	360,0 $\pm$ 6,2 <sup>a</sup>	0,0051 $\pm$ 0,0002 <sup>a</sup>	0,25 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,48 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	3,55 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>
P	358,3 $\pm$ 5,6 <sup>a</sup>	0,0050 $\pm$ 0,0001 <sup>a</sup>	0,24 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,49 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	3,57 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>
12DK	333,2 $\pm$ 7,7 <sup>c</sup>	0,0063 $\pm$ 0,0004 <sup>c</sup>	0,22 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,43 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	2,45 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>
24DK	324,7 $\pm$ 5,0 <sup>d</sup>	0,0070 $\pm$ 0,0004 <sup>d</sup>	0,20 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	0,36 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	1,99 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>
36DK	314,6 $\pm$ 6,2 <sup>e</sup>	0,0079 $\pm$ 0,0006 <sup>e</sup>	0,18 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,33 $\pm$ 0,02 <sup>f</sup>	1,37 $\pm$ 84,8 <sup>e</sup>
12DKP	349,2 $\pm$ 6,6 <sup>b</sup>	0,0056 $\pm$ 0,0003 <sup>b</sup>	0,24 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,45 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	2,91 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
24DKP	339,4 $\pm$ 5,6 <sup>c</sup>	0,0064 $\pm$ 0,0006 <sup>c</sup>	0,22 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,38 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	2,40 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>
36DKP	325,5 $\pm$ 8,2 <sup>d</sup>	0,0071 $\pm$ 0,0005 <sup>d</sup>	0,21 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,35 $\pm$ 0,03 <sup>ef</sup>	2,01 $\pm$ 0,25 <sup>d</sup>

<sup>1</sup> C= controle; P = Probiótico; 12DK, 24DK e 36 DK (12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio na dieta, respectivamente); e 12DKP, 24DKP e 36 DKP (incorporado 12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio e suplementação de probiótico na dieta, respectivamente). Letras distintas diferem entre si na coluna ( $p < 0,05$ ).

Na avaliação histológica da próstata, os grupos na qual foram incorporadas doses crescentes de dicromato de potássio os resultados revelaram aumento significativo da hiperplasia atípica (Tabela 2 e Figura 1A) e metaplasia escamosa (Tabela 2 e Figura 1 B) e a suplementação de probiótico reduziu significativamente esses parâmetros (Tabela 2 e Figura 2 A).

**Tabela 2** - Percentagens de escores, medianas e postos médios de hiperplasia atípica e metaplasia escamosa observadas na avaliação histológica da próstata de ratos Wistar intoxicados com doses crescentes de dicromato de potássio e com ou sem a suplementação do probiótico na dieta (n = 80).

Grupos	Escore Hiperplasia Atípica				Mediana	Posto médio
	0	1	2	3		
C	10 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 <sup>a</sup>	6,5
P	10 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 <sup>a</sup>	6,5
12DK	1(10%)	2(20%)	3(30%)	4(40%)	2,5 <sup>bc</sup>	28,8
24DK	0(0%)	1(10%)	2(20%)	7(70%)	1,5 <sup>bc</sup>	44,6
36DK	0(0%)	0(0%)	2(20%)	8(80%)	1,0 <sup>c</sup>	50,9
12DKP	2(20%)	2(20%)	2(20%)	4(40%)	2 <sup>b</sup>	28,8
24DKP	1(10%)	1(10%)	4(40%)	4(40%)	2,5 <sup>bc</sup>	42,9
36DKP	0(0%)	0(0%)	4(40%)	6(60%)	2 <sup>bc</sup>	42,8

Grupos	Escore Metaplasia Escamosa				Mediana	Posto médio
	0	1	2	3		
C	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	9,5
P	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	9,5
12DK	3(30%)	3(30%)	3(30%)	1(10%)	3 <sup>bc</sup>	32,4
24DK	0(0%)	1(10%)	8(80%)	1(10%)	1 <sup>bc</sup>	48,5
36DK	0(0%)	0(0%)	9(90%)	1(10%)	0,5 <sup>d</sup>	54,0
12DKP	5(50%)	2(20%)	2(20%)	1(10%)	2 <sup>bc</sup>	28,5
24DKP	0(0%)	6(60%)	2(20%)	2(20%)	2 <sup>cd</sup>	40,3
36DKP	0(0%)	4(40%)	4(40%)	2(20%)	3 <sup>cd</sup>	54,0

<sup>1</sup> C= controle; P= Probiótico; 12DK, 24DK e 36 DK (12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio na dieta, respectivamente); e 12DKP, 24DKP e 36 DKP (incorporado 12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio e suplementação de probiótico na dieta, respectivamente); \* Posto médio calculado para o teste de Kruskall-Wallis. Letras distintas diferem entre si na coluna (p<0,05).

Na vesícula seminal, os resultados das análises histológicas revelaram que a incorporação de doses crescentes de dicromato de potássio na dieta acarretou aumento significativo (p<0,05) de hiperplasia atípica (Figura 1C) e metaplasia escamosa (Figura 1D) e a suplementação com probiótico reduziu os efeitos das doses crescentes de dicromato de potássio na dieta (Tabela 3; Figuras 2 C e D).

Ao avaliar histologicamente os testículos duas alterações foram observadas: contração tubular (Figura 2 E) e degeneração do epitélio seminífero (Figura 2 F) e a suplementação do

probiótico reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) esses efeitos deletérios (Tabela 4; Figuras 3 C e D e).

**Tabela 3** - Percentagens de escores, medianas e postos médios de hiperplasia atípica e metaplasia escamosa observadas na avaliação histológica da vesícula seminal de ratos Wistar intoxicados com doses crescentes de dicromato de potássio e com ou sem a suplementação do probiótico na dieta (n = 80).

Grupos	Escore Hiperplasia Atípica				Mediana	Posto médio
	0	1	2	3		
C	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	7,5
P	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	7,5
12DK	0(0%)	0(0%)	3(30%)	7(70%)	3 <sup>c</sup>	45,4
24DK	0(0%)	0(0%)	2(20%)	8(80%)	3 <sup>c</sup>	48,6
36DK	0(0%)	0(0%)	1(10%)	9(90%)	3 <sup>c</sup>	51,8
12DKP	4(40%)	1(10%)	4(40%)	1(10%)	1,5 <sup>b</sup>	19,25
24DKP	0(0%)	0(0%)	3(30%)	7(70%)	3 <sup>c</sup>	45,4
36DKP	0(0%)	1(10%)	0(0%)	9(90%)	3 <sup>c</sup>	51,05

Grupos	Escore Metaplasia Escamosa				Mediana	Posto médio
	0	1	2	3		
C	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	12,5
P	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	12,5
12DK	1(10%)	7(70%)	0(0%)	2(20%)	1 <sup>bc</sup>	36
24DK	0(0%)	1(10%)	6(60%)	3(30%)	2 <sup>cd</sup>	50,15
36DK	0(0%)	0(0%)	3(30%)	7(70%)	3 <sup>d</sup>	50,15
12DKP	7(70%)	2(20%)	1(10%)	0(0%)	0 <sup>ab</sup>	19,35
24DKP	6(60%)	2(20%)	2(20%)	0(0%)	0 <sup>ab</sup>	22,6
36DKP	0(0%)	1(10%)	6(60%)	3(30%)	2 <sup>cd</sup>	62,6

<sup>1</sup> C= controle; P = Probiótico; 12DK, 24DK e 36 DK (12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio na dieta, respectivamente); e 12DKP, 24DKP e 36 DKP (incorporado 12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio e suplementação de probiótico na dieta, respectivamente); \* Posto médio calculado para o teste de Kruskal-Wallis. Letras distintas diferem entre si na coluna ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

O cromo é um metal pesado que ocorre na natureza nos estados de oxidação três e seis, sendo considerado altamente tóxico (RAHMAN; SINGH, 2019) e pode contaminar os alimentos e acarretar efeitos maléficos para a saúde humana e animal (BALALI-MOOD et al., 2021; LUO et al., 2021). Vários microrganismos ambientais são conhecidos há muito tempo por sua capacidade de se ligar a metais, mas menos estudadas são as bactérias gastrointestinais humanas. Estudos utilizando a suplementação na dieta de bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus* e *Bifidobacterium*, presentes principalmente no trato digestório, demonstraram a capacidade de se ligar e desintoxicar animais e humanos (LI et al., 2022; WU et



al., 2017). Portanto, os efeitos da suplementação de probiótico em ratos, como modelo pré-clínico, na próstata, vesícula seminal, testículo e níveis do hormônio testosterona, alimentados com dieta incorporada com doses crescentes de dicromato de potássio, como fonte de Cr VI (DOPSON et al., 2014; YOUNAN et al., 2019), é especialmente necessária, pois não observamos estudos sobre o impacto da suplementação do probiótico em ratos intoxicados com dicromato de potássio.

**Tabela 4** - Percentagens de escores, medianas e postos médios de contração tubular e degeneração do epitélio seminífero observados na avaliação histológica do testículo de ratos Wistar intoxicados com doses crescentes de dicromato de potássio e com ou sem a suplementação do probiótico na dieta (n = 80).

Grupo	Escore contração tubular				Mediana	Posto médio
	0	1	2	3		
C	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	9
P	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	9
12DK	1(10%)	0(0%)	8(80%)	1(10%)	2 <sup>bc</sup>	40,5
24DK	0(0%)	0(0%)	6(60%)	4(40%)	2 <sup>c</sup>	56,6
36DK	0(0%)	0(0%)	5(50%)	5(50%)	2,5 <sup>c</sup>	59,75
12DKP	5(50%)	0(0%)	5(50%)	0(0%)	1 <sup>ab</sup>	26,5
24DKP	1(10%)	0(0%)	9(90%)	0(0%)	2 <sup>bc</sup>	40,5
36DKP	0(0%)	0(0%)	9(90%)	1(10%)	2 <sup>bc</sup>	40,5

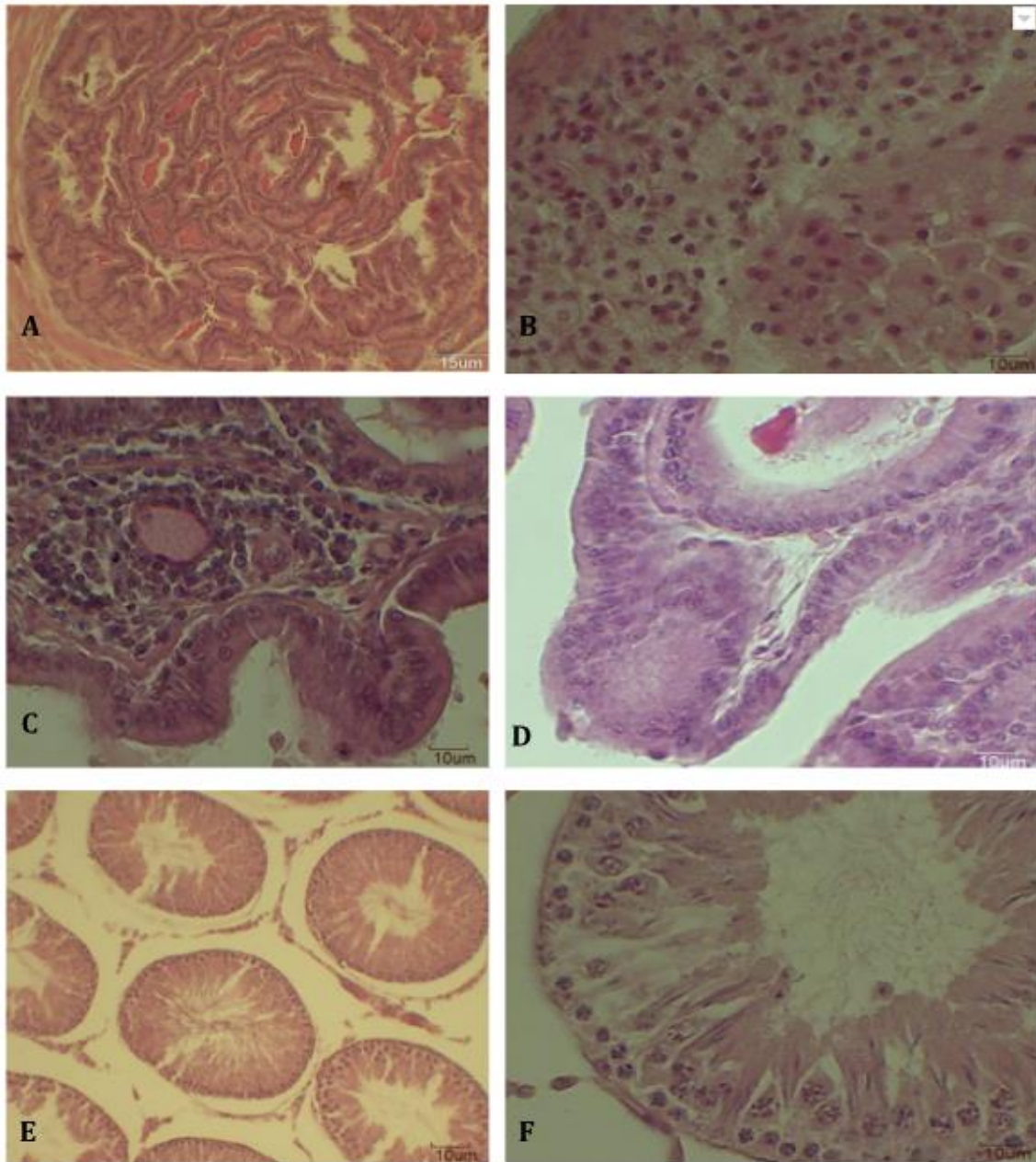
  

Grupo	Escore degeneração do epitélio seminífero				Mediana	Posto médio
	0	1	2	3		
C	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	13
P	10(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 <sup>a</sup>	13
12DK	4(40%)	5(50%)	1(10%)	0(0%)	1 <sup>bc</sup>	38,55
24DK	0(0%)	10(100%)	0(0%)	0(0%)	1 <sup>bc</sup>	51
36DK	0(0%)	8(80%)	2(20%)	0(0%)	1 <sup>c</sup>	56,5
12DKP	4(40%)	6(60%)	0(0%)	0(0%)	1 <sup>b</sup>	35,8
24DKP	3(30%)	7(70%)	0(0%)	0(0%)	1 <sup>bc</sup>	39,6
36DKP	0(0%)	10(100%)	0(0%)	0(0%)	1 <sup>bc</sup>	51

<sup>1</sup> C= controle; P = Probiótico; 12DK, 24DK e 36 DK (12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio na dieta, respectivamente); e 12DKP, 24DKP e 36 DKP (incorporado 12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio e suplementação de probiótico na dieta, respectivamente); \* Posto médio calculado para o teste de Kruskal-Wallis. Letras distintas diferem entre si na coluna (p<0,05).

**Figura 1** – Efeitos do dicromato de potássio na próstata, vesícula seminal e testículo de ratos na fase de crescimento: hiperplasia atípica da próstata (A); metaplasia escamosa da próstata (B);

hiperplasia atípica da vesícula seminal (C); metaplasia escamosa da vesícula seminal (D); contração tubular (E); e degeneração do epitélio seminífero (F).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

O mecanismo básico da toxicidade do Cr VI se dá em duas fases, sendo que o Cr VI administrado por via oral na dieta é convertido extracelularmente em Cr III e o processo depende do pH, da concentração de oxigênio, da presença de redutores apropriados e de mediadores que podem atuar como ligantes ou catalisadores (MONGA; FULKE; DASGUPTA, 2022). Após absorvido, o Cr VI reage espontaneamente com redutores intracelulares, como ascorbato, GSH, citocromo P450 redutase e superóxido dismutase, para gerar intermediários de vida curta como Cr V e/ou Cr IV, radicais livres e Cr III eventualmente. Devido à sua permeabilidade de membrana

limitada, o Cr III frequentemente fica retido dentro da célula e interage com o DNA (ZHITKOVICH, 2011). No estado de oxidação V, o crômio pode passar por um ciclo redox de um elétron para se regenerar a Cr VI, enquanto que simultaneamente gera ROS que interage facilmente com proteínas do DNA (CHEUNG; LAI; GU, 2006), desencadeando várias vias de sinalização apoptótica nas células (WANG et al., 2023; WU et al., 2017). Além disso, o Cr VI pode também alterar a homeostase redox criando ROS e esgotando os antioxidantes fisiológicos por meio da reação de Fenton (WANG et al., 2017; WATWE; KULKARNI; KULKARNI, 2021) e os altos níveis de ROS podem atacar os lipídios e o genoma, causando danos oxidativos e ligações cruzadas DNA-proteína, que levam à necrose celular (VILLALPANDO-RODRIGUEZ; GIBSON, 2021).

Em aves, os resultados demonstraram que o Cr VI, por ser solúvel em água, sofre transporte antes das reduções e acarreta graves danos aos órgãos vitais (SULJEVIĆ et al., 2021), o que pode explicar o aumento do peso relativo da próstata, diminuição da vesícula seminal, testículo e hormônio testosterona, assim como aumento das percentagens de escores de hiperplasia atípica, metaplasia escamosa na próstata e vesícula seminal e contração tubular e degeneração do epitélio seminífero dos testículos dos ratos intoxicados com doses crescentes de dicromato de potássio na dieta.

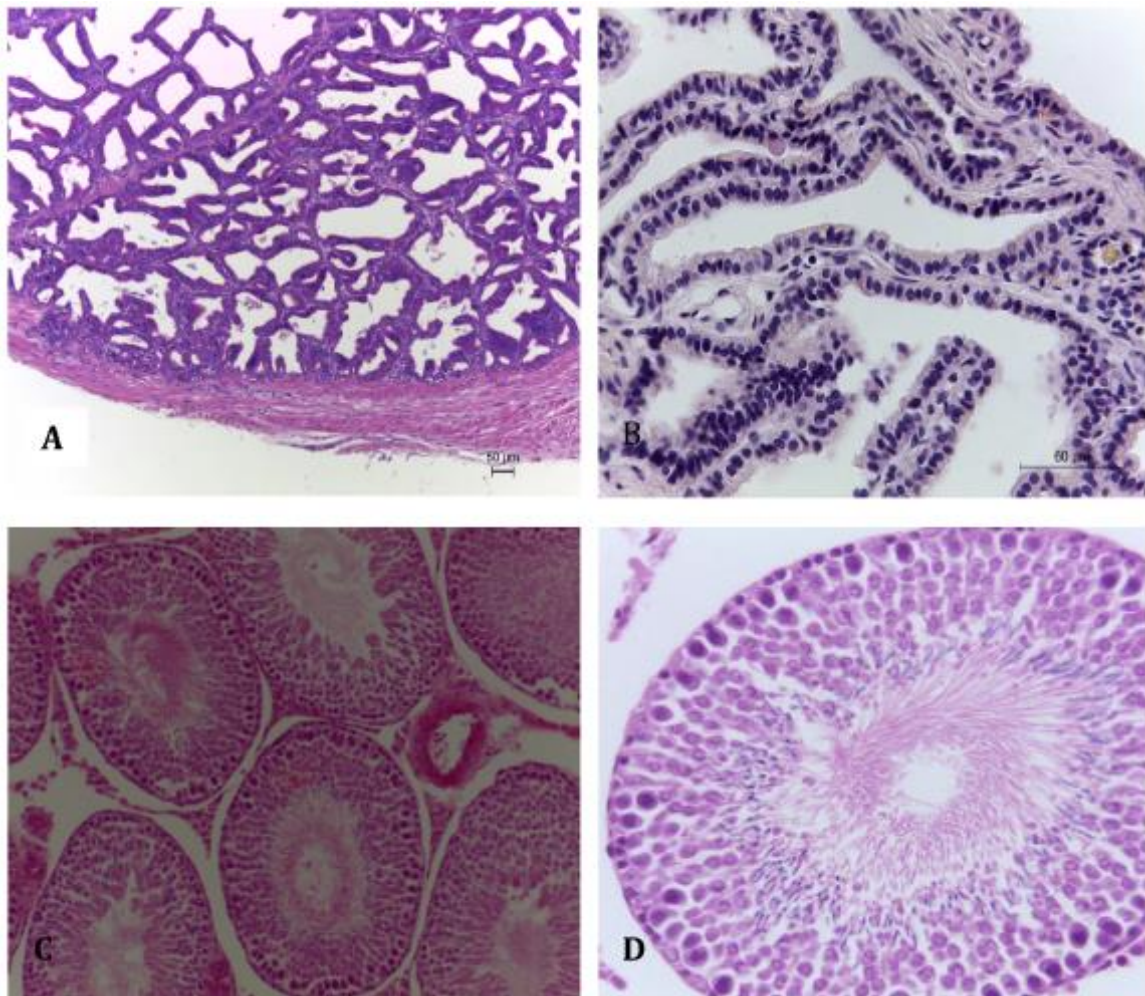
Apesar dos efeitos tóxicos nos ratos, não foram observados casos de mortalidade e ou de comportamento anormal decorrentes da toxicidade ao Cr VI incorporado na dieta, bem como lesões macroscópicas. Resultados semelhantes foram relatados pelo Programa Nacional de Toxicologia, que fornecem dados de dose resposta sobre os efeitos da exposição oral ao Cr VI com base em uma avaliação abrangente dos parâmetros toxicológicos, porém utilizaram como fonte de Cr VI o dicromato de sódio di-hidratado e administrado diluído na água potável como veículo, em doses de até 27,90 mg de Cr VI/Kg de peso corpóreo/dia (NTP, 2007, 2008). Com base no consumo da dieta monitorado ao longo desse estudo, calculamos as médias das doses diárias durante o período experimental de 90 dias, sendo a média equivalente a 0, 8,60, 17,19 e 25,79 mg de Cr VI/kg de peso corpóreo/dia (correspondendo ao consumo das dietas com as concentrações de 0, 0,12, 0,24, e 0,36 g de dicromato de potássio/Kg/dia, respectivamente), para os ratos machos em fase de crescimento.

A redução do peso corpóreo observada nesse estudo pode ser devida aos efeitos tóxicos ao Cr VI nas áreas de contato e na produção de espécies reativas, tais como radicais livres, ânions superóxido e radicais hidroxila resultante da reação do tipo Fenton (Fenton-like) de Cr VI, reagindo com peróxido de hidrogênio (RAHIM POURAN; ABDUL RAMAN; WAN DAUD, 2014) e acarretando úlceras no trato digestório (NTP, 2007). Os estudos que não relatam perda de peso corporal utilizaram doses diárias menores do que 17 mg de Cr VI/kg de peso vivo e usando como veículo a água (CASALEGNO et al., 2015; STANIEK et al., 2010; VIHOL et al., 2012). Além disso, o Cr demonstrou acarretar desequilíbrio na microbiota intestinal, disbiose, assim



como reduzir a diversidade e abundância microbiana benéfica, diminuindo a produção de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) e desencadeando ou agravando doenças no hospedeiro (BIST; CHOUDHARY, 2022; GAO et al., 2017).

**Figura 2** - Corte histológico dos efeitos na próstata, vesícula seminal e testículo de ratos na fase de crescimento alimentados com dieta suplementada com probiótico e incorporada com doses crescentes de dicromato de potássio (12, 24 e 36 mg/kg de dicromato de potássio e suplementação de probiótico na dieta, respectivamente). Próstata (A), Vesícula seminal (B) e Testículo na qual se observa limites celulares bem definidos e estrutura de aparência histológica normal (C e D).



**Fonte:** Elaborado pelo autor (2023).

Os efeitos benéficos no peso dos órgãos reprodutivos e níveis de testosterona nos grupos de ratos suplementados na dieta de microrganismos probióticos, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium thermophilum* e *Bifidobacterium longum*, podem ser decorrentes da alteração do pH intestinal ou sequestro do mineral, cromo, por bactérias intestinais (DE FLORA, 2000; TUMOLO et al., 2020), bem como, pela ação dos probióticos impedirem a

colonização de microrganismos patogênicos (KINROSS et al., 2008; LI et al., 2021; ZHANG et al., 2020). Além disso, isoladamente, o microrganismo *Lactobacillus casei* revelou possuir atividade antioxidante e capaz de diminuir o risco de acumulação de ROS durante a ingestão de alimentos, assim como as bactérias probióticas *L. acidophilus* e *Bifidobacterium longum* (ANDRADE, 2013; NAZARI et al., 2016; ZHANG et al., 2011).

Nesse estudo os resultados revelaram diminuição dose-dependente do peso relativo dos testículos e dos níveis de testosterona, indicando existir uma relação inversamente negativa entre os níveis de Cr e os níveis de testosterona, o que foi também verificado em ratos adultos (YOUSOFVAND; ZAREI; GHANBARI, 2013) e coelhos (YOUSEF et al., 2006). A diminuição de peso do testículo, geralmente é acompanhada da queda na concentração de testosterona, já que este hormônio é essencial para o crescimento dos órgãos sexuais acessórios (KAMEL; ATTIA, 2011), o que foi observado nesse estudo. Na forma de dicromato de potássio, concentração de 150 mg/L, durante um período experimental de 100 dias, os resultados revelaram efeitos tóxicos testiculares em ratos, impedindo a produção normal de esperma e hormônios reprodutivos (AKUNNA et al., 2012), assim como apoptose acarretada pela redução do Cr VI, redução das atividades enzimáticas esteroidogênicas e do hormônio luteinizante (LH) e conseqüentemente da testosterona (CHANDRA et al., 2007; MAROUANI et al., 2012) e atrofia testicular (ERNST; BONDE, 1992). Não foi identificado estudo utilizando de probiótico como redutor da ação tóxica do dicromato de potássio, como fonte de Cr VI, na reprodução de ratos machos na fase de crescimento. Entretanto, isoladamente, bactérias probióticas ácido lácticas purificadas de leite humano, demonstraram resultar em camundongos com maiores testículos e aumento dos níveis de testosterona no soro e ratos jovens alimentados com *Lactobacillus reuteri* apresentaram testículos grandes e um comportamento de macho dominante (POUTAHIDIS et al., 2014).

Estudos relatam que bactérias probióticas dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*, como as utilizadas nesse estudo, em contato com metais pesados, podem se adaptar e melhorar a resistência a níveis potencialmente mais altos de estresse oxidativo e inflamação induzidos pelo Cr VI (WU et al., 2017; YOUNAN et al., 2019), modulando benéficamente a microbiota intestinal do hospedeiro (NARDONE et al., 2010), através de uma série de vias de sinalização, incluindo o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), regulador silencioso de informação 1 (SIRT1), proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e proteína quinase C (PKC). No entanto, como geralmente são cepas específicas, provavelmente nem todas as vias de sinalização relacionadas aos mecanismos antioxidantes induzidos pelos probióticos foram identificadas e mais investigações são necessárias (FENG; WANG, 2020).

As diferenças nos resultados apresentados no presente estudo, em relação à literatura, podem ser devido à diferença na via de administração e ou do veículo utilizado para a administração do metal pesado, pois o Cr VI é reduzido a Cr III pelos sucos gástricos no interior do estômago, o que pode diminuir significativamente a sua capacidade de absorção por via oral

(CHANDRA et al., 2007). Os resultados benéficos da suplementação do probiótico nesse estudo podem ser decorrentes do efeito preventivo desses microorganismos contra doenças induzidas por radicais livres (GHONEIM; MOSELHY, 2014).

As imagens histológicas da vesícula seminal e próstata dos animais tratados com crômio exibem áreas ampliadas cheias de secreções. Isto pode ser causado pela geração de intermediários reativos e a inflamação que foi relacionada com a toxicidade ao Cr (FLEET et al., 1990). Observamos o aumento dose dependente da alteração hiperplasia atípica, com lesão focal e frequentemente multifocal, envolvendo alvéolos adjacentes e os ductos prostáticos e da relação citoplasma/núcleo, assim como não foi observado distúrbio da arquitetura alveolar normal, assim como a formação de capsula, o que também foi relatado em ratos machos com lesões proliferativas na próstata (MANN et al., 2012). Além disso, observamos o aumento dose dependente da alteração metaplasia escamosa e deva ser resultante da substituição do epitélio normal por outro, resultante de agressão tecidual por agente tóxico (FRITH et al., 2000).

A contração tubular e degeneração atrófica de células germinativas nos túbulos seminíferos no presente estudo são achados consistentes e que também foram observados em estudo utilizando o crômio nas formas trivalente e hexavalente (CHANDRA et al., 2007, 2010). Os sais de Cr VI, solúvel e insolúvel, como agente tóxico têm demonstrado induzir a transformação morfológica e neoplásica e mutagenicidade em células humanas e de ratos (PATIERNO; BANH; LANDOLPH, 1988). Nos grupos suplementados com o probiótico observamos atenuação dos efeitos tóxicos também nesses parâmetros.

Os resultados desse estudo destaca a capacidade do probiótico de mitigar o efeito tóxico do dicromato de potássio, como fonte de Cr VI. No entanto, esse estudo foi realizado em ratos, como modelo pré-clínico, sendo necessários mais estudos sobre a ação dos probióticos, isoladamente ou combinados e com isso construir uma base teórica sólida para a aplicação de probióticos na desintoxicação e proteção da saúde humana.

## CONCLUSÃO

A suplementação de probiótico na dieta de ratos machos jovens reduziram os efeitos tóxicos na próstata, vesícula seminal, testículo e concentração de testosterona intoxicados com dicromato de potássio, como fonte de crômio VI. Além disso, a administração subcrônica na dieta de doses crescentes de dicromato de potássio acarretou efeitos nocivos e dose-dependentes na próstata, vesícula seminal, testículo e nos níveis plasmáticos do hormônio testosterona. Mais estudos são necessários para aumentar o nível de evidencia e aprofundar a ação dos probióticos como mitigadores de efeitos tóxicos desse metal pesado.

## CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Conceberam o estudo, desenho experimental e pesquisas bibliográficas: JMMC, HRSC, LWO e HBN. HBN, LFR, SCB e RK realizaram o experimento, avaliação histológica e a análise estatística. JMMC, HRSC, LWO e HBN analisaram e interpretaram os dados e redigiram o manuscrito. Forneceram suporte para todos os experimentos: HBN, LWO e HRSC. Revisaram o manuscrito LWO, RK, HRSC e LFR. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

## REFERÊNCIAS

ACHARYA, U. R. et al. Testicular dysfunction and antioxidative defense system of Swiss mice after chromic acid exposure. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 22, n. 1, p. 87–91, jul. 2006.

AKUNNA, G. G. et al. Ameliorative effect of Moringa oleifera (drumstick) leaf extracts on chromium-induced testicular toxicity in rat testes. **World Journal of Life Sciences and Medical Research**, v. 2, n. 1, p. 20–26, 2012.

ANDRADE, S. D. E. **Efeitos da administração intragástrica de Bifidobacterium longum subsp. infantis CHCC2228 em um modelo murino agudo de colite ulcerativa induzida por sulfato sódico de dextrana (DSS)**. [s.l.] UFMG, 2013.

BALALI-MOOD, M. et al. Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 227, 13 abr. 2021.

BIST, P.; CHOUDHARY, S. Impact of Heavy Metal Toxicity on the Gut Microbiota and Its Relationship with Metabolites and Future Probiotics Strategy: a Review. **Biological Trace Element Research**, v. 200, n. 12, p. 5328–5350, 7 dez. 2022.

BREMER NETO, H. et al. Determinação de rotina do crômio em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 691–697, 2005.

CASALEGNO, C. et al. **Collate literature data on toxicity of Chromium (Cr) and Nickel (Ni) in experimental animals and humans**. Disponível em: <<http://www.chemserviceglp.com/assets/Uploads/EFSA-Scientific-Report.pdf>>. Acesso em: 8 jan. 2016.

CHANDRA, A. K. et al. Effect of curcumin on chromium-induced oxidative damage in male reproductive system. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 24, n. 2, p. 160–166, set. 2007.

CHANDRA, P. R. et al. Distribution of Bio-accumulated Cd and Cr in two Vigna species and the Associated Histological Variations. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 6, p. 4–12, 2010.



CHEUNG, K. H.; LAI, H. Y.; GU, J. D. Membrane-associated hexavalent chromium reductase of *Bacillus megaterium* TKW3 with induced expression. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 6, p. 855–862, 2006.

DE FLORA, S. Threshold mechanisms and site specificity in chromium(VI) carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 4, p. 533–541, abr. 2000.

DOPSON, M. et al. Metal resistance or tolerance? Acidophiles confront high metal loads via both abiotic and biotic mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. APR, p. 157, 9 abr. 2014.

ERNST, E.; BONDE, J. P. Sex hormones and epididymal sperm parameters in rats following sub-chronic treatment with hexavalent chromium. **Human & experimental toxicology**, v. 11, n. 4, p. 255–258, jul. 1992.

FENG, T.; WANG, J. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. **Gut Microbes**, v. 12, n. 1, p. 1801944, 9 nov. 2020.

FIELD, A. **Descobrimo a estatística usando o SPSS**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

FLEET, J. C. et al. Induction of hepatic metallothionein by intraperitoneal metal injection: an associated inflammatory response. **The American journal of physiology**, v. 258, n. 6 Pt 1, p. G926-33, jun. 1990.

FRITH, C. H. et al. Non-proliferative lesions of the endocrine system in rats. In: **Guides for Toxicologic Pathology**. Washington, D.C.: STP/ARP/AFIP, 2000. p. 22.

GAO, B. et al. Multi-Omics Reveals that Lead Exposure Disturbs Gut Microbiome Development, Key Metabolites, and Metabolic Pathways. **Chemical Research in Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 996–1005, 17 abr. 2017.

GHONEIM, M. A. E.; MOSELHY, S. S. Impact of probiotic-supplemented diet on the expression level of lactate dehydrogenase in the leukocytes of rabbits. **Toxicology and industrial health**, v. 30, n. 3, p. 225–232, abr. 2014.

HARRELL, F. E.; R DEVELOPMENT CORE TEAM; HARRELL, F. E. R Software. In: **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna: [s.n.]. p. 127–142.

JOFFE, M. Infertility and environmental pollutants. **British medical bulletin**, v. 68, n. 1, p. 47–70, 2003.

KAMEL, K. I.; ATTIA, Y. A. Effect of dietary lecithin supplementation on improvement semen quality, reproductive performance plasma biochemical traits and antioxidant changes in rabbit bucks. **Egyptian Poultry Science Journal**, v. 31, p. 667–680, 2011.

KANNAN, A. et al. Reduction of chromium-vi by chromium resistant lactobacilli: A prospective bacterium for bioremediation. **Toxicology International**, v. 19, n. 1, p. 25,



jan. 2012.

KHALAF, A. A. et al. Rosmarinic acid attenuates chromium-induced hepatic and renal oxidative damage and DNA damage in rats. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 34, n. 11, p. e22579, 14 nov. 2020.

KINROSS, J. M. et al. The human gut microbiome: implications for future health care. **Current gastroenterology reports**, v. 10, n. 4, p. 396–403, ago. 2008.

LI, A. et al. Environmental hexavalent chromium exposure induces gut microbial dysbiosis in chickens. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 227, p. 112871, 20 dez. 2021.

LI, H. et al. Effect of Cr(VI) exposure on sperm quality: human and animal studies. **The Annals of occupational hygiene**, v. 45, n. 7, p. 505–511, out. 2001.

LI, P.-Y. et al. [Active components of *Descurainia sophia* improve lung permeability in rats with allergic asthma by regulating airway inflammation and epithelial damage]. **Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica**, v. 47, n. 4, p. 1009–1016, 15 fev. 2022.

LUO, L. et al. Heavy Metal Contaminations in Herbal Medicines: Determination, Comprehensive Risk Assessments, and Solutions. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 14 jan. 2021.

MANN, P. C. et al. International Harmonization of Toxicologic Pathology Nomenclature: An Overview and Review of Basic Principles. **Toxicologic Pathology**, v. 40, n. 4 Suppl, p. 7S-13S, 1 jun. 2012.

MAROUANI, N. et al. Effects of hexavalent chromium on reproductive functions of male adult rats. **Reproductive biology**, v. 12, n. 2, p. 119–133, jul. 2012.

MONGA, A.; FULKE, A. B.; DASGUPTA, D. Recent developments in essentiality of trivalent chromium and toxicity of hexavalent chromium: Implications on human health and remediation strategies. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 7, p. 100113, 1 ago. 2022.

NARDONE, G. et al. Protective effects of *Lactobacillus paracasei* F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 299, n. 3, p. G669–G676, set. 2010.

NAZARI, F. et al. Antioxidant Effect of *Lactobacillus acidophilus* as a Probiotic at Different Time Intervals. **Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection**, v. 3, n. 1, p. 34575–34575, 30 jan. 2016.

NTP. **NTP technical report on the toxicity studies of sodium dichromate dihydrate (CAS No. 7789-12-0) administered in drinking water to male and female F344/N rats and B6C3F1 mice and male BALB/c and am3-C57BL/6 mice.** Disponível em: <[https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st\\_rpts/tox072.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st_rpts/tox072.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2016.

NTP. **NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of sodium dichromate dihydrate (CAS No. 7789-12-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies).**

PARK, J. H. Contrasting effects of Cr(III) and Cr(VI) on lettuce grown in hydroponics and soil: Chromium and manganese speciation. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115073, 1 nov. 2020.

PATIERNO, S. R.; BANH, D.; LANDOLPH, J. R. Transformation of C3H/10T1/2 mouse embryo cells to focus formation and anchorage independence by insoluble lead chromate but not soluble calcium chromate: relationship to mutagenesis and internalization of lead chromate particles. **Cancer research**, v. 48, n. 18, p. 5280–5288, 15 set. 1988.

POUTAHIDIS, T. et al. Probiotic microbes sustain youthful serum testosterone levels and testicular size in aging mice. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e84877, 2 jan. 2014.

RAHIM POURAN, S.; ABDUL RAMAN, A. A.; WAN DAUD, W. M. A. Review on the application of modified iron oxides as heterogeneous catalysts in Fenton reactions. **Journal of Cleaner Production**, v. 64, p. 24–35, fev. 2014.

RAHMAN, Z.; SINGH, V. P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 7, p. 419, 8 jul. 2019.

RODRIGUES, L. E. et al. Prebiotics mannan-oligosaccharides accelerate sexual maturity in rats: A randomized preclinical study. **Veterinary World**, v. 14, n. 5, p. 1210–1219, 20 maio 2021.

SAOULI, A. et al. Attenuating effects of selenium and zinc against hexavalent chromium-induced oxidative stress, hormonal instability, and placenta damage in preimplanted rats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 1, p. 1–30, 5 abr. 2023.

ŚREDNICKA, P. et al. Probiotics as a biological detoxification tool of food chemical contamination: A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 153, p. 112306, 1 jul. 2021.

STANIEK, H. et al. Genotoxicity assessment of chromium(III) propionate complex in the rat model using the comet assay. **Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 48, n. 1, p. 89–92, jan. 2010.

SUBRAMANIAN, S. et al. Reproductive toxicity of chromium in adult bonnet monkeys (*Macaca radiata* Geoffrey). Reversible oxidative stress in the semen. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 215, n. 3, p. 237–49, 15 set. 2006.

SULJEVIĆ, D. et al. Assessing hexavalent chromium tissue-specific accumulation patterns and induced physiological responses to probe chromium toxicity in *Coturnix japonica* quail. **Chemosphere**, v. 266, p. 129005, 1 mar. 2021.

TUMOLO, M. et al. Chromium Pollution in European Water, Sources, Health Risk, and Remediation Strategies: An Overview. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 15, p. 5438–5461, 28 jul. 2020.

VIHOL, P. D. et al. Effects of sodium dichromate on haemato-biochemical parameters in Wistar rats. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 7, n. 1, p. 58–63, 1 jan. 2012.

VILLALPANDO-RODRIGUEZ, G. E.; GIBSON, S. B. Reactive Oxygen Species (ROS) Regulates Different Types of Cell Death by Acting as a Rheostat. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, p. 1–17, 14 ago. 2021.

WANG, R. et al. The role of mitochondrial dynamics imbalance in hexavalent chromium-induced apoptosis and autophagy in rat testis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 374, p. 110424, 1 abr. 2023.

WANG, Y. et al. Carcinogenicity of chromium and chemoprevention: a brief update. **OncoTargets and Therapy**, v. Volume 10, p. 4065–4079, 16 ago. 2017.

WANG, Z. et al. Nanoadduct relieves: Alleviation of developmental toxicity of Cr(VI) due to its spontaneous adsorption to Mg(OH)<sub>2</sub> nanoflakes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 287, p. 296–305, 28 abr. 2015.

WATWE, V. S.; KULKARNI, S. D.; KULKARNI, P. S. Cr(VI)-Mediated Homogeneous Fenton Oxidation for Decolorization of Methylene Blue Dye: Sludge Free and Pertinent to a Wide pH Range. **ACS Omega**, v. 6, n. 41, p. 27288–27296, 19 out. 2021.

WU, G. et al. Gut remediation: a potential approach to reducing chromium accumulation using *Lactobacillus plantarum* TW1-1. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 15000, 8 nov. 2017.

WU, Y. et al. Hexavalent chromium intoxication induces intrinsic and extrinsic apoptosis in human renal cells. **Molecular Medicine Reports**, v. 21, n. 2, p. 851–857, 16 dez. 2019.

YOUNAN, S. et al. Chromium(VI) bioremediation by probiotics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 12, p. 3977–3982, set. 2016.

YOUNAN, S. et al. Probiotic mitigates the toxic effects of potassium dichromate in a preclinical study: a randomized controlled trial. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 183–190, 15 jan. 2019.

YOUSEF, M. I. et al. Ameliorating effect of folic acid on chromium(VI)-induced changes in reproductive performance and seminal plasma biochemistry in male rabbits. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 21, n. 3, p. 322–328, abr. 2006.

YOUSOFVAND, N.; ZAREI, F.; GHANBARI, A. Exogenous testosterone, finasteride and castration effects on testosterone, insulin, zinc and chromium in adult male rats. **Iranian biomedical journal**, v. 17, n. 1, p. 49–53, 2013.

ZHANG, S. et al. Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 29, p. 5194–5201, 9 dez. 2011.

ZHANG, Z. et al. Long-term hexavalent chromium exposure facilitates colorectal cancer in mice associated with changes in gut microbiota composition. **Food and Chemical Toxicology**, v. 138, p. 111237, 1 abr. 2020.

ZHITKOVICH, A. Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. **Chemical Research in Toxicology**, v. 24, n. 10, p. 1617–1629, 17 out. 2011.