



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA

Jessyca Rodrigues Silva

**Avaliação da lectina tarina na recuperação da
mielossupressão murina induzida por carboplatina**

Dissertação de Mestrado submetida a
Universidade Federal Fluminense visando à obtenção do grau de
Mestre em Ciências e Biotecnologia

Orientador: Mauricio Afonso Vericimo
Coorientadores: Caroline Souza Barros e Marco Antônio Frota Lima



Niterói
2026

JESSYCA RODRIGUES SILVA

**AVALIAÇÃO DA LECTINA TARINA NA RECUPERAÇÃO DA
MIELOSSUPRESSÃO MURINA INDUZIDA POR CARBOPLATINA**

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Imunologia das Doenças Granulomatosas (LIDIG), do Departamento de Imunobiologia do Instituto de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia, Universidade Federal Fluminense.

Apoio Financeiro: CAPES

Dissertação de Mestrado
submetida a Universidade Federal
Fluminense como requisito parcial
visando à obtenção do grau de
Mestre em Ciências e Biotecnologia

Orientador: Mauricio Afonso Vericimo

Coorientador: Caroline Souza Barros e Marco Antônio Frota Lima

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica automática - SDC/BCV
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S586a Silva, Jessyca Rodrigues
Avaliação da lectina tarina na recuperação da
mielossupressão murina induzida por carboplatina / Jessyca
Rodrigues Silva. - 2026.
78 f.: il.

Orientador: Mauricio Afonso Vericimo.
Coorientador: Caroline Souza Barros.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,
Instituto de Biologia, Niterói, 2026.

1. Imunologia. 2. Lectina. 3. Imunossupressão. 4.
Produção intelectual. I. Afonso Vericimo, Mauricio,
orientador. II. Souza Barros, Caroline, coorientadora. III.
Universidade Federal Fluminense. Instituto de Biologia. IV.
Título.

CDD - XXX

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

AVALIAÇÃO DA LECTINA TARINA NA RECUPERAÇÃO DA MIELOSSUPRESSÃO MURINA INDUZIDA POR CARBOPLATINA

Dissertação de Mestrado
submetida a Universidade Federal
Fluminense como requisito parcial
visando à obtenção do grau de
Mestre em Ciências e Biotecnologia

Banca Examinadora:

Mauricio Afonso Vericimo – Departamento de Imunobiologia – Universidade Federal Fluminense - UFF (Orientador/Presidente)

Cassiano Felipe Gonçalves de Albuquerque – Departamento de Ciências Fisiológicas – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

Patricia Ribeiro Pereira – Departamento de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Renata de Almeida – Instituto Oswaldo Cruz - IOC/Fiocruz

Roberto Stefan de Almeida Ribeiro – Departamento de Imunopatologia – Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ (Suplente)

“Three words, large enough to tip the world. I remember you.”
— V.E. Schwab, *The Invisible Life of Addie LaRue*

Em memória de Nick

AGRADECIMENTOS

Este trabalho conta com a contribuição direta e indireta de muitas pessoas sem as quais eu não poderia chegar tão longe e sou profundamente grata:

A minha mãe, que é meu maior exemplo de força e coragem. Obrigada por sonhar os meus sonhos e se sacrificar tanto para que eu pudesse ser capaz de realizá-los. Você foi forte mesmo quando não tinha mais forças, acreditou quando eu desacreditei e sempre me encorajou a ter fé, sobretudo em mim mesma. Sou muito grata por nunca me deixar desistir, por lutar comigo e algumas vezes por mim em cada batalha. Tudo o que eu sou é um reflexo do seu amor e resiliência, e todas as minhas conquistas também são suas. Por você, perseverei em todos os meus sonhos, e o maior deles é poder te ver sempre feliz e realizada. Te amo infinito!

A Nick, minha alma gêmea e a melhor parte de mim, que por 16 anos me amou incondicionalmente, mesmo quando eu não fui capaz de me amar. Obrigada por tornar a minha vida tão especial, por me acolher e me confortar desde a infância, por todos os afagos, latidos, incentivos silenciosos e pela companhia em inúmeras noites de estudo; por ser o espectador fiel em todas as minhas prévias de apresentações, o ouvinte mais atento em todos os meus desabafos e por ter estado ao meu lado em cada passo da minha jornada. Mesmo no fim, sou grata por me ensinar que a vida, ainda que frágil, é preciosa e que a dor da saudade existe porque você é infinitamente amado — e, por isso, será infinitamente sentido. Hoje, infelizmente, você acompanha o fim desta jornada de outro lugar, mas permanece próximo em meu coração. Enquanto a lembrança existir, a vida perdura. Que você seja lembrado e permaneça comigo em cada conquista.

A minha gatinha tigrinha que entrou na minha vida há pouco tempo, mas se tornou uma grande fonte de amor, conforto e alegria. Que possamos compartilhar muitas vitórias juntas.

A Gabriel, uma das amizades mais sólidas que tenho. Muito obrigada por ser um ponto de apoio que nunca me deixa cair; por chorar minhas tristezas, ouvir meus muitos desabafos durante essa trajetória e por sempre me acolher com uma palavra de conforto e muito afeto, mesmo quando eu não sabia que precisava. Sinto muito orgulho de quem nos tornamos, florescendo e nos apoiando ao longo desses 14 anos repletos de amor e significado. Você é muito amado, significa mais que o mundo na minha vida e me enche de alegria saber que ainda vamos conquistar muitas coisas juntos.

A Ana, que esteve comigo em todos os momentos dessa jornada. Que privilégio poder ter uma conexão tão especial e rara com alguém como você. Sou muito grata pelo tanto que compartilhamos: sejam hobbies, pensamentos, algumas das memórias mais felizes que tenho e alguns momentos não tão felizes, mas ainda assim significativos.

Obrigada por ouvir cada desabafo, por me aconselhar todas as vezes em que me senti perdida, por me incentivar em momentos de insegurança, trazer razão em momentos de surto, estar presente em cada lembrança feliz desde que nos aproximamos e por me segurar quando eu desabei. O mestrado pode ser considerado uma fase de muita turbulência, mas que sorte a minha ter vivido uma aventura cheia de ótimos momentos porque você estava lá vivendo o PPBI comigo. Eu não seria tão eu se não existisse você, tão parecida comigo e ao mesmo tempo tão singular, sendo uma grande inspiração. Assim como você torce por mim, estarei sempre torcendo por todas as suas conquistas, porque sua felicidade também é a minha felicidade. O capítulo PPBI se encerra, mas ainda teremos uma longa jornada anijess colecionando muitas vitórias e memórias cada vez mais felizes. Te amo <limitless>, more!

A Lucas, meu irmão de coração que foi muito importante em toda a minha trajetória acadêmica, e embora algumas vezes tenha acompanhado um pouco mais de longe, continuou sendo um apoio e incentivo muito importante para mim durante o mestrado. Obrigada por estar presente nos momentos mais necessários, por me ouvir e tornar minha vida repleta de amor e afeto. Te amo muito e tenho muito orgulho de você e de todas as suas conquistas, sua força me inspira a ser forte.

A alguns amigos que não acompanharam tão de perto todos os altos e baixos do mestrado, mas que me encham de alegria e são importantes na minha vida: Daniel, Fernando, Clara, Chris e Victor. Sou grata por todas as conversas, vivências e coisas boas que compartilhamos. Muito obrigada por tornarem meu coração mais leve.

Um agradecimento muito especial ao meu grupo de pesquisa, principalmente ao Mauricio, meu orientador. Obrigada por me acolher e ensinar tanto com muita paciência e leveza.

A Maria Paula, que também me ensinou muito desde o primeiro dia no laboratório e ao longo dessa trajetória, tornou-se uma amiga muito necessária que contribuiu fortemente para que eu pudesse chegar onde cheguei. Obrigada por todas as conversas, conselhos, por chorarmos e rirmos juntas, além do apoio incondicional em todas as etapas desse projeto. Você é muito especial e te levarei comigo mesmo fora da UFF.

A Bruna, que me ajudou e me apoiou muito nas etapas finais deste trabalho. Parte dos resultados também refletem o seu esforço, e sou muito grata por ter compartilhado essa jornada com alguém tão dedicada e companheira. Que você brilhe muito na sua jornada com a tarina também.

Além da Maria e da Bruna, sou grata a Renata, Bia, Julia, Juliana, Fabiana e Mariana. Agradeço muito por todo o auxílio durante a pesquisa, seja em experimentos, companhia, conversas e vivências. Desejo muito sucesso na jornada de todas.

Além do meu grupo de pesquisa, sou grata ao LAABBM por todo o apoio, em especial a Vânia e Patricia. Obrigada pelo acolhimento, apoio e ensinamentos que possibilitaram a continuidade desse projeto. Também sou grata a Livia e Thayna, por toda a companhia e ajuda durante os experimentos na UFRJ.

Agradeço também a banca examinadora e ao revisor pela paciência e disponibilidade, além da Universidade Federal Fluminense, que foi a minha segunda casa desde a graduação, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia (PPBI).

Por fim, me agradeço imensamente por toda a dedicação, trabalho e esforço que empreguei neste trabalho sem perder minha essência e meus hobbies. Agradeço a cada experiência vivida e sou grata por ser fã de artistas como o NCT, TXT, Stray Kids e Red Velvet, que me acompanharam por meio de suas obras e shows durante todos os experimentos, especialmente o Doyoung que me cura através das suas músicas e me inspira muito a ser uma pessoa melhor.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	XI
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	XIII
LISTA DE TABELAS E QUADROS	XVI
RESUMO.....	XVII
ABSTRACT	XVIII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 MEDULA ÓSSEA	1
1.1.1 HEMATOPOIESE	1
1.1.2 MIELOSSUPRESSÃO	9
1.2 ATIVIDADE ANTITUMORAL DOS COMPOSTOS DE PLATINA	12
1.3 COLOCASIA ESCULENTA.....	18
1.3.1 TARINA.....	21
2. OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 TARO E PREPARAÇÃO DO EXTRATO BRUTO DA <i>COLOCASIA ESCULENTA</i>	26
3.2 PURIFICAÇÃO DA TARINA	26
3.3 ANIMAIS	27
3.6 CONTAGEM DE CÉLULAS TOTAIS DO SANGUE PERIFÉRICO:	28
3.7 OBTENÇÃO DAS SUSPENSÕES CELULARES DA MEDULA ÓSSEA E MIELOGRAMA.....	28
3.8 ANÁLISE FENOTÍPICA DAS POPULAÇÕES CELULARES DA MEDULA ÓSSEA POR CITOMETRIA DE FLUXO	28
3.11 MODELO EXPERIMENTAL DE MIELOSSUPRESSÃO COM CARBOPLATINA	29
3.12 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA EM CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA	30
3.15 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA SOBRE PRECURSORES HEMATOPOIÉTICOS REMANESCENTES DE CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA	31
3.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
4. RESULTADOS.....	34

4.1 MODELO EXPERIMENTAL DE MIELOSSUPRESSÃO COM CARBOPLATINA	34
4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA EM CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA	35
4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA SOBRE PRECURSORES HEMATOPOIÉTICOS REMANESCENTES DE CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA	39
5. DISCUSSÃO	45
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
6.1 CONCLUSÃO	50
6.2 PERSPECTIVAS	50
7. SEÇÃO PÓS TEXTUAL	52
7.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
7.2 ANEXOS	59

LISTA DE ABREVIATURAS

CD	Cluster of Differentiation
CD34	Cluster of Differentiation 34
CD41	Cluster of Differentiation 41
CD48	Cluster of Differentiation 48
CD49b	Cluster of Differentiation 49b
CD90 (Thy-1)	Thymocyte Differentiation Antigen 1
CD135 (Flt3)	FMS-like Tyrosine Kinase 3
CD150	Cluster of Differentiation 150
CD201	Endothelial Protein C Receptor
CD229	Signaling Lymphocytic Activation Molecule Family Member 3
CEUA	Comissão de Ética na Utilização Animal
CFU	Unidade Formadora de Colônia
CFU-G	Unidade Formadora de Colônia Granulocítica
CFU-GM	Unidade Formadora de Colônia Granulócito Macrofágica
CFU-M	Unidade Formadora de Colônia Macrofágicas
3c-Kit	Receptor do Fator de Células Tronco
DMEM	Meio Dulbecco MEM
EDTA	Acido etilenodiamino tetra-acético
Flk2 / Flt3	FMS-like Tyrosine Kinase z3
FSC	Foward Scatter
G-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos macrófagos
GNA	<i>Galanthus nivalis</i> Agglutinin
HSC / CTHs	Hematopoietic Stem Cell(s)
IFNs	Interferons
IL-6	Interleucina 6

kDa	Unidade de medida em quilo daltons
lin ⁻	Linhagem Negativa
LMPP / LMPPs	Progenitor linfóide multipotente
LSK	Lin ⁻ Sca-1 ⁺ c-Kit ⁺
LT-CTHs	Células Tronco hematopoiéticas de longa duração
MegE	Megacariocítico/Eritroide
MGDGs	Monogalactosyldiacylglycerols
MPP / MPPs	Progenitor(es) Multipotente(s)
NAL	Núcleo de Animais de Laboratório
NH ₃	Amônia
PBS	Salina Tamponada com Fosfato
p53	Proteína supressora tumoral p53
Pt	Platina
RNA	Ácido Ribonucleico
RPMI	Meio Roswell Park Memorial Institute
Sca-1	Stem Cell Antigen-1
SDS-PAGE	Gel de Poliacrilamida contendo Dodecil Sulfato de Sódio
SFB	Soro Fetal Bovino
SLAM	Signaling Lymphocytic Activation Molecule
SSC	Side Scatter
ST-CTHs	Células Tronco hematopoiéticas de curta duração
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
TPO-RAs	Thrombopoietin Receptor Agonists
TPS-1 / TPS-2	Taro Polysaccharides 1 e 2

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Osso e nicho hematopoiético. A partir dos seios venosos da medula óssea é encontrado o nicho hematopoiético. A célula tronco hematopoiética comumente localiza-se perto da região endotelial da medula óssea. Os progenitores diferenciam-se em células mais especializadas e adentram o endotélio alcançar a corrente sanguínea. Células estromais fibroblastóides fornecem suporte ao nicho. JUNQUEIRA e CARNEIRO (13ª edição, 2017).	3
Figura 2: Hierarquia da hematopoiese. A célula tronco hematopoiética possui constante renovação na medula óssea, diferenciando-se em progenitores mieloides ou linfoides, que são altamente proliferativos. Os progenitores se diferenciam em diferentes tipos de células que ocupam a base da hierarquia, mais maduras e especializadas, contudo, possuindo proliferação limitada e pouco capacidade de renovação. Biorender (2026)	6
Figura 3: Estrutura química da carboplatina e cisplatina. A carboplatina é considerada um composto de segunda geração derivado da cisplatina, portanto, apresenta estrutura química semelhante. Adaptado de SOUSA <i>et al.</i> , 2021.	14
Figura 4: Via de ação da carboplatina. A carboplatina adentra a célula através do transporte ativo por transportadores de cobre ou difusão passiva, sofrendo uma hidrólise e assim penetrando o núcleo da célula, onde formará ligações cruzadas com o DNA, formando adutos que causam a apoptose e interrupção do ciclo celular. Biorender (modificado, 2025).	16
Figura 5: Caracterização do taro (<i>Colocasia esculenta</i>). Biorender (2026).	19
Figura 6: Representação cristalográfica da organização tetramérica da tarina (~47 kDa), composta por dois heterodímeros idênticos. Cada heterodímero é formado pelas cadeias A (~11,9 kDa) e B (~12,7 kDa), originadas a partir do processamento proteolítico do precursor codificado pelo gene tar1. (PEREIRA <i>et al.</i> , 2016)	22
Figura 7: Protocolo de purificação realizado. Biorender (2025).	27
Figura 8: Desenho experimental da mielossupressão por carboplatina. Biorender (2026)	30
Figura 9: Desenho experimental do efeito da tarina em camundongos mielossuprimidos por carboplatina. Biorender (2026)	31
Figura 10: Desenho experimental do efeito da tarina sobre precursores hematopoiéticos de animais mielossuprimidos por carboplatina. Biorender (2026)	32

Figura 11: Estratégia de análise quantitativa das micrografias utilizando o software ImageJ. Biorender (2026)	33
Figura 12: Sobrevivência e mielossupressão induzida por carboplatina. (A) Curva de sobrevivência dos camundongos monitorada por 10 dias. (B) Análise quantitativa dos leucócitos circulantes no sangue periférico dos grupos controle e carboplatina nas concentrações de 50mg/kg e 100mg/kg. Os experimentos utilizaram 15 animais (n=5 por grupo). Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns – não significativo.....	34
Figura 13: Sangue periférico de animais mielossuprimidos e tratados com tarina. Análise quantitativa dos leucócitos circulantes no sangue periférico dos grupos controle (TRIS-HCL 10 mM), tarina 0,2mg, carboplatina 50mg/Kg e carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$	35
Figura 14: Citometrias de fluxo de animais mielossuprimidos e tratados com tarina. Análise dos parâmetros de tamanho (FSC) e complexidade (SSC) de células do fêmur de animais mielossuprimidos no 3º dia após o tratamento. (A) Representação das populações identificadas através de contour plot. (A1) Controle; (A2) carboplatina 50mg/Kg, (A3) tarina 0,2mg (A4) carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. (B) Análise quantitativa da região R1, (C) Análise quantitativa da região R2, (D) Análise quantitativa da região R3. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0002$ $p < 0.0001$	37
Figura 15: Citometrias de fluxo de animais mielossuprimidos e tratados com tarina. Dot plots representativos das frequências de C-kit (FL2: PE) e Sca-1 (FL3: APC). (A) controle, (B) carboplatina 50mg/Kg, (C) tarina 0,2mg (D) carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. Análise de relação entre c-Kit (eixo y) e Sca-1 (eixo x) de células do fêmur de animais mielossuprimidos, coletadas no 3º dia após tratamento. Animais do grupo carboplatina registraram um aumento considerável de Sca-1 e redução de c-Kit no 3º dia de tratamento. Animais do grupo carboplatina + tarina registraram menor decaimento de Sca-1 e preservação parcial de c-Kit, sugerindo atenuação ao dano provocado pela mielossupressão. (Q1) c-Kit+ Sca-1- (Q2) c-Kit+ Sca-1+ (Q3) c-Kit- Sca-1+ (Q4) c-Kit- Sca-1-	38
Figura 16: Células mielossuprimidas estimuladas com tarina. (A) Micrografias representativas do cultivo de células do fêmur de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina na concentração de 40µg/mL, registradas no 8º dia. (A1) controle, (A2) carboplatina 50mg/Kg, (A3) tarina 40µg (A4) carboplatina 50mg/Kg + 40µg de tarina. Objetiva de 20x. (B) Análise quantitativa de células por campo registrado, em µm². (C) Análise quantitativa da porcentagem de área ocupada por células por campo registrado. As análises quantitativas foram realizadas utilizando o software ImageJ, considerando a área total aproximada de 0,75 mm² (1280 × 960 px, 0,78µm/pixel). Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns – não significativo.....	40
Figura 17: UFCs presentes no 8º dia de cultivo. Micrografias de células do fêmur de camundongos mielossuprimidos e estimulados com tarina, enfatizando as unidades	

formadoras de colônias. (A) tarina 40µg. (B) carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. Objetiva de 20x.....	41
Figura 18: Análise quantitativa de UFCs presentes no 8º dia de cultivo. Os valores estão representados em médias ± SD. **p <0.01, p***<0.0001.....	41
Figura 19: Citometrias de fluxo do 12º dia de cultivo de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina. Análise dos parâmetros de tamanho (FSC) e complexidade (SSC) de células do fêmur de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina. (A) controle, (B) carboplatina 50mg/Kg, (C) tarina 40µg (D) carboplatina 50mg/Kg + 40µg de tarina. R1 representa população observada no cultivo.....	42
Figura 20: Citocentrifugados do 8º dia de cultivo celular. (A) controle, (B) carboplatina 50mg/Kg, (C) tarina 40µg (D) tarina 40µg + carboplatina 50mg/Kg. Setas indicam neutrófilos.	43
Figura 21: Células aderidas após 12 dias de cultivo celular. (A) controle, (B) carboplatina 50mg/Kg, (C) tarina 40µg (D) carboplatina 50mg/Kg + 40µg de tarina.	44

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1: Painel de marcadores que será utilizado para os experimentos que serão analisados através de citometria de fluxo.....	29
Tabela 2: Variação de c-Kit e sca-1 na medula óssea de animais suprimidos e tratados com tarina. Análise quantitativa da presença de c-Kit + sca-1- (região Q1) e Sca-1+ c-Kit- (Q3) em de células do fêmur de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina no 3º dia após o tratamento. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD.	39

RESUMO

O taro ou inhame (*Colocasia esculenta*) é um tubérculo muito popular e amplamente consumido no mundo. Na medicina popular é utilizado para estimular as respostas imunes e restaurar o estado geral de saúde. Em estudos prévios do nosso grupo, isolamos uma lectina de 12 kDa a partir do corno do taro, denominada tarina, e observamos que a adição da referida lectina em cultura de células da medula óssea resulta em uma proliferação expressiva de células provenientes da linhagem granulocítica, sugerindo uma possibilidade de ação em progenitores hematopoiéticos da medula óssea. Nesse contexto, a aplicação da lectina do inhame na área médica pode ser uma alternativa de grande importância no tratamento de pacientes com imunodeficiência da medula óssea decorrente de condições patológicas e tratamentos terapêuticos quimioterápicos que causam uma mielossupressão severa, aumentando a suscetibilidade dos pacientes a infecções, anemia e hemorragias.

Objetivo geral: investigar o efeito da lectina tarina na recuperação da mielossupressão de camundongos induzida por administração de carboplatina. **Objetivos Específicos:** avaliar a cinética e a curva dose-resposta na mielossupressão de camundongos induzida pela carboplatina; analisar as alterações citomorfológicas da medula óssea na mielossupressão induzida pela carboplatina e sua recuperação hematopoiética; avaliar as alterações hematológicas de camundongos mielossuprimidos pela carboplatina e tratados com tarina; avaliar *ex vivo* o efeito da tarina sobre progenitores hematopoiéticos remanescentes da medula óssea de animais mielossuprimidos pela carboplatina; Avaliar o tempo de recuperação hematopoiética. **Materiais e Métodos:** *In vivo*, camundongos machos e adultos da linhagem C57BL/6 foram submetidos a administração da carboplatina em 50mg/Kg e 100mg/Kg, ocorrendo a contagem de células totais do sangue periférico para a determinação da curva dose-resposta do medicamento. Após eutanásia, *in vitro*, células da medula óssea foram submetidas a protocolos longos de cultura celular com adição de tarina 40µg/mL para análise de progenitores hematopoiéticos remanescentes, além da realização de ensaios clonogênicos, análises fenotípicas, de microscopia óptica e citocentrifugados. **Resultados:** A tarina atenuou a leucopenia induzida por carboplatina e favoreceu a recuperação hematopoética. A citometria de fluxo evidenciou adensamento da população granulocítica e modulação da expressão de c-Kit e Sca-1 no compartimento medular, sugerindo ativação de progenitores mieloides. Os dados indicam potencial efeito imunomodulador da lectina na recuperação da mielossupressão quimioterápica. **Conclusão:** A tarina foi capaz de atenuar a leucopenia em condições de mielossupressão, promover a preservação parcial de progenitores mieloides *in vivo*, com possível ação direta sobre essas populações ou indireta via modulação do microambiente medular *in vitro*, sugerindo que a tarina favorece a recuperação hematopoética, potencialmente por meio da indução de fatores como G-CSF.

Palavras-chave: *Colocasia esculenta*, lectina, mielossupressão, quimioterapia, carboplatina.

ABSTRACT

Taro (*Colocasia esculenta*) is a very popular and widely consumed tuber worldwide. In folk medicine, it is used to stimulate immune responses and restore overall health. In previous studies by our group, we isolated a 12 kDa lectin, called tarin, from the taro corm and observed that the addition of this lectin to bone marrow cell cultures resulted in significant proliferation of cells from the granulocytic lineage, suggesting a possible action on hematopoietic progenitors in the bone marrow. In this context, the application of taro lectin in the medical field may be a very important alternative in the treatment of patients with bone marrow immunodeficiency resulting from pathological conditions and chemotherapeutic treatments that cause severe myelosuppression, increasing patients' susceptibility to infections, anemia, and hemorrhages. **General objective:** to investigate the effect of the lectin tarine on the recovery from myelosuppression in mice induced by carboplatin administration. **Specific objectives:** to evaluate the kinetics and dose-response curve in myelosuppression in mice induced by carboplatin; to analyze the cytomorphological changes in bone marrow in myelosuppression induced by carboplatin and its hematopoietic recovery; to evaluate the hematological changes in mice myelosuppressed by carboplatin and treated with tarine; to evaluate *ex vivo* the effect of tarine on remaining hematopoietic progenitors in the bone marrow of animals myelosuppressed by carboplatin; to evaluate the hematopoietic recovery time. **Materials and Methods:** *in vivo*, adult male C57BL/6 mice were administered carboplatin at 50 mg/kg and 100 mg/kg, and total peripheral blood cell counts were performed to determine the drug's dose-response curve. Following *in vitro* euthanasia, bone marrow cells were subjected to long cell culture protocols with the addition of 40 µg/mL of tarine for analysis of remaining hematopoietic progenitors, in addition to clonogenic assays, phenotypic analyses, optical microscopy, and cytocentrifugation. **Results:** Tarina attenuated carboplatin-induced leukopenia and promoted hematopoietic recovery. Flow cytometry showed increased density of the granulocytic population and modulation of c-Kit and Sca-1 expression in the bone marrow compartment, suggesting activation of myeloid progenitors. The data indicate a potential immunomodulatory effect of the lectin in the recovery from chemotherapy-induced myelosuppression. **Conclusion:** Tarina was able to attenuate leukopenia under myelosuppressive conditions, promote partial preservation of myeloid progenitors *in vivo*, with possible direct action on these populations or indirect action via modulation of the bone marrow microenvironment *in vitro*, suggesting that tarina favors hematopoietic recovery, potentially through the induction of factors such as G-CSF.

Keywords: *Colocasia esculenta*, lectin, myelosuppression, chemotherapy, carboplatin.

1. INTRODUÇÃO

1.1 MEDULA ÓSSEA

1.1.1 HEMATOPOIESE

O sistema hematopoiético é um conjunto de órgãos e tecidos responsáveis pela produção contínua de células sanguíneas e imunológicas, realizando funções essenciais como transporte de oxigênio, hemostasia e defesa imunológica, exigindo um delicado equilíbrio entre autorrenovação celular, proliferação e diferenciação terminal. Segundo BOZHILOV *et al.* (2023), a hematopoiese gera uma grande variedade de células maduras a partir de um número limitado de células-tronco e progenitoras, garantindo a reposição constante das populações circulantes sem esgotamento do compartimento de células-tronco.

Em adultos, a hematopoiese ocorre principalmente na medula óssea, um órgão altamente especializado e funcional. A medula não funciona apenas como um local de produção celular, mas também como um microambiente dinâmico onde células hematopoiéticas interagem continuamente com componentes estromais, endoteliais e esqueléticos. Segundo LUCAS (2021), essa interação é essencial para regular o comportamento das células-tronco hematopoiéticas e seus progenitores, permitindo ajustes finos na produção de células conforme as demandas fisiológicas ou patológicas.

Morfologicamente, a medula óssea do camundongo apresenta cordões de tecido hematopoiético altamente vascularizado, constituído por células estruturais do microambiente denominadas originalmente por SCHOFIELD (1983) como nicho. Essas estruturas são fundamentais para a manutenção, proliferação e diferenciação de células-tronco e progenitoras hematopoéticas, sendo a organização espacial um fator determinante na regulação dessas células. O componente estromal do microambiente da medula óssea envolve osteoblastos, fibroblastos, adipócitos, condrócitos e células

vasculares (figura 1) . As células estromais desempenham papel essencial no suporte à hematopoiese, mediante a produção de fatores de crescimento, quimiocinas, matriz extracelular e interações diretas entre células (BIANCO, 201; JACKSON, 2019).

Na medula óssea são identificados dois principais tipos de nicho: o osteoblástico e o vascular. O nicho osteoblástico está situado próximo à superfície endosteal da medula, tendo sido identificado inicialmente através de pesquisas sobre o direcionamento de células-tronco hematopoiéticas transplantadas. Os osteoblastos e as células estromais presentes na medula óssea secretam SDF-1, uma quimiocina responsável por orientar as células-tronco hematopoiéticas. Esse nicho propicia um ambiente favorável à manutenção do estado de repouso das células-tronco e à sua sobrevivência prolongada. Por outro lado, o nicho vascular encontra-se na região central da medula óssea (figura 1). As células-tronco que ocupam esse espaço têm acesso a fatores circulantes do sangue, o que possibilita sua mobilização para a circulação periférica via migração transendotelial (NILSSON, 2001; KIEL, 2005; LUCAS, 2021).

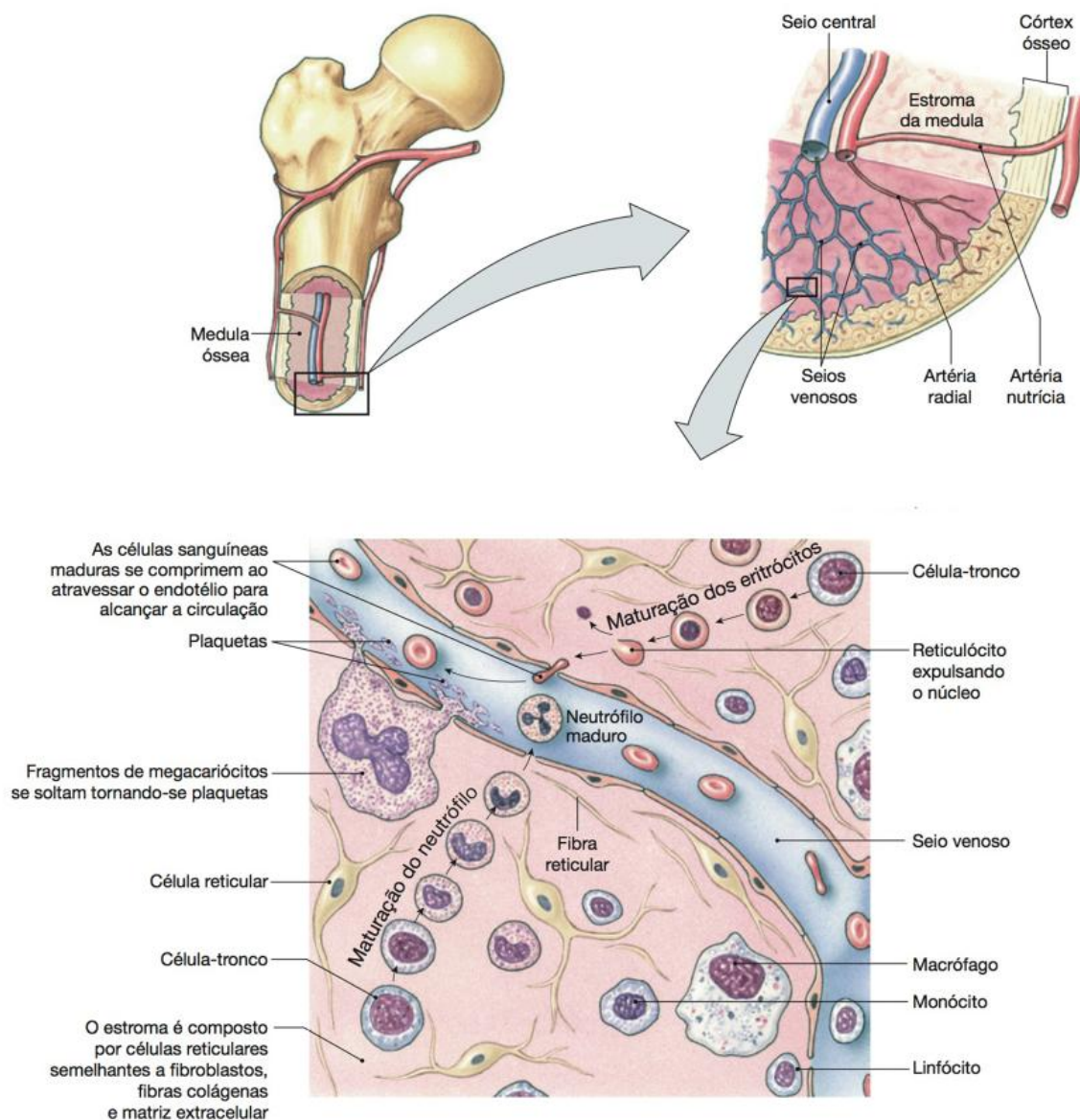


Figura 1: Osso e nicho hematopoiético. A partir dos seios venozos da medula óssea é encontrado o nicho hematopoiético. A célula tronco hematopoiética comumente localiza-se perto da região endotelial da medula óssea. Os progenitores diferenciam-se em células mais especializadas e adentram o endotélio alcançar a corrente sanguínea. Células estromais fibroblastóides fornecem suporte ao nicho. JUNQUEIRA e CARNEIRO (13ª edição, 2017).

Do ponto de vista funcional, a hematopoiese é organizada hierarquicamente. No ápice dessa hierarquia encontram-se as células-tronco hematopoiéticas (CTHs), caracterizadas por sua capacidade de autorrenovação a longo prazo e de reconstituição integral do sistema hematopoiético após lesões severas (figura 2). Em condições de homeostase, essas células permanecem predominantemente em estado de quiescência, o que contribui para

a preservação de sua integridade funcional ao longo da vida (BOZHILOV *et al.*, 2023; ROGKOTI *et al.*, 2025).

As CTHs são multipotentes e incluem CTHs de longo prazo (LT-CTHs), capazes de reconstituição hematopoiética, e sua progênie imediata de CTHs de curto prazo (ST-CTHs), que mantêm ampla capacidade de diferenciação, porém com perda progressiva do potencial de autorrenovação. Esses progenitores ocupam uma posição intermediária na hierarquia (figura 2) e exercem papel essencial como compartimento amplificador, permitindo rápida expansão celular em resposta a situações de estresse, como infecções, inflamação sistêmica ou agressões mielotóxicas (LUCAS, 2021).

Em modelos murinos, as células-tronco hematopoiéticas (CTHs) e progenitoras são selecionadas por citometria de fluxo através de uma combinação de marcadores de seleção de linhagem negativa (lineage negative ou lin⁻) e expressão positiva de c-KIT e Sca-1 na superfície celular, resultando em uma população de células denominadas lin⁻ / SCA-1 + /c-KIT + (LSK). Os marcadores de seleção de linhagem negativa murina incluem CD11b, CD19, CD3, CD45R e Ly6-G. Menos frequentemente, as CTHs murinas também foram selecionadas como células CD90 (Thy-1) lo /lin⁻ / SCA-1 + /c-KIT + (ADOLFSSON, JÖRGEN *et al.*, 2005. IRVING, WEISSMAN, 2001).

Os marcadores SLAM (molécula de sinalização de ativação de linfócitos), que regulam a proliferação e ativação de linfócitos e se correlacionam com a primitividade das células progenitoras, estão entre os marcadores de receptores de superfície celular mais comumente usados para diferenciar subpopulações de células-tronco hematopoiéticas murinas (CTHs). O CD150, membro da família de receptores de superfície celular SLAM, é usado para diferenciar CTHs, que expressam CD150, de células progenitoras multipotentes (MPPs). O CD244 é outro marcador SLAM que pode diferenciar CTHs de MPPs, pois não é expresso por CTHs, mas é expresso por algumas MPPs. (KIEL *et al.*, 2005, OGURO *et al.*, 2013)

Embora as células LSK murinas sejam geralmente definidas pela expressão positiva de CD150 juntamente com a expressão negativa do marcador SLAM CD48 (CD150 + /CD48⁻) , marcadores de superfície adicionais (incluindo marcadores não-SLAM) podem enriquecer

subconjuntos funcionalmente distintos. Por exemplo, as células-tronco hematopoiéticas de longo prazo (LT-CTHs) com capacidade de reconstituição de múltiplas linhagens foram enriquecidas tanto nos subconjuntos de células CD48⁻ / CD150⁺ / CD34⁻ /baixo quanto nos subconjuntos de células CD135⁻ / CD201⁺ , e as células-tronco hematopoiéticas de curto prazo (ST-CTHs) metabolicamente ativas podem ser identificadas como células CD48⁻ /baixo /CD150⁻ / CD135⁻ / CD201⁻ .

Outros marcadores de superfície que têm sido usados para enriquecer subconjuntos de células-tronco hematopoiéticas murinas incluem Flk2, o marcador SLAMF7, CD229, CD41, CD49b e rodamina. A rodamina é o único marcador que não é uma proteína de superfície celular, mas sim um corante fluorescente, que tem sido usado com sucesso para discriminar células-tronco hematopoiéticas quiescentes. (WILSON *et al.*, 2008 ; KENT ET AL., 2009 ; OGURO *et al.*, 2013 ; YAMAMOTO *et al.*, 2013 ; MIYAWAKI *et al.*, 2015)

A partir das CTHs emergem os progenitores multipotentes (MPPs), que mantêm ampla capacidade de diferenciação, porém com perda progressiva do potencial de autorrenovação. Esses progenitores ocupam uma posição intermediária na hierarquia (figura 2) e exercem papel essencial como compartimento amplificador, permitindo rápida expansão celular em resposta a situações de estresse, como infecções, inflamação sistêmica ou agressões mielotóxicas (LUCAS, 2021). A transição de CTHs para MPPs ocorre a partir de modulação por sinais provenientes do microambiente medular. À medida que a diferenciação progride, os progenitores multipotentes originam progenitores progressivamente mais comprometidos com linhagens específicas, tradicionalmente agrupados em compartimentos mieloide e linfoide. Esses progenitores apresentam elevada atividade proliferativa e respondem intensamente a citocinas e fatores de crescimento, sendo responsáveis pela produção eficiente de células maduras. De acordo com BOZHILOV *et al.* (2023), essa etapa da hierarquia garante a geração contínua de leucócitos, eritrócitos e plaquetas, mantendo a funcionalidade do sistema hematopoiético.

Introdução

Hierarquia da hematopoiese

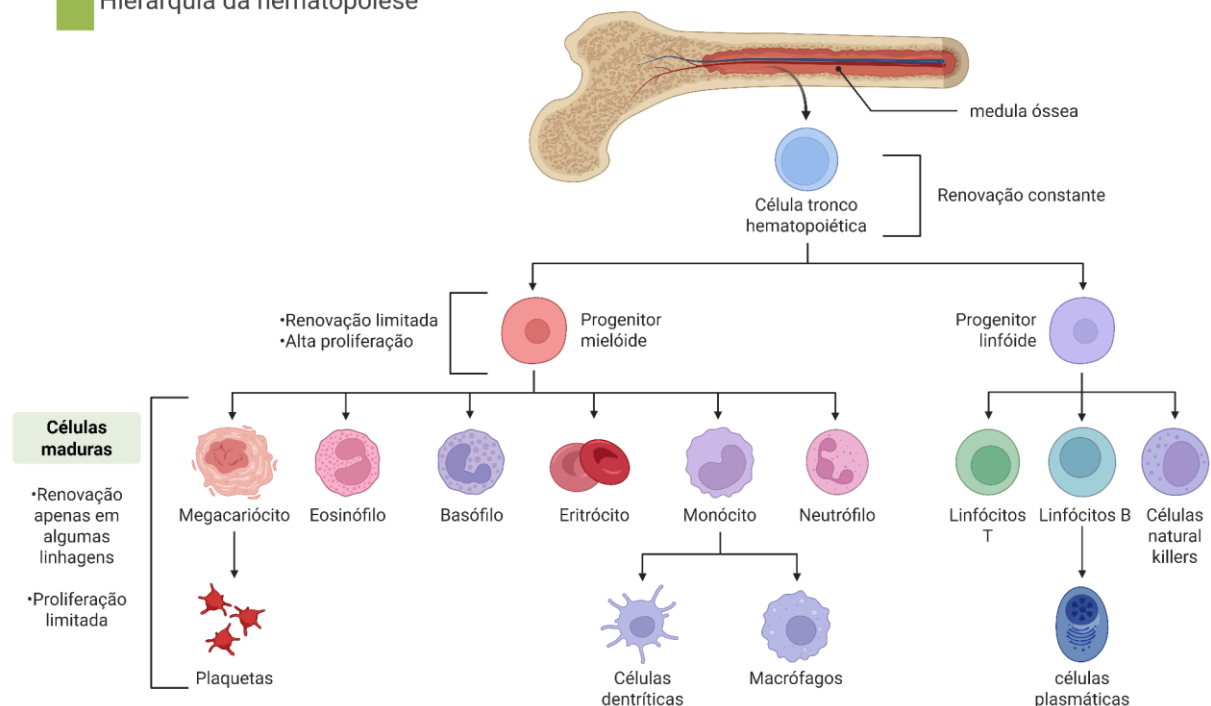


Figura 2: Hierarquia da hematopoiese. A célula tronco hematopoiética possui constante renovação na medula óssea, diferenciando-se em progenitores mielóides ou linfóides, que são altamente proliferativos. Os progenitores se diferenciam em diferentes tipos de células que ocupam a base da hierarquia, mais maduras e especializadas, contudo, possuindo proliferação limitada e pouco capacidade de renovação. Biorender (2026)

Apesar dos avanços na compreensão dos mecanismos subjacentes à produção sanguínea, a especificação da linhagem no nível dos progenitores multipotentes (MPPs) permanece pouco compreendida. As MPPs (células progenitoras multipotentes) constituem atualmente um compartimento hematopoiético mal definido, e o próprio termo é usado de forma indiscriminada para se referir a células dentro da fração LSK que apresentam capacidade de enxertia limitada ou nula em experimentos de transplante. O subconjunto de MPPs mais bem caracterizado e abundante é definido como células LSK Flk2⁺ e é considerado atualmente uma população totalmente multipotente, porém com viés de linhagem, apresentando baixo potencial megacariócito/eritroide (MegE) e alto

potencial linfoide (ADOLFSSON *et al.*, 2005 ; FORSBERG *et al.*, 2006 ; BOYER *et al.*, 2011 ; BUZA-VIDAS *et al.*, 2011). De fato, os 25% das células LSK Flk2⁺ com maior expressão foram denominados MPPs com predisposição linfoide ou LMPPs (ADOLFSSON *et al.*, 2005). Outros dois subconjuntos de MPP foram descritos na fração Flk2⁻ LSK : MPP2, MPP3 e MPP4.

Cada subconjunto de MPPs da medula óssea é capaz de produzir linhagens linfoides, mieloeritroides e megacariócitos/plaquetas, mas exhibe vieses de linhagem (Pietras *et al.*, 2015): MPP2 (LSK_FLT3-CD150+CD48+) e MPP3 (LSK_FLT3-CD150-CD48+) exibem destino linfoide limitado; MPP2 apresenta viés eritroide e megacariocítico/plaquetário; MPP3 apresenta viés granulocítico; e MPP4 (LSK_FLT3+CD150-CD48+) apresenta viés linfoide. (ADOLFSSON, 2005, WILSON *et al.*, 2008 OGURO *et al.*, 2013 ; PIETRAS *et al.*, 2015)

Os progenitores mieloides assumem particular relevância nesse contexto, originando a granulócitos, monócitos, eritrócitos e megacariócitos. Entre essas populações, os granulócitos destacam-se por sua curta vida média e alta demanda de reposição, exigindo uma proliferação constante na medula óssea. Esses progenitores representam um dos compartimentos mais sensíveis a agentes citotóxicos, sendo rapidamente depletados em quadros de mielossupressão induzida por quimioterapia (TRAVLOS, 2006).

Progenitores linfoides tendem a apresentar maior resistência, especialmente quando associadas a estados de menor atividade proliferativa. Contudo, a recuperação após mielossupressão depende fundamentalmente da expansão coordenada dos progenitores intermediários, em especial daqueles comprometidos com a linhagem mieloide, responsáveis pela restauração da leucocitose e da resposta imune basal (LUCAS, 2021; ROGKOTI *et al.*, 2025).

A funcionalidade dessa hierarquia celular está intimamente associada à organização estrutural da medula óssea, que apresenta nichos especializados que regulam o

comportamento das células hematopoiéticas em diferentes estágios de diferenciação. O conceito de nicho de células-tronco hematopoiéticas foi consolidado a partir da observação de que a manutenção da quiescência, da autorrenovação e da ativação controlada das CTHs depende de interações específicas com células estromais e endoteliais localizadas em diferentes regiões da medula (TRAVLOS, 2006).

Estudos mais recentes descrevem a existência de nichos arteriolares e sinusoidais, associados a diferentes estados funcionais das células hematopoiéticas. Enquanto nichos mais próximos às superfícies ósseas tendem a abrigar CTHs quiescentes, regiões sinusoidais centrais favorecem a ativação de progenitores e a diferenciação terminal, facilitando a liberação de células maduras para a circulação periférica (ROGKOTI *et al.*, 2025). Essa organização espacial permite que a medula óssea responda de forma eficiente a alterações sistêmicas.

Além das células hematopoiéticas, componentes não hematopoiéticos exercem papel fundamental na manutenção da integridade do nicho. Células estromais mesenquimais, células endoteliais e populações esqueléticas contribuem para a regulação mecânica, metabólica e molecular do microambiente medular. (JEFFERY *et al.*, 2022) demonstram que células-tronco e progenitoras esqueléticas participam ativamente da manutenção da arquitetura óssea e influenciam indiretamente a função hematopoiética, reforçando a interdependência entre o compartimento ósseo e a hematopoiese.

Assim, a hematopoiese pode ser compreendida como um processo hierárquico, espacialmente organizado e altamente dependente da integridade do microambiente medular. Em situações de agressão quimioterápica, a ruptura dessa organização afeta de maneira desproporcional os progenitores altamente proliferativos, especialmente aqueles associados à linhagem mieloide. A recuperação funcional da medula óssea, portanto, não depende exclusivamente da sobrevivência das CTHs, mas da capacidade de reativação e expansão dos progenitores intermediários em um nicho estruturalmente e funcionalmente restaurado (LUCAS, 2021; ROGKOTI *et al.*, 2025).

1.1.2 MIELOSSUPRESSÃO

O tecido hematopoiético apresenta uma grande capacidade proliferativa e está sujeito a elevada toxicidade causada pelos quimioterápicos e pela radioterapia (GRIBALDO, 2002). A quimioterapia antineoplásica, que consiste na administração de agentes químicos isolados ou em combinação, representa uma das principais abordagens terapêuticas no tratamento de neoplasias malignas. Esses fármacos atuam de forma sistêmica em nível celular, principalmente nas células em divisão ativa, interferindo nos processos de crescimento e proliferação, afetando tanto células neoplásicas quanto células normais. Frequentemente, a quimioterapia é utilizada como complemento ao tratamento cirúrgico, potencializando o efeito terapêutico, reduzindo taxas de recorrência e aumentando a sobrevida do paciente (CARLSON, 1996; HAN, 2019). Em geral, os quimioterápicos apresentam toxicidade elevada em tecidos de rápida proliferação celular, caracterizados por ciclos celulares curtos, e assim afetando tanto as células neoplásicas quanto as células normais. A resposta terapêutica da quimioterapia é mais satisfatória quando empregados precocemente, devido ao crescimento exponencial tumoral.

A mielotoxicidade dessas terapias afeta diretamente a maturação e proliferação das células hematopoiéticas e progenitoras e indiretamente as células estromais do microambiente medular, assim como pode alterar a expressão de fatores de crescimento hematopoiético ocasionando uma mielossupressão importante (TESTA *et al.*, 1988).

A mielossupressão é uma toxicidade dose-limitante importante de diversas drogas antineoplásicas, em especial da carboplatina que apresenta uma elevada mielotoxicidade com neutropenia e trombocitopenia graves (CALVERT *et al.*, 1982). É considerada resultante de danos citotóxicos às células-tronco e progenitores hematopoiéticos, manifestando condições como a citopenia, trombocitopenia, linfocitopenia e neutropenia, afetando significativamente o esquema terapêutico de tratamentos para o câncer e impactando negativamente a qualidade de vida dos pacientes (ZHU *et al.*, 2025).

A maioria dos agentes quimioterápicos pode causar mielossupressão de forma dose-dependente. Os quimioterápicos podem ser divididos em duas classes dependendo de sua origem. Podem ser derivados de plantas (KIKUCHI, 2019; LICHOTA, 2018) ou de origem

sintética (PENG, 2020). Dependendo do mecanismo de ação, podem ser divididos em agentes alquilantes, antimetabólitos, inibidores da topoisomerase, inibidores do fuso mitótico e outros.

Os agentes alquilantes incluem as oxazafosforinas (ciclofosfamida e ifosfamida); mostardas nitrogenadas (busulfano, clorambucil e melfalano); hidrazina (temozolomida); agentes à base de platina (cisplatina, carboplatina e oxaliplatina) (BUKOWSKI, 2020) e novos agentes alquilantes do tipo OFF-ON, ainda em investigação, como a vinilquinazolinona (VQ) (ONIZUKA, 2019). Os quimioterápicos pertencentes a esta classe de moléculas criam ligações cruzadas inter ou intra-cadeia ou transferem grupos alquila para os resíduos de guanina do DNA, o que resulta na formação de pares incorretos nas bases do DNA e impede a separação das cadeias durante a síntese do DNA (LE, 2017; NUSSBAUMER, 2011; ONIZUKA 2019).

Estima-se que cerca de 60% dos pacientes que realizam quimioterapias são significativamente mielossuprimidos, acarretando na redução da dose ideal ou interrupção do tratamento, prejudicando as chances de reversão do quadro clínico. Além disso, a citopenia pode acometer até 81% dos pacientes que realizam monoterapias com carboplatina ou cisplatina, e pode impedir que os pacientes sejam submetidos a procedimentos críticos que podem salvar suas vidas (ALYAMANY *et al.*, 2024).

Os efeitos adversos observados decorrem da falta de especificidade dos fármacos para células tumorais, prevalecendo em tecidos de divisão celular acelerada, como o hematopoiético. Complicações, como mielossupressão, frequentes após o uso de quimioterápicos, resultam na redução dos níveis periféricos de leucócitos, granulócitos, plaquetas e hemoglobina, podendo induzir quadros anêmicos (LU, 2015; HOSSAIN, 2023). Dessa forma, é fundamental o monitoramento rigoroso do intervalo entre a administração dos fármacos e o nadir hematológico. Antes de cada novo ciclo, é imprescindível assegurar a recuperação medular com produção adequada de plaquetas, leucócitos e eritrócitos. A literatura descreve de forma consistente os principais efeitos adversos da quimioterapia, destacando-se a neutropenia e a neutropenia febril como eventos críticos durante os ciclos terapêuticos. As alterações hematológicas, sobretudo em relação à contagem de leucócitos

(GB) e de hemoglobina (HB), contribuem para o desenvolvimento de mielossupressão ou mielotoxicidade (KISHIDA, 2009) HOSSAIN, 2023).

Interrupções mesmo que temporárias em quimioterapias já foram associadas ao aumento do risco de mortalidade, sobretudo em câncer de ovário (OLAWAIYE *et al.* (2019) e colorretal (ZHANG ET.al (2023), além de uma alta taxa de progressão do câncer de mama (ZHU *et al.*, 2025). Portanto, a mielossupressão constitui um importante fator a ser avaliado durante terapias antitumorais assim como possíveis fatores de risco e terapias adjuvantes que amenizem o impacto da supressão, melhorando a eficácia do tratamento quimioterápico e devolvendo qualidade de vida aos pacientes.

Tratamentos quimioterápicos promovem danos ao DNA através de quebras na dupla hélice, estresse oxidativo e ligações cruzadas que formam subprodutos, como os adutos formados pela carboplatina. Em consequência, vias de resposta ao dano são ativadas, incluindo a sinalização mediada pela p53 (proteína supressora tumoral p53) e modulação de checkpoints do ciclo celular, incorrendo na apoptose; interrupção da proliferação e senescência dos progenitores hematopoiéticos, induzindo a neutropenia, anemia e trombocitopenia.

Além do dano associado aos progenitores, terapias quimioterápicas são capazes de remodelar o nicho hematopoiético. O estresse sistêmico promove alteração dos sinais tróficos e inflamatórios, desequilibrando a dinâmica de quiescência e ativação celular, além de contribuir para um ambiente pró-inflamatório repleto de citocinas como IL-6, TNF- α e interferons, que influenciam diretamente o comportamento das CTHs e progenitores. O estado inflamatório sistêmico contribui para a reentrada de CTHs no ciclo celular, com expansão transitória do compartimento progenitor como tentativa de compensação ao dano causado, no entanto, essa ativação forçada pode comprometer a função de longo prazo das CTHs, favorecendo o viés mieloide e induzindo alterações epigenéticas persistentes (LAURENTI E GÖTTGENS, 2018).

Fatores de crescimento hematopoiético são citocinas responsáveis pela regulação da proliferação, diferenciação e viabilidade das células sanguíneas e suas precursoras. O

fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) atua como regulador central da recuperação neutrofílica, promovendo expansão de progenitores granulocíticos ao passo que acelera a maturação e liberação de neutrófilos; enquanto o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) contribui para a expansão inicial de progenitores e para a reprogramação transitória da medula óssea em direção a maior produção mieloide (MANZ E BOETTCHER, 2014). Nesse sentido, emergem pesquisas voltadas à busca de terapias adjuvantes associadas a esquemas quimioterápicos, utilizando fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), o fator estimulador de colônias de granulócitos/macrófagos (GM-CSF) ou a eritropoietina (EPO) (DEMPKE, 2000) e agonistas do receptor de trombopoietina (TPO-RAs (ALYAMANY *et al.*, 2024). Esses FCHs têm a capacidade de promover a recuperação da função hematopoiética da medula óssea, principalmente estimulando a proliferação e a diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas (CPHs)

Embora promissoras, essas terapias apresentam uma série de efeitos colaterais como trombose, dor óssea, recaída da doença e pneumonite (ALYAMANY *et al.*, 2024), exigindo cautela no uso e investigação mais profunda acerca dos impactos e fatores de risco associados. Nesse sentido, emergem estudos considerando terapias alternativas ao dano com menor risco associado, sobretudo nos últimos anos.

1.2 ATIVIDADE ANTITUMORAL DOS COMPOSTOS DE PLATINA

A descoberta da atividade antitumoral dos compostos de platina remonta ao início da década de 1960, a partir dos estudos conduzidos por Barnett Rosenberg na University of Michigan, estabelecendo as bases para o desenvolvimento clínico da cisplatina e, posteriormente, de seus derivados, como a carboplatina, consolidada como a segunda geração de compostos derivados e a oxiplatina, de terceira geração. (ZHANG ET. al, 2022; FUERTES ET. Al, 2003).

Desde então, os compostos de platina ocupam posição central no tratamento de diferentes tipos de cânceres, sendo a carboplatina um dos principais agentes utilizados, indicada especialmente para câncer de testículo, ovário, cabeça e pescoço, além do

carcinoma de carcinoma de pequenas células do pulmão (CPCP) (SZEFLER *et al.*, 2021). No contexto do câncer de ovário epitelial avançado, a carboplatina, em associação ao paclitaxel, constitui regime padrão de primeira linha terapêutica, conforme recomendado por diretrizes internacionais como a *European Society for Medical Oncology* e a *National Comprehensive Cancer Network* (COLOMBO *et al.*, 2019; NCCN, 2024). De forma semelhante, em carcinoma de pequenas células do pulmão em estágio extenso, esquemas baseados em carboplatina configuram tratamento inicial amplamente estabelecido (HORN *et al.*, 2018).

A carboplatina (1,1-ciclobutanodicarboxilato de platina) consiste em um agente quimioterápico de segunda geração, amplamente empregado no tratamento de neoplasias sólidas, integrando o grupo dos compostos de platina utilizados na terapêutica antineoplásica, cuja atividade citotóxica decorre da capacidade de interagir com o DNA celular, promovendo a formação de adutos intra e intercadeias, culminando em bloqueio replicativo, ativação de vias de resposta ao dano ao DNA e indução de morte celular (SZEFLER *et al.*, 2021).

Atualmente, o grupo farmacológico de compostos da platina compreende, além da própria carboplatina, a cisplatina e a oxaliplatina, fármacos que compartilham mecanismo de ação semelhante, baseado na formação de ligações covalentes com o DNA, embora apresentem diferenças estruturais que se refletem em perfis distintos de reatividade química e toxicidade sistêmica (SZEFLER *et al.*, 2021; SOUSA, *et al.*, 2021). A carboplatina é considerada um derivado estrutural da cisplatina (imagem 3), mantendo mecanismo citotóxico similar, porém caracterizando-se por menor reatividade química e, consequentemente, por perfil de efeitos adversos mais favorável, especialmente no que se refere à nefrotoxicidade. Em virtude de sua menor reatividade, doses mais elevadas são necessárias para atingir eficácia terapêutica equivalente, o que influencia diretamente seu potencial mielossupressor e a limitação de dose em protocolos clínicos (ZHANG *et al.*, 2022).

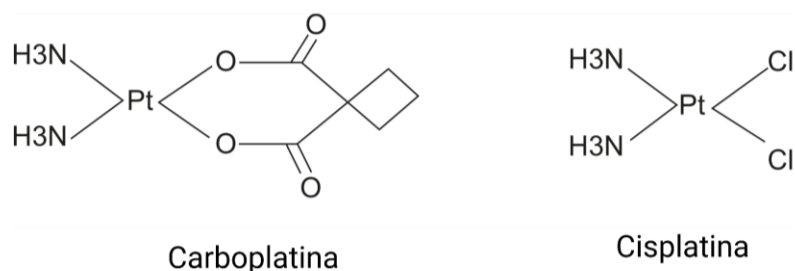


Figura 3: Estrutura química da carboplatina e cisplatina. A carboplatina é considerada um composto de segunda geração derivado da cisplatina, portanto, apresenta estrutura química semelhante. Adaptado de SOUSA *et al.*, 2021.

A determinação da dose de carboplatina na prática clínica é realizada por meio da fórmula de Calvert, sendo uma relação entre a área sob a curva plasmática desejada (AUC) e a taxa de filtração glomerular do paciente, permitindo o ajuste individualizado da exposição sistêmica ao fármaco (CALVERT *et al.*, 1989). Em protocolos clínicos, valores de AUC entre 4 e 7 mg/mL são comumente empregados, variando conforme o esquema terapêutico e o contexto da doença (ONCOLOGY NURSING SOCIETY, 2026). Em modelos experimentais murinos, por sua vez, a determinação da dose não se baseia na AUC individualizada, mas sim em escalonamento por peso corporal, sendo frequentemente utilizadas doses entre 30 e 100 mg/kg, administradas em dose única ou fracionadas, dependendo do objetivo experimental e do grau de mielossupressão desejado (KHOLINA *Et et al.*, 2025; AHARINEJAD *et al.*, 2002).

A carboplatina, em sua forma nativa, não interage diretamente com bases nitrogenadas do DNA ou com outras biomoléculas intracelulares enquanto permanece estruturalmente intacta. Para exercer sua atividade citotóxica, é necessário atravessar a membrana plasmática, processo no qual participa, entre outros mecanismos, o transportador de cobre de alta afinidade CTR1 (figura 4), reconhecido por mediar a internalização de compostos de platina (LARSON *et al.*, 2009; SZEFLER *et al.*, 2021). Uma

vez no meio intracelular, a molécula sofre hidrólise do grupo 1,1-ciclobutanodicarboxilato, etapa essencial para sua ativação química e subsequente aquisição de reatividade biológica (SZEFLER *et al.*, 2021).

A decomposição da carboplatina em meio aquoso ocorre através da abertura do anel dicarboxilato, seguida pela dissociação progressiva do ligante malonato, culminando na formação de espécies carregadas positivamente. A ruptura das ligações entre o átomo de platina e os átomos de oxigênio promove a formação de um complexo monocarregado, o qual, na presença de água, sofre novas etapas de hidrólise, resultando na formação do complexo di-aqua $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, estruturalmente análogo a formas ativadas da cisplatina. Subsequentemente, processos de desprotonação originam a espécie di-hidroxilada $(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{OH})_2$, que pode ainda sofrer desidroxilação parcial, gerando intermediários altamente eletrofílicos, como $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})]^+$ (SHABALIN *et al.*, 2015; SZEFLER *et al.*, 2021).

Espécies reativas, dotadas de maior afinidade por sítios nucleofílicos, passam a interagir covalentemente com macromoléculas intracelulares, incluindo DNA, RNA e proteínas, promovendo a formação de adutos de platina (figura 4). No DNA, a ligação ocorre predominantemente no sítio N7 das bases púricas, especialmente guanina, resultando na formação de ligações intra e intercadeias, bem como em complexos DNA-proteína, alterações estruturais que comprometem a progressão da forquilha replicativa, ativam vias de resposta ao dano genômico e culminam na indução de morte celular (figura 4) (SARMAH E ROY, 2014).

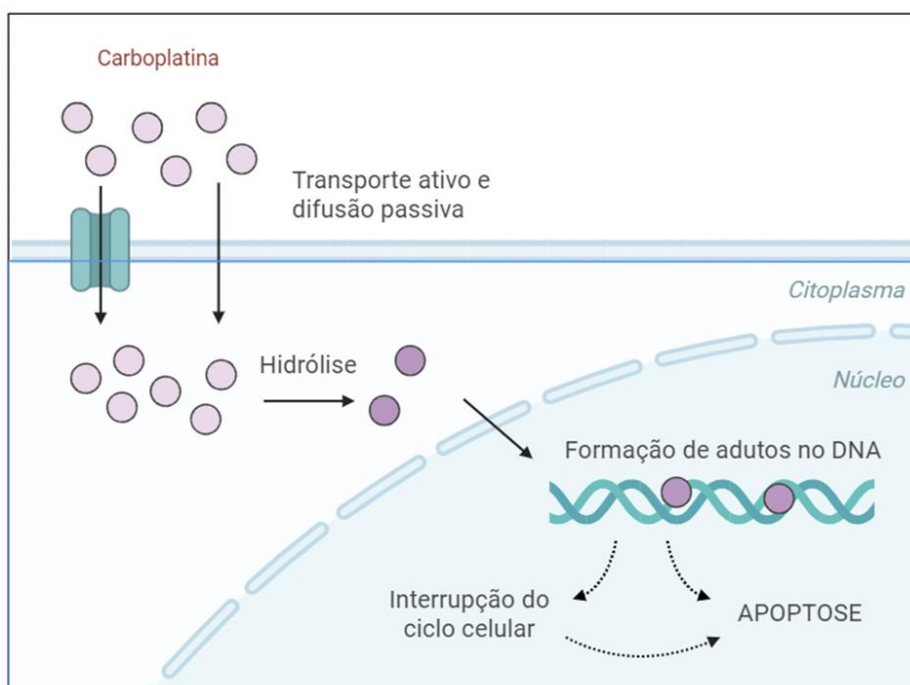


Figura 4: Via de ação da carboplatina. A carboplatina adentra a célula através do transporte ativo por transportadores de cobre ou difusão passiva, sofrendo uma hidrólise e assim penetrando o núcleo da célula, onde formará ligações cruzadas com o DNA, formando adutos que causam a apoptose e interrupção do ciclo celular. Biorender (modificado, 2025).

A mielossupressão representa a principal toxicidade limitante da dose no uso clínico da carboplatina, sendo geralmente transitória. Esse evento advém do efeito citotóxico direto exercido pela droga sobre células-tronco e progenitores hematopoéticos da medula óssea, os quais, devido à alta taxa proliferativa, apresentam maior vulnerabilidade ao dano causado pelos adutos de platina no DNA.(WANG *et al.*, 2006) A formação de ligações cruzadas intercadeias e a ativação subsequente de vias de resposta ao dano genômico culminam na interrupção do ciclo celular e na indução de morte celular programada nessas populações imaturas, resultando na redução transitória ou prolongada das linhagens hematopoéticas maduras, particularmente neutrófilos, plaquetas e linfócitos (WANG *et al.*, 2006; RABIK E DOLAN, 2007).

Clinicamente, essa supressão manifesta-se como neutropenia, trombocitopenia e anemia, configurando um evento significativo, o que pode levar à redução de dose, atraso de ciclos ou interrupção do tratamento, comprometendo a intensidade de dose planejada e, potencialmente, a eficácia terapêutica (ZHU *et al.*, 2025). Em protocolos que utilizam

carboplatina como agente de primeira linha, especialmente em neoplasias como câncer de ovário avançado e carcinoma de pequenas células do pulmão (COLOMBO *et al.*, 2019; HORN *et al.*, 2018), a mielossupressão permanece como fator limitante central, podendo alcançar incidências elevadas de citopenias em monoterapia, conforme descrito por ALYAMANY *et al.*, (2024).

Além da toxicidade hematológica, a carboplatina apresenta perfil de efeitos adversos relativamente mais favorável quando comparada à cisplatina, com menor nefrotoxicidade e neurotoxicidade, embora a mielossupressão, particularmente a trombocitopenia, ainda se mantenha como a complicação mais frequente e clinicamente impactante (ALYAMANY *et al.*, 2024).

Nesse contexto, produtos naturais emergem como potenciais terapias adjuvantes, apresentando propriedades antioxidantes, imunomodulatórias e capacidade de estimular a proliferação e diferenciação de CTHs em MPPs, contribuindo diretamente para a recuperação hematopoética após danos causados por terapias mielossupressoras (NIAN *et al.*, 2024). Diferentemente dos fatores de crescimento clássicos, que atuam de forma mais direcionada em linhagens específicas (como G-CSF na granulopoiese), os compostos naturais demonstram capacidade de interação com o microambiente hematopoético, promovendo a expansão celular, e modulação do nicho, além de vias de sinalização associadas à sobrevivência e autorrenovação das CTHs (NIAN *et al.*, 2024; ZHANG *et al.*, 2018). Esse efeito sistêmico possui grande relevância considerando o contexto de mielossupressão induzida por quimioterapia, onde múltiplas linhagens e mecanismos estão simultaneamente comprometidos.

Além disso, evidências experimentais e clínicas indicam que produtos naturais podem atenuar diretamente os efeitos adversos associados às terapias antitumorais, incluindo a mielossupressão, por meio da redução do estresse oxidativo, da inflamação e da regulação de citocinas e vias intracelulares (NIAN *et al.*, 2024; ZHANG *et al.*, 2018). Compostos bioativos derivados de plantas, como flavonoides, saponinas e polissacarídeos, demonstram capacidade de restaurar a celularidade da medula óssea, aumentar a contagem de células sanguíneas periféricas e favorecer a recuperação funcional do sistema hematopoético, inclusive em modelos tratados com agentes alquilantes como a

ciclofosfamida (NIAN *et al.*, 2024; ZHANG *et al.*, 2018). Além disso, estudos recentes sugerem que formulações à base de produtos naturais podem reduzir a incidência e a gravidade da mielossupressão, permitindo a manutenção da dose e do regime terapêutico, o que representa um impacto clínico relevante quando comparado às limitações associadas ao uso isolado de fatores de crescimento (NIAN *et al.*, 2024). Dessa forma, o uso de produtos naturais como adjuvantes se insere como uma estratégia promissora.

Nesse cenário, a lectina tarina, isolada de *Colocasia esculenta*, destaca-se como uma molécula com potencial imunomodulador, capaz de interagir com glicanos presentes em células hematopoéticas e induzir atividade proliferativa no compartimento medular, em especial na recuperação de células hematopoiéticas após tratamentos agressivos como a mielossupressão causada por ciclofosfamida e radioterapia (PEREIRA *et al.*, 2024, 2015, 2021; MERIDA *et al.*, 2018)

1.3 COLOCASIA ESCULENTA

Colocasia esculenta (L.) Schott, popularmente conhecida como taro, pertence à família Araceae e é descrita como uma espécie de crescimento vigoroso, frequentemente encontrada em regiões tropicais úmidas, margens de rios e áreas alagadiças (NAIR *et al.*, 2005). Para evitar confusões entre plantas similares, a *Colocasia esculenta* frequentemente é chamada de taro pela comunidade científica, mas é popularmente conhecida por outros nomes dependendo da região de cultivo, como *eddoe*, *cocoyam*, *tannia*, *dasheen* (Lim, 2015), sendo frequentemente associada aos nomes inhame e taioba no Brasil (SAKURAGUI *et al.*, 2026).

Trata-se de uma planta caracterizada por folhas em formato de flecha e pecíolos que podem apresentar coloração verde a avermelhada-escuro, atingindo alguns metros de altura, a depender das condições edafoclimáticas (NAIR *et al.*, 2005). Historicamente, o cultivo de *Colocasia esculenta* remonta a mais de 10.000 anos, sendo considerada uma das culturas alimentares mais antigas, paralelamente ao trigo e à cevada, o que evidencia sua relevância agrônômica e nutricional ao longo da história (LEE *et al.*, 2011).

O taro apresenta folhas amplas, cordiformes, com pecíolos longos e sistema radicular fibroso associado ao cormo central e aos cormelos laterais (figura 5). O cultivo é favorecido em solos úmidos, ricos em matéria orgânica, com boa disponibilidade hídrica, sendo comum tanto em sistemas alagados quanto em cultivo de sequeiro, a depender da variedade. A plasticidade fisiológica da espécie contribui para sua adaptação a diferentes condições climáticas, fator que explica sua ampla distribuição geográfica (PEREIRA *et al.*, 2020)

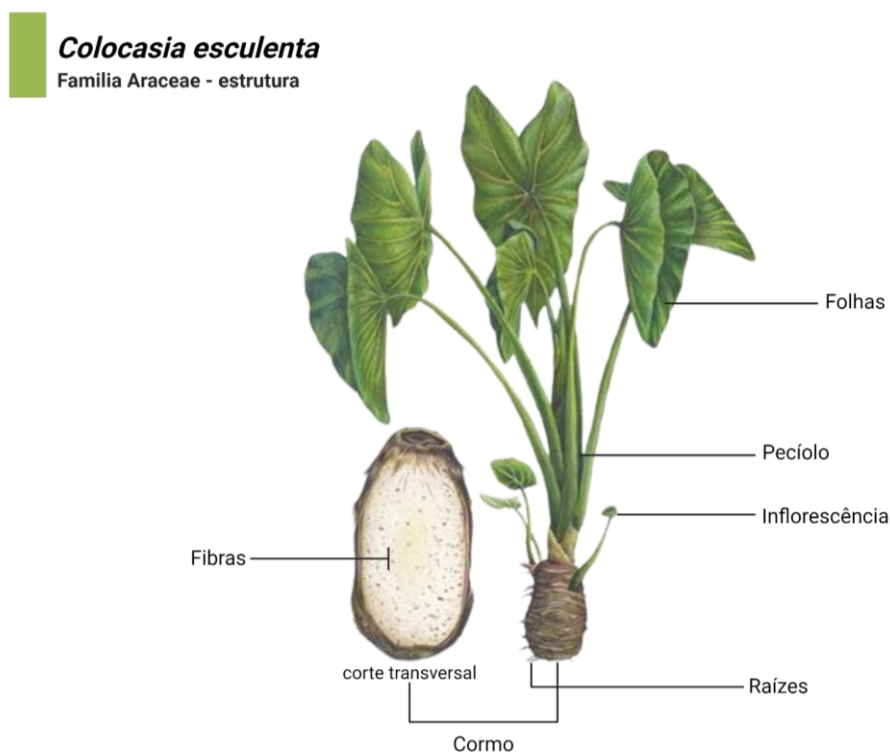


Figura 5: Caracterização do taro (*Colocasia esculenta*). Biorender (2026).

A *Colocasia esculenta* é amplamente cultivada em países da Ásia, Oceania e Caribe, incluindo Japão (particularmente Okinawa), Filipinas, Indonésia, Sri Lanka e Fiji, além de ter sido introduzida nos Estados Unidos como alternativa à batata, em virtude de seu valor nutricional e teor proteico (ANIYA *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2011). Contudo, ainda é associada ao cultivo de subsistência, sendo majoritariamente cultivada por pequenos produtores e negligenciada em grandes centros urbanos (ABELE, 2004)

Sua adaptabilidade a ambientes úmidos e solos ricos em matéria orgânica favorece o desenvolvimento do corno subterrâneo, estrutura de reserva que concentra elevado teor de amido e constitui a principal fração utilizada para consumo humano. Os cornos representam o principal órgão de interesse econômico da cultura, não apenas pelo valor energético, mas pela complexidade estrutural e bioquímica que os caracteriza (PEREIRA *et al.*, 2020).

Culturalmente, o taro é considerado sagrado em regiões como Havaí, Malanésia, e Micronésia, onde todas as partes são consumidas diariamente (DA SILVA, 2011), entretanto, convencionalmente os cornos são considerados a parte comestível, sobretudo no Brasil. Algumas espécies podem conter componentes considerados nocivos no taro cru, como o oxalato de cálcio, portanto o consumo do taro é preferencialmente cozido. Pode ser consumido a partir de diversas preparações e o cozimento não afeta significativamente seu valor nutricional, sendo livre de glúten e gorduras, considerado uma opção benéfica para pessoas em dietas restritivas e alérgicas enquanto o amido presente nos cornos pode contribuir para reduzir o risco de diabetes tipo II, controle do nível glicêmico e obesidade (SIMSEK, 2012; PEREIRA *et al.*, 2020; TAN *et al.*, 2025).

Muitos componentes bioativos já foram relatados no taro, especialmente associados a ação terapêutica. O taro é considerado como um remédio natural na medicina tradicional popular, sendo utilizado para tratar e prevenir doenças ao longo do tempo. As bioatividades encontradas nos tubérculos de inhame incluem ação antitumoral, imunomoduladora, antimutagênica, anti-hiperglicêmica, anti-hipercolesterolêmica e antioxidante, que têm sido atribuídas principalmente aos seus polifenóis, proteínas, mucilagem, polissacarídeos, lipídios e antioxidantes não polifenólicos. (PEREIRA *et al.*, 2020; TAN *et al.*, 2025)

Muitos desses princípios bioativos já foram identificados e testados individualmente, demonstrando o potencial terapêutico do taro. As moléculas bioativas identificadas no taro incluem tarina, polissacarídeo taro-4-I, polissacarídeos de inhame 1 e 2 (TPS-1/TPS-2), inibidores de α -amilase A-1/B-2, monogalactosildiacilgliceróis (MGDGs) e digalactosildiacilgliceróis (DGDGs). Em conjunto, esses dados indicam claramente que os efeitos biológicos exercidos pelo taro são possivelmente um efeito sinérgico de múltiplos

compostos que demonstram eficácia não apenas contra diversas linhagens de células cancerígenas, mas também contra alguns dos principais fatores de risco externos para o câncer, como radicais livres, agentes mutagênicos e carcinogênicos e condições fisiopatológicas como obesidade e diabetes tipo II (TAN *et al.*, 2025).

O extrato bruto dos cormos de *Colocasia esculenta* apresenta quatro proteínas principais quando analisado por SDS-PAGE, das quais duas são albuminas (A1 e A2) e as duas outras são globulinas (G1 e G2) (HIRAI *et al.*, 1993). As duas globulinas e uma das albuminas já foram caracterizadas. A globulina da família G1 representa cerca de 40% do total de proteínas solúveis do cormo e, é composta por um grande número de isoformas de 12,5 kDa com pontos isoelétricos variando de 5,5 a > 9,5 (Carneiro e Rodrigues., 1990; DE CASTRO *et al.*, 1992, MONTE-NESHICH *et al.*, 1995).

1.3.1 TARINA

A tarina é uma lectina pertencente à família das lectinas relacionadas à *Galanthus nivalis agglutinin* (GNA), purificada a partir do extrato bruto dos cormos de *Colocasia esculenta*. A tarina corresponde à globulina G1, representando aproximadamente 40% das proteínas solúveis totais. A proteína é codificada pelo gene tar1, sendo sintetizada como um protômero de aproximadamente 27–28 kDa, posteriormente clivado pós-traducionalmente em duas cadeias não idênticas (figura 6), que constituem sua forma funcional, bandas identificadas na análise das sequências de aminoácidos pertencente a *Colocasia esculenta*. (BEZERRA *et al.*, 1995; de CASTRO *et al.*, 1992; PEREIRA *et al.*, 2021).

Cada monômero apresenta um sítio de ligação a carboidratos contendo uma sequência típica das lectinas da família GNA. Contudo, a tarina distingue-se por apresentar uma região expandida de reconhecimento glicânico, permitindo interação não apenas com oligomanoses simples, mas também com N-glicanos complexos e de alto teor de manose (PEREIRA *et al.*, 2015; MATTOS *et al.*, 2021).

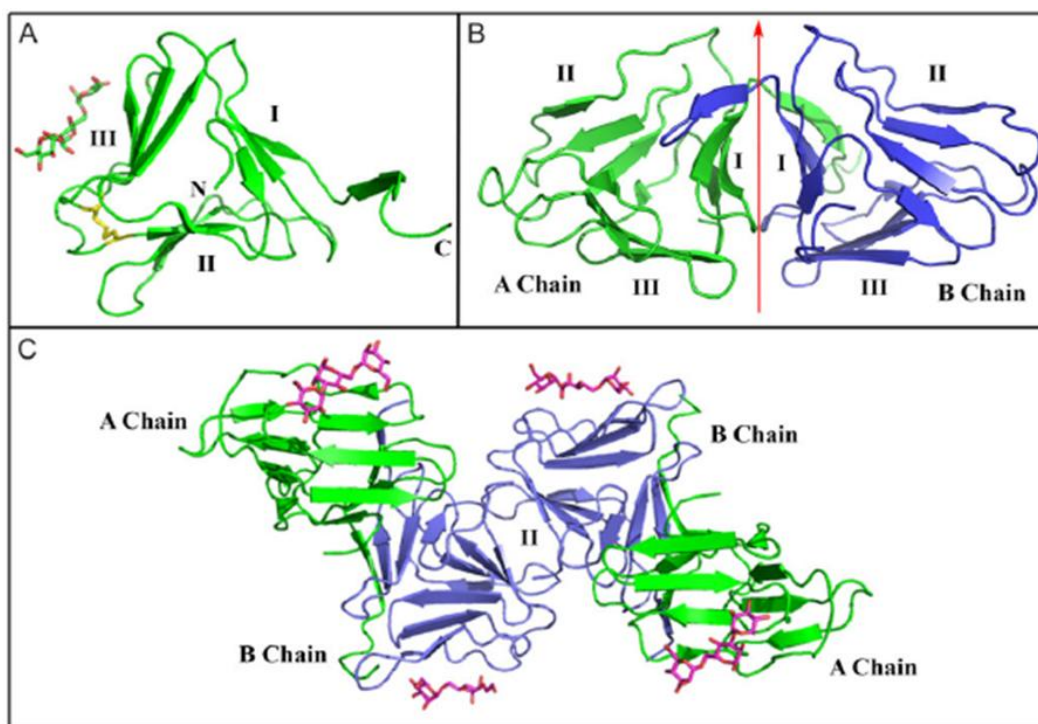


Figura 6: Representação cristalográfica da organização tetramérica da tarina (~47 kDa), composta por dois heterodímeros idênticos. Cada heterodímero é formado pelas cadeias A (~11,9 kDa) e B (~12,7 kDa), originadas a partir do processamento proteolítico do precursor codificado pelo gene tar1. (PEREIRA *et al.*, 2017)

Purificada com sucesso em coluna de cromatografia de afinidade, em uma matriz Cibacron Blue, com grau de pureza acima de 90%, a tarina foi estruturalmente caracterizada e estudada quanto à sua afinidade por carboidratos. Sabe-se que extratos aquosos de taro contém quatro proteínas principais, sendo duas classificadas como albuminas (A1 e A2) e outras duas como globulinas (G1 e G2), como é o caso da tarina.

A análise estrutural cristalográfica demonstrou que a tarina apresenta alta estabilidade conformacional, mantendo sua funcionalidade em diferentes valores de pH e diferentes temperaturas (PEREIRA *et al.*, 2018). O purificado analisado é constituído por diversas isoformas com a mesma massa molecular onde pelo menos 10 delas foram identificadas, com pontos isoelétricos variando de 5,5 a 9,5.

A tarina também revelou ser uma glicoproteína contendo 2-3% de glicosilação. Estudos sobre a especificidade desta proteína pela técnica de glycan microarray mostraram que ela é capaz de ligar a N-glicanas complexas e com alto teor de manose (PEREIRA *et al.*, 2014 e 2015). Essa arquitetura estrutural associada à especificidade por N glicanos

complexos possibilita a atividade biológica, incluindo interação com glicoconjugados expressos em células tumorais, células hematopoéticas e patógenos (PEREIRA *et al.*, 2015 e 2021).

Os cormos de *C. esculenta* funcionam como órgãos de armazenamento de amido, proteínas e metabólitos bioativos. Nesse contexto, a tarina integra o repertório de proteínas de defesa acumuladas nesse tecido de reserva, desempenhando papel primário na proteção contra fitopatógenos e insetos, também apresentando propriedades farmacológicas relevantes (PEREIRA *et al.*, 2021; MERIDA *et al.*, 2018).

A tarina apresenta um amplo espectro de bioatividades terapêuticas *descritas in vitro e in vivo*, incluindo efeitos antitumorais e antivirais. Estudos demonstram que a lectina é capaz de reduzir a proliferação de células tumorais murinas e humanas, além de inibir a colonização pulmonar em modelos experimentais (MERIDA *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2015). Adicionalmente, foram descritas atividades antivirais associadas à sua interação com glicanos de envelope viral, evidenciando potencial inibitório em diferentes modelos experimentais (PEREIRA *et al.*, 2021).

No contexto hematopoético, a tarina demonstrou capacidade de estimular a proliferação de células esplênicas e da medula óssea, bem como induzir a proliferação e diferenciação da linhagem granulocítica, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, acelerando a recuperação medular em modelos de imunossupressão induzida por ciclofosfamida (PEREIRA *et al.*, 2014, 2015; MERIDA *et al.*, 2018). Esse efeito parece estar relacionado à sua ligação a N-glicanos em células progenitoras hematopoéticas, com consequente ativação de vias de sinalização envolvidas na proliferação e diferenciação celular, sugerindo potencial aplicação como agente adjuvante em contextos de mielotoxicidade induzida por quimioterapia (PEREIRA *et al.*, 2015; MERIDA *et al.*, 2018).

Além disso, diferentemente de agentes estimuladores clássicos da hematopoiese, a tarina potencialmente é capaz de modular múltiplas linhagens celulares simultaneamente, promovendo recuperação global do compartimento hematopoético sem apresentar citotoxicidade associada (MATTOS *et al.*, 2021).

Com base nos resultados obtidos pelo nosso grupo até presente momento, pode-se inferir que a administração de tarina em camundongos mielossuprimidos pode proteger progenitores hematopoiéticos, principalmente de linhagens granulocíticas, antecipando proliferação, diferenciação e consequente repovoamento da medula óssea e liberação de novos leucócitos para sangue periférico (PEREIRA et al., 2014, 2015; MERIDA et al., 2018). Considerando que muitos agentes quimioterápicos podem causar mielossupressão, e que muitos dos pacientes sofrem de reações adversas a fatores de crescimento que podem interromper o esquema terapêutico, a tarina pode ser considerado como uma molécula adjuvante imunomoduladora promissora em regimes quimioterápicos.

Embora os resultados até aqui apresentados tenham sido obtidos em modelo murino através de avaliações *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*, são relevantes e devem ser avaliados como potencial adjuvante na estimulação da medula óssea. O presente estudo é de grande importância para aplicação da lectina do taro na área médica como uma alternativa no tratamento de pacientes com imunodeficiência da medula óssea decorrente de condições patológicas e ou em tratamentos terapêuticos das doenças neoplásicas

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar do efeito de uma lectina do taro (*Colocasia esculenta*) na recuperação da mielossupressão de camundongos induzida por administração de carboplatina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a curva dose-resposta na mielossupressão de camundongos induzida pela carboplatina;
- Avaliar as alterações hematológicas de camundongos mielossuprimidos pela carboplatina tratados com tarina;
- Avaliar *in vivo* e *in vitro* o efeito da lectina tarina sobre progenitores hematopoiéticos remanescentes da medula óssea de animais mielossuprimidos por carboplatina;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 TARO E PREPARAÇÃO DO EXTRATO BRUTO DA *COLOCASIA ESCULENTA*

A obtenção do extrato bruto de *Colocasia esculenta* foi através da extração das proteínas do taro, que foi realizada por uma modificação do protocolo descrito por ROY *et al.*, (2002), onde 50 g do taro foram homogeneizadas juntamente com uma solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,2 M e 1 g/L de ácido ascórbico (10 mL/g de peso), com pH 7,0. Após isso o homogeneizado foi centrifugado (3000 xg por 10 minutos) e foi realizada a coleta do sobrenadante, que, posteriormente, foi filtrado com gaze. Após essa etapa, foi adicionado cloreto de cálcio (CaCl₂) a 20 mM, onde foi ajustado o pH para 9,0, a solução foi estocada *overnight* a 8°C. A solução foi centrifugada, a seguir o *overnight*, a 3000 xg por 10 minutos, onde foi coletado o sobrenadante e o pH reajustado para 4,0, onde, imediatamente, após, foi realizada a centrifugação a 3000 xg por 10 minutos e o sobrenadante foi estocado novamente *overnight* em banho de gelo. O pH foi ajustado para 7,5 e o precipitado foi removido através da centrifugação a 9000 xg por 20 minutos. O extrato bruto foi aliquoteado e estocado a -20°C para posterior purificação da lectina tarina e análise da concentração de proteínas. (ROY *et al.*, 2002)

3.2 PURIFICAÇÃO DA TARINA

Frações do extrato bruto foram diluídas em tampão Tris-HCL 20mM na proporção 1:1, sendo filtradas e adicionadas a uma coluna cromatográfica (1,6 x 20 cm) contendo a matriz Cibacron Blue 3GA (Sigma-Aldrich Co, MO, USA), acoplada a uma bomba peristáltica a um coletor, previamente equilibrada com tampão Tris-HCL 10 mM, pH 7,5. A proteína adsorvida na coluna foi eluída com TRIS HCL 10mM + NaCl 0,4M em frações a 2mL/min no coletor e posteriormente liofilizada. A absorbância das frações obtidas foi determinada em espectrofotômetro com filtro para 280nm.

Para os experimentos, foi estabelecido que a tarina liofilizada seria pesada e veiculada em tampão TRIS ou salina fisiológica para experimentos *in vivo* e meio RPMI-1640

para cultivo celular, em proporção de 1mg/mL. A quantificação de proteínas no extrato bruto e nas frações eluídas da coluna foi realizada pelo método descrito por Lowry *et al.*, (1951). As amostras proteicas foram analisadas por eletroforese em gel de poliácridamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 12,5%, conforme descrito por LAEMMLI (1970).

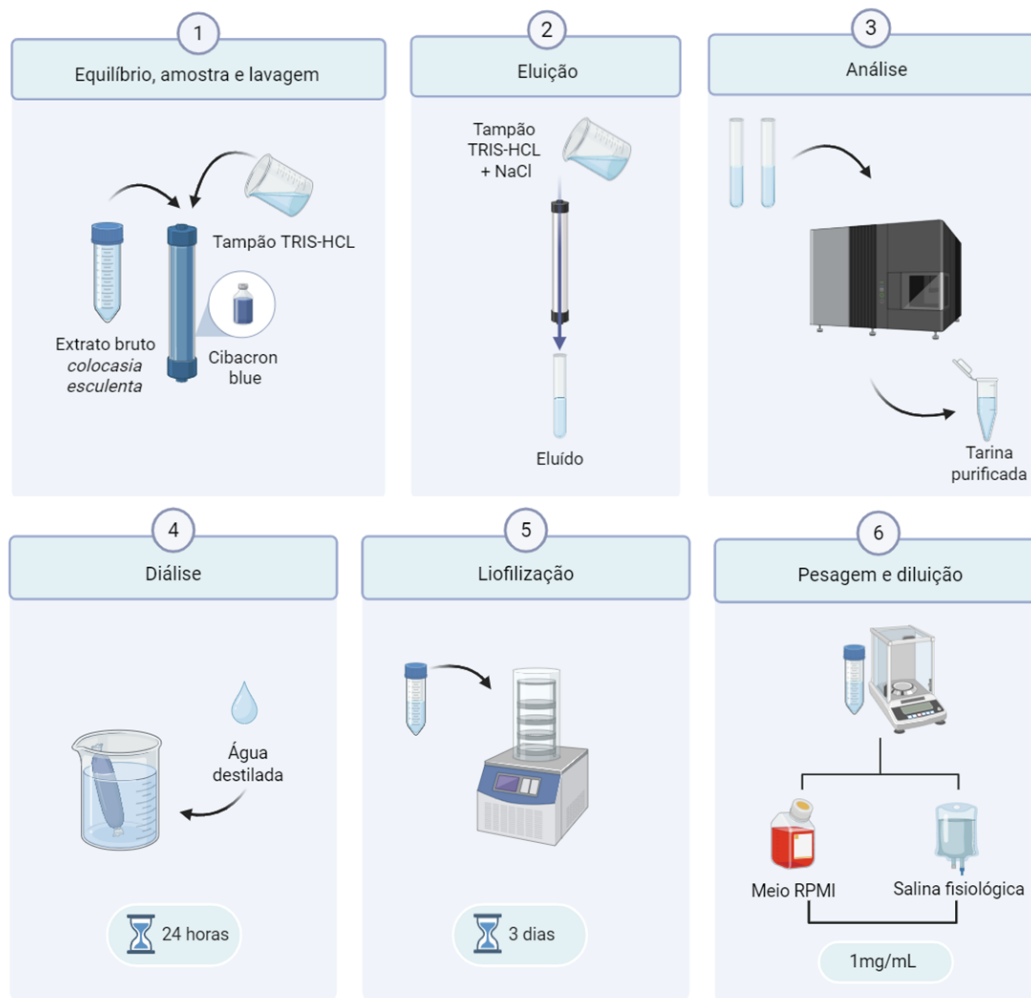


Figura 7: Protocolo de purificação realizado. Produzido pela própria autora (2025).

3.3 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos machos, adultos da linhagem C57BL/6, com 8 a 12 semanas de idade com peso entre 25 a 30g, criados no Núcleo de Animais de Laboratório (NAL) e mantidos em ambiente climatizado ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), com controle de umidade, ciclo

claro/escuro de 12/12 horas e acesso irrestrito a água e alimento no Biotério Experimental do Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização Animal (CEUA) da Universidade Federal Fluminense, sob o nº 9435050324.

3.6 CONTAGEM DE CÉLULAS TOTAIS DO SANGUE PERIFÉRICO:

Amostras de sangue de foram coletadas através de punção da veia caudal, sob anestesia de isoflurano (Syntec, Tamboré - SP). As contagens de leucócitos foram realizadas em hemocitômetro de Neubauer, utilizando o corante de Turk em diluição 1:50.

3.7 OBTENÇÃO DAS SUSPENSÕES CELULARES DA MEDULA ÓSSEA E MIELOGRAMA

Os animais foram eutanasiados com de isoflurano (Syntec, Tamboré - SP) e, em seguida, as células da medula óssea foram removidas dos fêmures em condições estéreis, em meio RPMI-1640. As células foram contadas em hemocitômetro de Neubauer. A partir das amostras da suspensão total de células da medula óssea foram preparadas lâminas por citocentrifugação e em seguida coradas com May-Grunwald-Giemsa.

3.8 ANÁLISE FENOTÍPICA DAS POPULAÇÕES CELULARES DA MEDULA ÓSSEA POR CITOMETRIA DE FLUXO

Amostras celulares do sangue periférico e das culturas foram submetidas a citometria de Fluxo (Cytoflex), e analisadas por meio do programa Flowjo 10. As amostras celulares foram marcadas para as seguintes populações celulares: linfócitos T (anti-CD3), células estromais (anti CD117 (c-Kit), anti Ly-6A/E (Sca1) e células tronco hematopoiética (anti-CD34), além de marcação para progenitores hematopoiéticos utilizando o Biotin anti-mouse Lineage Panel (Biolegend - anti-mouse CD3ε, clone 145-2C11; anti-mouse Ly-6G/Ly-6C, clone RB6-8C5; anti-mouse CD11b, clone M1/70; anti-mouse CD45R/B220, clone RA3-6B2; anti-mouse TER-119/Erythroid Cells, clone TER-119.)

A estratégia de gating consistiu em células (SSC-A/FSC-A) > single cells (FSC-A/FSC-H) > Marcadores (FL1/2/3) ou populações identificadas em regiões da medula (SSC-A/FSC-A).

Tabela 1: Painel de marcadores utilizado para as análises de citometria de fluxo.

Amostra	Painel utilizado	Clone	Fluoróforo
Suspensões celulares do fêmur		D7	APC
	- Ly-6A/E (Sca-1)	IL-7RαDD	APC
	- CD127	S18020H	PE
	- CD117 (c-Kit)		
	- Biotin anti-mouse Lineage Panel (CD3ε, CD11b, CD45R/B220, TER119/Erythroid Cells	145-2C11; Ly-6G/Ly-6C; RB6-8C5; M1/70; RA3-6B2; TER-119	FITC, APC

3.11 MODELO EXPERIMENTAL DE MIELOSSUPRESSÃO COM CARBOPLATINA

Os animais receberam carboplatina (B-Platin injetável, Blau Farmacêutica S/A, Cotia, Brasil) nas dosagens de 50mg/Kg e 100mg/Kg no dia zero (D0). A sobrevivência dos camundongos foi observada durante 10 dias, e nos dias 3 e 7 amostras de sangue periférico foram coletadas através de punção da veia caudal para contagem de leucócitos. Em repetição, 3 camundongos de cada grupo foram eutanasiados nos dias 3, 7 e 10 para coleta células do fêmur e submetidos à análises de citometria de fluxo (figura 8). A partir das análises, foi definida a melhor dosagem capaz de causar mielossupressão para os experimentos posteriores.

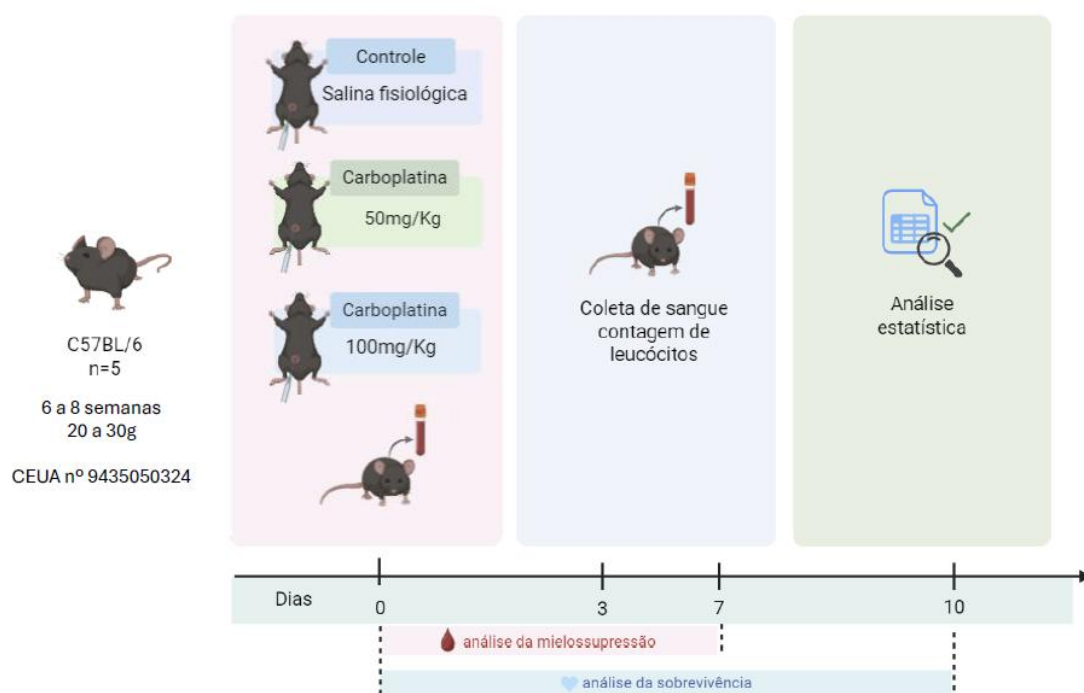


Figura 8: Desenho experimental da mielossupressão por carboplatina. Produzido pela própria autora (2026)

3.12 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA EM CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA

Os animais foram divididos em 4 grupos, constituídos por cinco camundongos, que receberam pela via intraperitoneal (ip) uma das seguintes preparações: o grupo I, 200µL de TRIS-HCL 10mM; o grupo II, 0,2mg da lectina diluída em tampão TRIS-HCL 10mM, o grupo III, 50mg/Kg de carboplatina e grupo IV, 50mg/Kg de carboplatina + 0,2mg da lectina diluída em tampão TRIS-HCL 10mM. Nos dias 0 (antes da administração) 3, 6 e 9 os animais foram anestesiados para coleta das amostras de sangue periférico e contagem de leucócitos. Nos dias 3, 6 e 9, dois animais de cada grupo foram eutanasiados para a coleta de suspensões celulares destinadas à citometria de fluxo e ao cultivo celular. Os animais restantes dos grupos II e IV receberam reforço de 200 µg de tarina, enquanto o grupo controle recebeu 200 µL de tampão TRIS HCL 10 mM (figura 9).

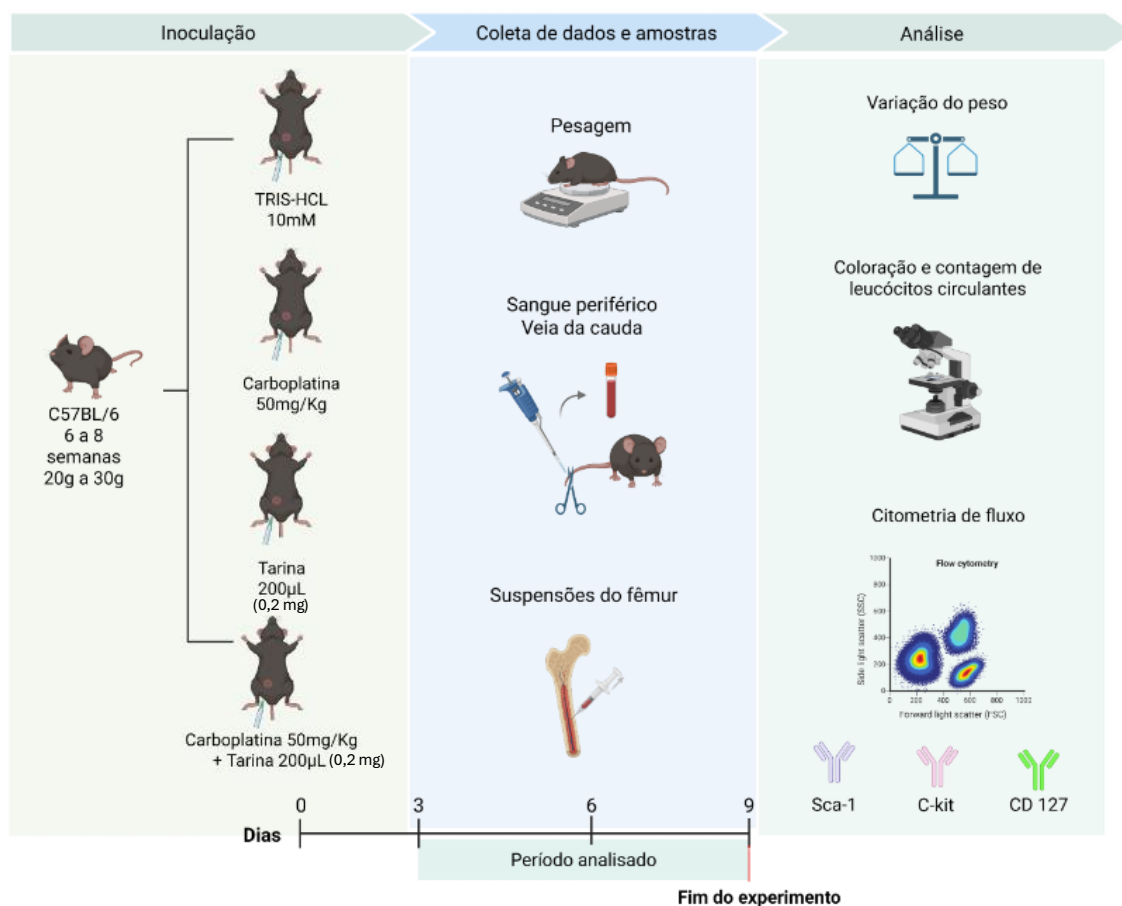


Figura 9: Desenho experimental do efeito da tarina em camundongos mielossuprimidos por carboplatina. Produzido pela própria autora (2026)

3.15 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA SOBRE PRECURSORES HEMATOPOIÉTICOS REMANESCENTES DE CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA

Os animais foram divididos em grupo controle, que recebeu uma única injeção intraperitoneal de salina fisiológica estéril e o grupo carboplatina, que recebeu de 50mg/Kg de carboplatina (B-Platin injetável, Blau Farmacêutica S/A, Cotia, Brasil) pela via intraperitoneal. No terceiro dia os animais foram eutanasiados através de superdosagem de anestésico, e em seguida os fêmures e tíbias foram removidos em condições estéreis para obtenção de células de medula óssea por flushing utilizando PBS estéril 1x. As células

foram centrifugadas, contadas em hemocítômetro de Neubauer e suspensões ajustadas a 2×10^6 /mL foram cultivadas em meio RPMI-1640 suplementado com 2 mM L-glutamina, 5×10^{-5} M 2-beta-mercaptoethanol, penicilina e estreptomicina, recebendo adição de tarina (40 μ g/mL) (figura 10). Nos dias 4 e 8 as culturas foram observadas no microscópio óptico e fotografadas, sendo avaliadas quanto ao número de células por campo microscópico e área ocupada por células utilizando o software ImageJ (figura 11).

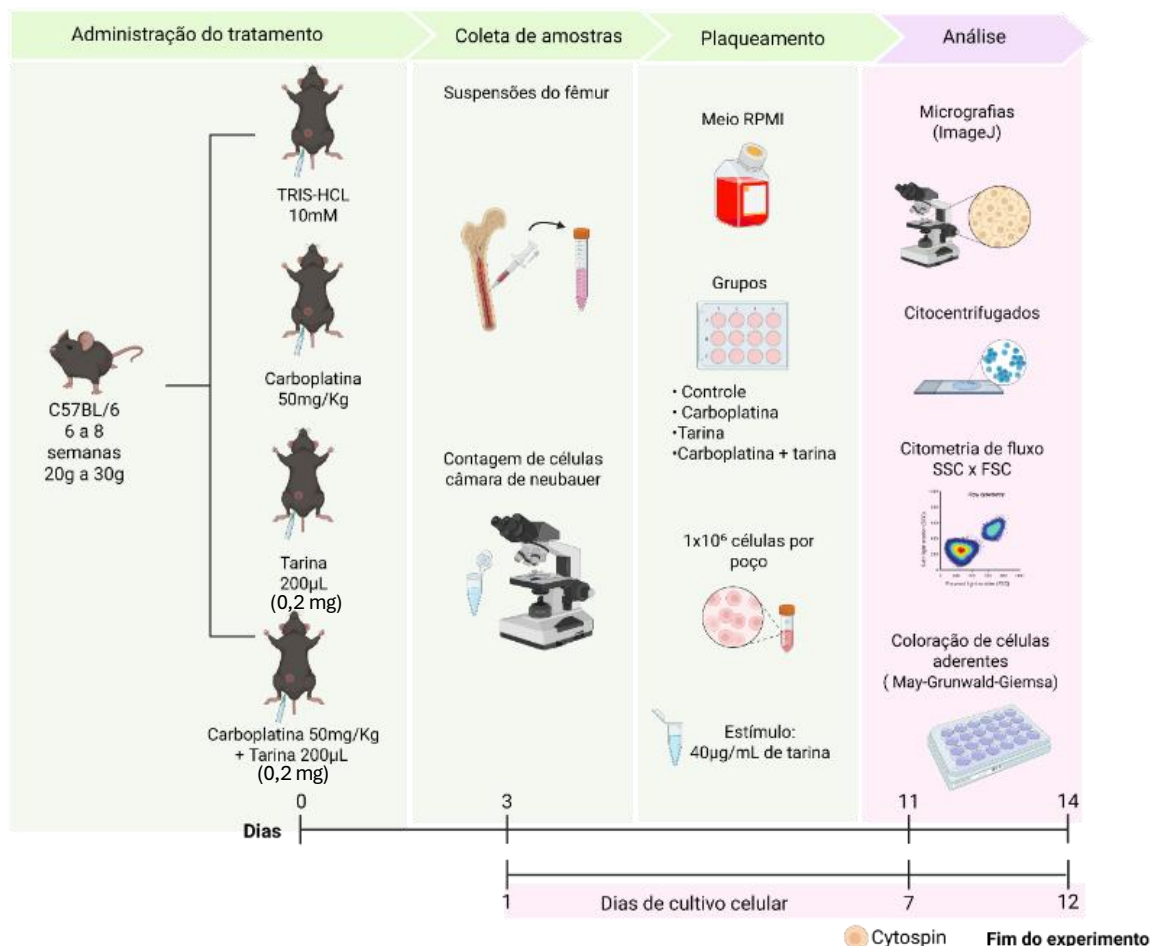


Figura 10: Desenho experimental do efeito da tarina sobre precursores hematopoiéticos de animais mielossuprimidos por carboplatina. Produzido pela própria autora (2026)

A estratégia de análise quantitativa das micrografias a partir do software ImageJ consistiu na delimitação de núcleos identificados em cada micrografia a partir do programa, com ajustes pontuais. Em seguida, foi utilizada a função “*analyze particles*”, que contabiliza todos os núcleos delimitados e informa a quantidade de células por campo microscópico observado e área ocupada, considerando a área total da micrografia. Após analisar todas

as replicatas, os dados foram registrados e a média de valores por grupo e análise estatística foi realizada utilizando o software Graphpad Prism (figura 11).

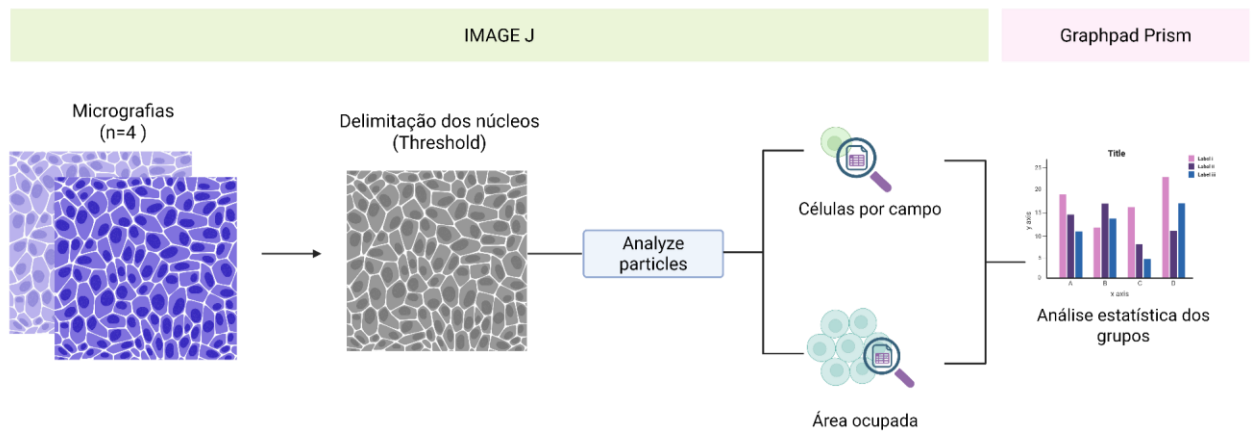


Figura 11: Estratégia de análise quantitativa das micrografias utilizando o software ImageJ.
Produzido pela própria autora (2026)

3.16 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando a análise de variância (ANOVA) one-way ou two-way, seguido de pós-teste de Tukey para múltiplas comparações e log Rank (Mantel-Cox) para avaliar as curvas de sobrevivência. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 9.5.

4. RESULTADOS

4.1 MODELO EXPERIMENTAL DE MIELOSSUPRESSÃO COM CARBOPLATINA

Visando avaliar a curva cinética da carboplatina, foram administradas doses de 50mg/kg e 100mg/kg via intraperitoneal no dia 0, além de solução salina fisiológica no grupo controle. A dose de 100mg/kg resultou em 100% de mortalidade nono dia (figura 12A). Ambas as doses causaram mielossupressão, com o nadir leucocitário no terceiro dia; apenas o grupo 50mg/kg apresentou recuperação dos leucócitos semelhante ao controle após esse período (figura 12B).

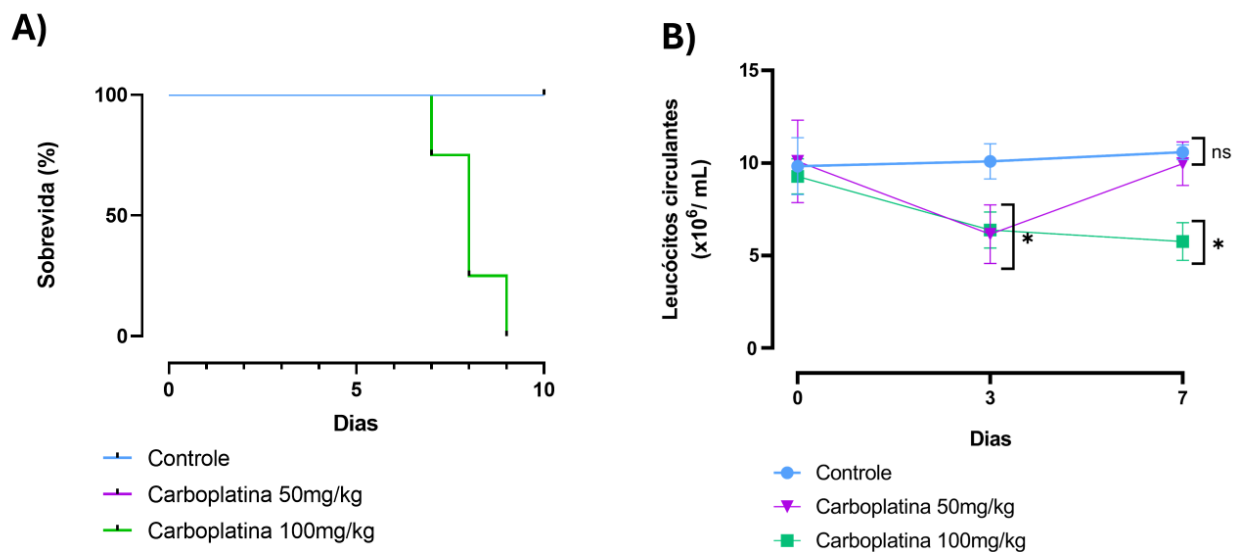


Figura 12: Sobrevivência e mielossupressão induzida por carboplatina. (A) Curva de sobrevivência dos camundongos monitorada por 10 dias. **(B)** Análise quantitativa dos leucócitos circulantes no sangue periférico dos grupos controle e carboplatina nas concentrações de 50mg/kg e 100mg/kg. Os experimentos utilizaram 15 animais (n=5 por grupo). Os valores estão representados em médias ± SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns – não significativo.

4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA EM CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA

Foi realizada a análise do protocolo que envolveu a mielossupressão dos animais com 50 mg/Kg carboplatina no início do experimento (D0) seguido pela administração de 200 mg/Kg de tarina nos dias 3, 6 e 9. A análise do sangue periférico do terceiro dia, mostrou que os animais mielossuprimidos sem estímulo de tarina tiveram uma queda significativa na contagem de leucócitos em comparação ao grupo controle ($p=0,0001$), enquanto que o grupo tratado com tarina 50mg/Kg apresentou um declínio menor, mas ainda assim significativamente relevante em relação ao grupo não tratado ($p=0,0041$) e ao controle ($p= <0,0001$).

Observou-se que o grupo mielossuprimido tratado com tarina apresentou recuperação gradual já a partir do terceiro dia. Em contraste, o grupo mielossuprimido sem tratamento mostrou uma recuperação mais lenta, aproximando-se dos valores observados nos outros grupos apenas no nono dia. (figura 13).

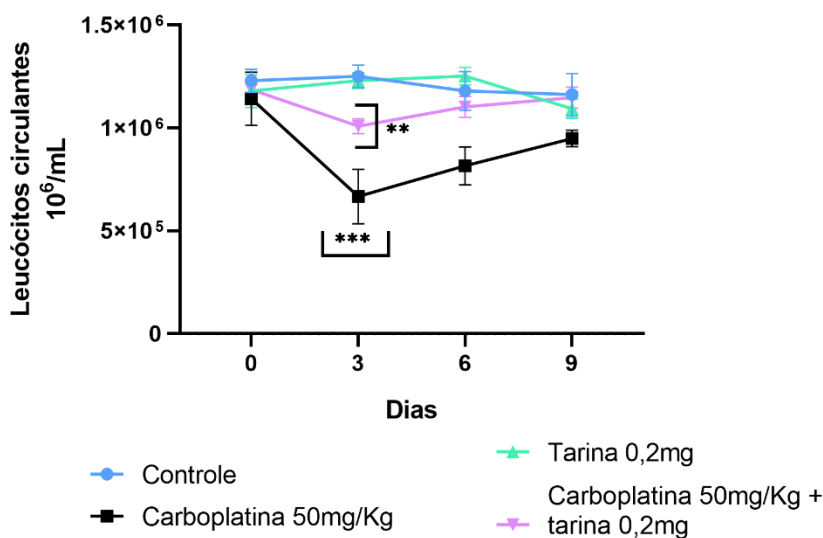


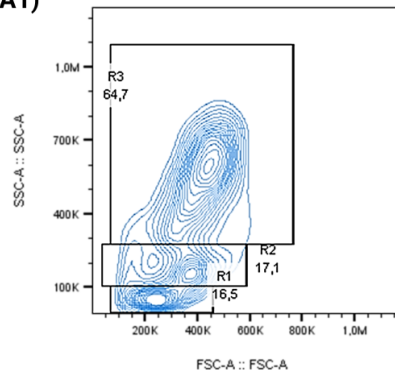
Figura 13: Sangue periférico de animais mielossuprimidos e tratados com tarina. Análise quantitativa dos leucócitos circulantes no sangue periférico dos grupos controle (TRIS-HCL 10 mM), tarina 0,2mg, carboplatina 50mg/Kg e carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$.

As amostras das suspensões celulares da medula óssea foram examinadas por meio de gráficos de morfologia celular baseados nos parâmetros de tamanho (Forward Scatter – FSC) e de complexidade ou granulosidade interna (Side Scatter – SSC). A análise da relação entre tamanho e granulosidade permitiu a identificação de diferentes populações celulares, classificadas como R1, R2 e R3 (figura 14A). Os citogramas apresentados na figura 4 demonstram as variações nos parâmetros de FSC e SSC das células de medula óssea extraídas dos fêmures de camundongos C57BL/6 no terceiro dia de avaliação.

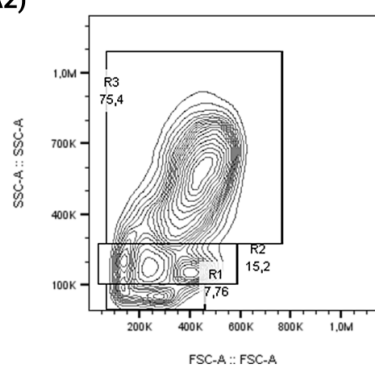
Ao comparar os citogramas (*countour plot*) e as análises quantitativas das regiões delimitadas, conforme figura 14(B-D), verifica-se que, na região R1 — referente às células de menor tamanho e granulosidade — ocorreu redução significativa nos animais imunossuprimidos, tratados ou não com tarina, bem como no grupo tratado somente com tarina, em comparação ao grupo controle ($p<0,01$). Na região intermediária/monoblástica (R2), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos avaliados. Ressalta-se na região R3 que, tanto nos animais imunossuprimidos quanto nos tratados com tarina, houve uma tendência de aumento, porém apenas o grupo imunossuprimido apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ($p<0,01$).

A)

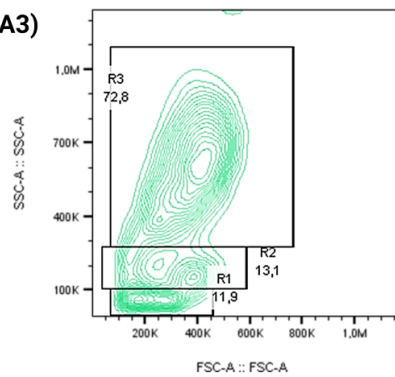
A1)



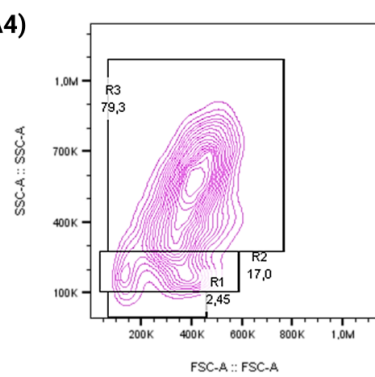
A2)



A3)



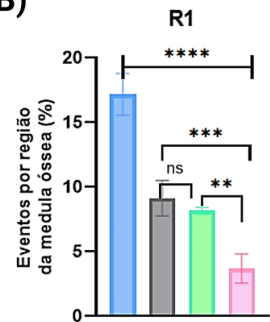
A4)



Legenda

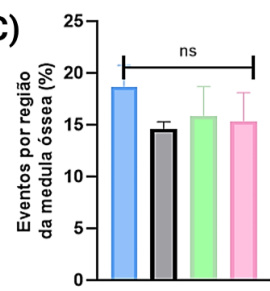
- Controle
- Carboplatina 50mg/Kg
- Tarina 0,2mg
- Carboplatina 50mg/Kg + tarina 0,2mg

B)



R2

C)



R3

D)

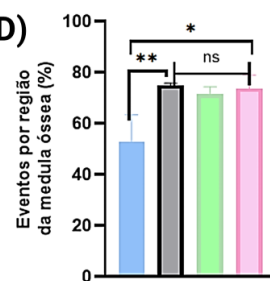


Figura 14: Citometrias de fluxo de animais mielossuprimidos e tratados com tarina. Análise dos parâmetros de tamanho (FSC) e complexidade (SSC) de células do fêmur de animais mielossuprimidos no 3º dia após o tratamento. (A) Representação das populações identificadas através de *contour plot*. (A1) Controle (A2) Carboplatina 50mg/Kg, (A3) Tarina 0,2mg (A4) carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. (B) Análise quantitativa da região R1, (C) Análise quantitativa da região R2, (D) Análise quantitativa da região R3. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0002$ p**** $p < 0.0001$.

Ademais, no 3º dia de análise observou-se um aumento expressivo de células com o marcador Sca-1+ no grupo carboplatina (Q3), concomitante a uma queda do marcador c-Kit+ (Q1, figura 15B; tabela 2). Os demais grupos registraram valores baixos para Sca-1+, e o grupo imunossuprimido que recebeu tarina exibiu uma redução um pouco mais branda de c-Kit+. (figura 15D; tabela 2).

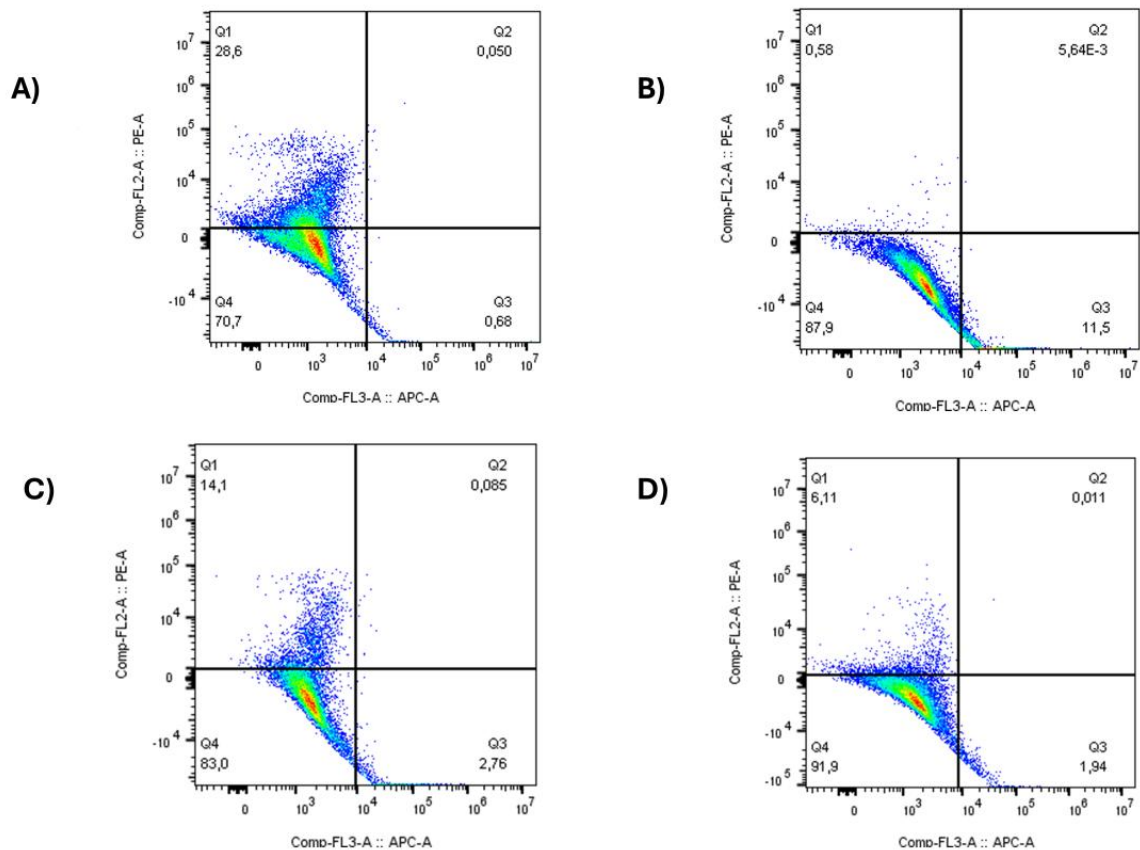


Figura 15: Citometrias de fluxo de animais mielossuprimidos e tratados com tarina. *Dot plots* representativos das frequências de c-kit (FL2: PE) e Sca-1 (FL3: APC). **(A)** controle, **(B)** carboplatina 50mg/Kg, **(C)** tarina 0,2mg **(D)** carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. Análise de relação entre c-kit (eixo y) e Sca-1 (eixo x) de células do fêmur de animais mielossuprimidos, coletadas no 3º dia após tratamento. Animais do grupo carboplatina registraram um aumento considerável de Sca-1 e redução de c-kit no 3º dia de tratamento. Animais do grupo carboplatina tratados com tarina registraram menor decaimento de Sca-1 e preservação parcial de c-Kit, sugerindo atenuação ao dano provocado pela mielossupressão. **(Q1)** c-Kit+ Sca-1- **(Q2)** c-Kit+ Sca-1+ **(Q3)** c-Kit- Sca-1+ **(Q4)** c-Kit- Sca-1- .

Tabela 2: Variação de c-kit e Sca-1 na medula óssea de animais suprimidos e tratados com tarina. Análise quantitativa da presença de c-kit + Sca-1- (região Q1) e Sca-1+ c-Kit- (Q3) em de células do fêmur de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina no 3º dia após o tratamento. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD.

Tipo celular	Grupo	% Q1 (c-Kit+ Sca-1-)	% Q2 (c-Kit+ Sca-1+)	% Q3 (c-Kit- Sca-1+)	% Q4 (c-Kit- Sca-1-)
Suspensões do fêmur	Controle	28,6 $\pm$ 0,5	0,6 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,1	71,2 $\pm$ 0,3
	Carboplatina	0,6 $\pm$ 0,3	3,9 $\pm$ 0,9	12,1 $\pm$ 0,3	85,4 $\pm$ 0,1
	Tarina	15 $\pm$ 0,9	0,9 $\pm$ 0,2	2,6 $\pm$ 0,1	80,1 $\pm$ 0,2
	Carboplatina + tarina	6,2 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,1	90,3 $\pm$ 0,2

4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TARINA SOBRE PRECURSORES HEMATOPOIÉTICOS REMANESCENTES DE CAMUNDONGOS MIELOSSUPRIMIDOS POR CARBOPLATINA

As culturas de células da medula óssea dos animais mielossuprimidos realizadas no terceiro dia após a administração da carboplatina 50mg/kg, foram estimuladas com a tarina 40 μ g/mL e analisadas nos dias 4 e 8. Culturas estimuladas com a tarina apresentaram aumento da quantidade de células por campo microscópico (figura 16B) e maior porcentagem de área ocupada em todos os dias registrados (figura 16C), sobretudo no dia 8 (figura 16 A3-4). De forma oposta, os demais grupos (controle e carboplatina) apresentaram um decréscimo celular marcado no 8º dia (figura 16A1-2), sugerindo que a tarina induz a proliferação celular mesmo em condições de mielossupressão, podendo ser útil para recuperação de leucopenia em camundongos.

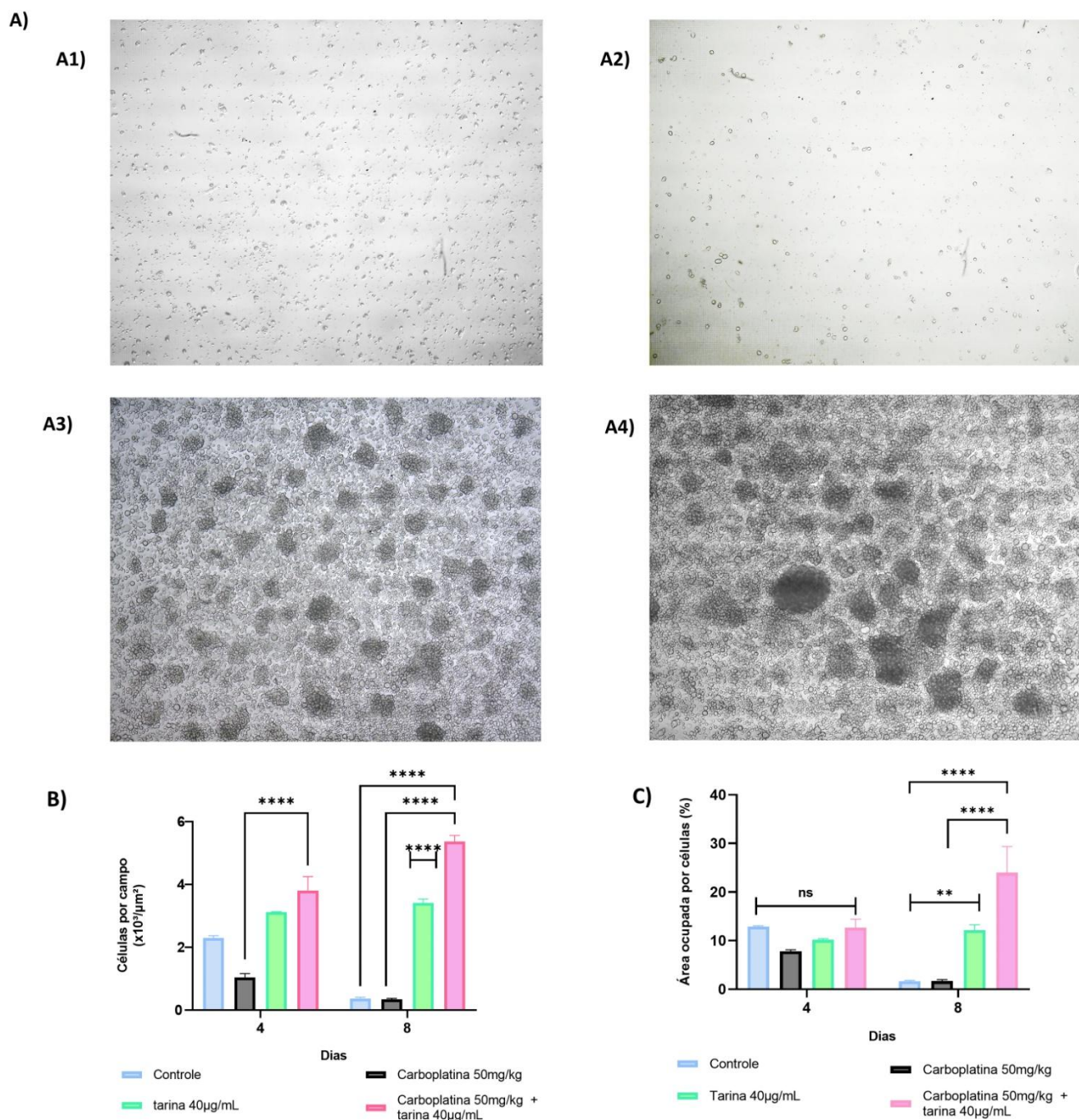


Figura 16: Células mielossuprimidas estimuladas com tarina. (A) Micrografias representativas do cultivo de células do fêmur de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina na concentração de 40µg/mL, registradas no 8º dia. (A1) controle, (A2) carboplatina 50mg/Kg, (A3) tarina 40µg (A4) carboplatina 50mg/Kg + 40µg de tarina. Objetiva de 20x. (B) Análise quantitativa de células por campo registrado, em µm². (C) Análise quantitativa da porcentagem de área ocupada por células por campo registrado. As análises quantitativas foram realizadas utilizando o software ImageJ, considerando a área total aproximada de 0,75 mm² (1280 × 960 px, 0,78µm/pixel). Os valores estão representados em médias ± SD. *p <0.05, **p <0.01, ns – não significativo.

Também observou-se morfologia alterada nas culturas que receberam tarina, com muitos clusters semelhantes a unidades formadoras de colônia (UFCs) observados e contados no 8º dia (tarina ± 40 UFCs; carboplatina + tarina ± 58 UFCs >50 células por campo microscópico de 1280 $\times$ 960 px, 0,78 μ m/pixel). O grupo mielossuprimido apresentou UFCs maiores (figura 17) e mais numerosos por campo microscópico analisado em relação ao grupo não mielossuprimido, com diferença significativa ($p < 0,0001$, Figura 18). De outra parte, os grupos que não receberam estímulo da lectina não apresentaram agregados.

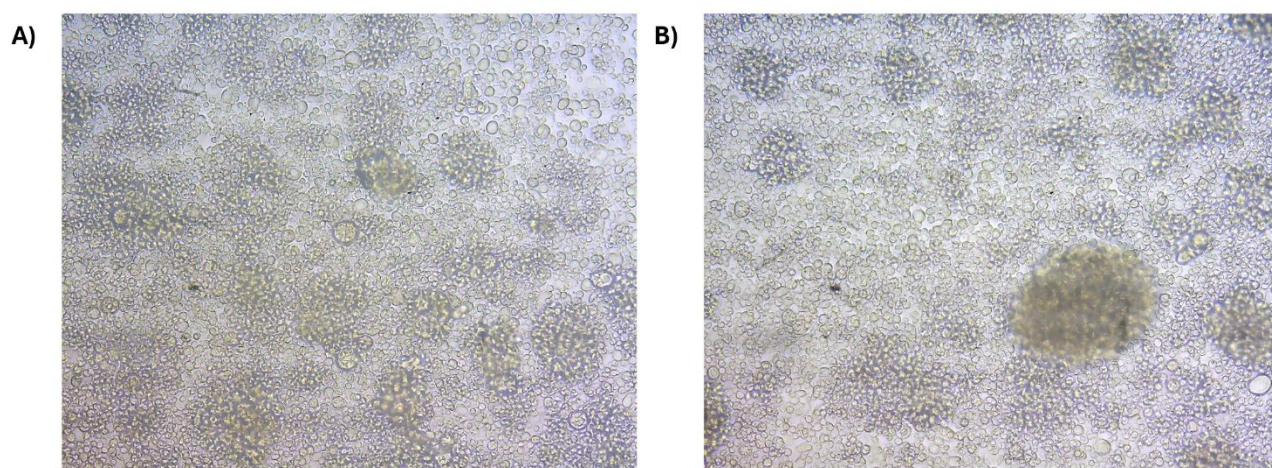


Figura 17: UFCs presentes no 8º dia de cultivo. Micrografias de células do fêmur de camundongos mielossuprimidos e estimulados com tarina, enfatizando as unidades formadoras de colônias. **(A)** tarina 40 μ g. **(B)** carboplatina 50mg/Kg + 0,2mg de tarina. Objetiva de 20x.

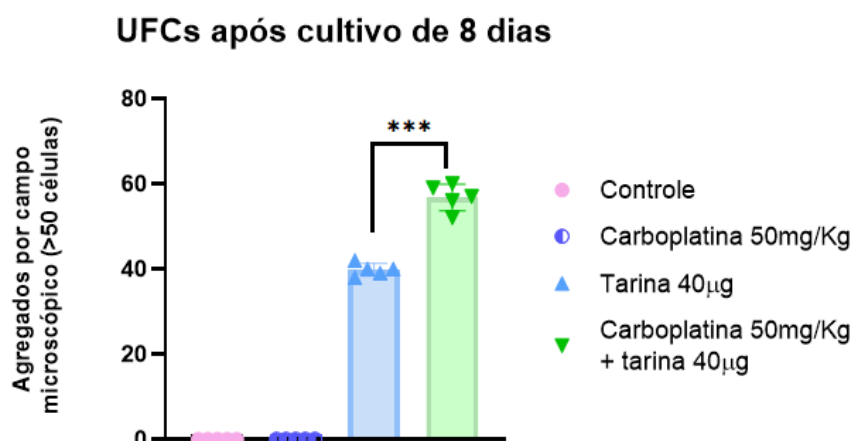


Figura 18: Análise quantitativa de UFCs presentes no 8º dia de cultivo. Os valores estão representados em médias $\pm$ SD. ** $p < 0,01$, p*** $< 0,0001$.

Amostras da placa de cultivo foram recolhidas no 12º dia e analisadas através de citometria de fluxo considerando parâmetros de tamanho e granulosidade (SSC e FSC).

Observou-se que os grupos estimulados com tarina apresentaram células maiores, com a presença de uma população deslocada ocupando a região inferior do eixo SSC (gate R1), não visualizada nos grupos não estimulados (figura 19).

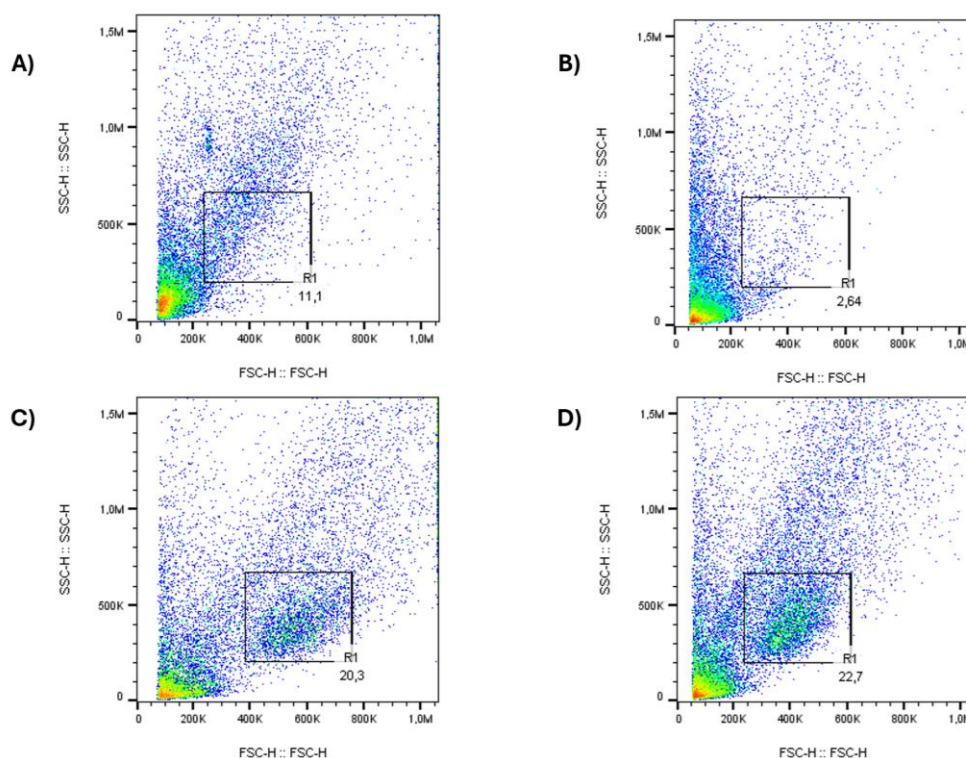


Figura 19: Citometrias de fluxo do 12º dia de cultivo de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina. Análise dos parâmetros de tamanho (FSC) e complexidade (SSC) de células do fêmur de animais mielossuprimidos e estimulados com tarina. **(A)** controle, **(B)** carboplatina 50mg/Kg, **(C)** tarina 40µg **(D)** carboplatina 50mg/Kg + 40µg de tarina. R1 representa população observada no cultivo.

A análise de citocentrifugados do 8º dia de cultivo demonstrou que as culturas estimuladas com tarina apresentam células majoritariamente mononucleadas, além da presença de neutrófilos observados por todo o campo analisado (figura 20C e D). A cultura mielossuprimida não estimulada com tarina exibiu escassez celular sem a presença de neutrófilos visíveis, reproduzindo as características de neutropenia associadas ao medicamento (figura 20B).

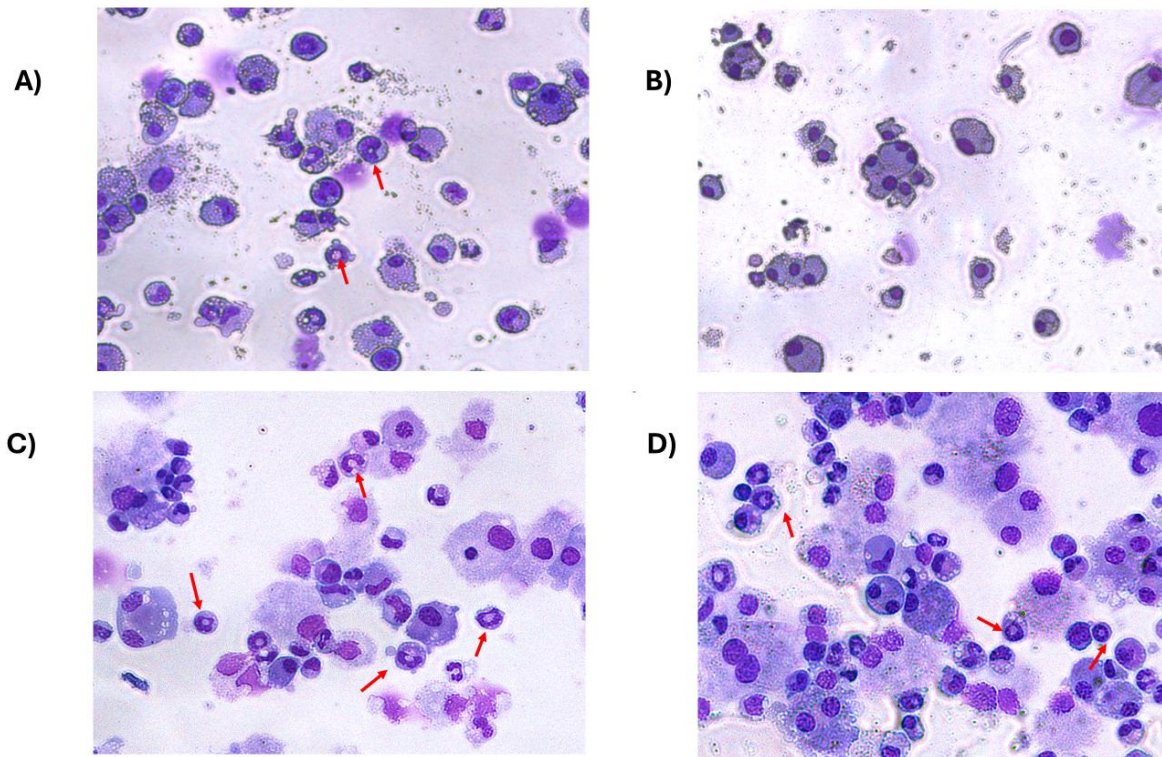


Figura 20: Citocentrifugados do 8º dia de cultivo celular. (A) controle, (B) carboplatina 50mg/Kg, (C) tarina 40µg (D) tarina 40µg + carboplatina 50mg/Kg. Setas indicam neutrófilos.

No 12º dia o cultivo foi encerrado e a placa foi lavada com PBS, sendo posteriormente corada para visualização de células aderidas remanescentes. Observou-se a presença de algumas células prolongadas no grupo controle e escassez celular no grupo carboplatina (figura 21-A). Os grupos estimulados com tarina apresentaram um padrão celular semelhante, exibindo células grandes e pequenas organizadas em forma de “ilha” (figura 21C) ou em padrão orbital, onde uma célula maior é orbitada por várias células menores (figura 21D). Os grupos que receberam a tarina demonstram organização semelhante, contudo, diferem completamente dos demais grupos não tratados.

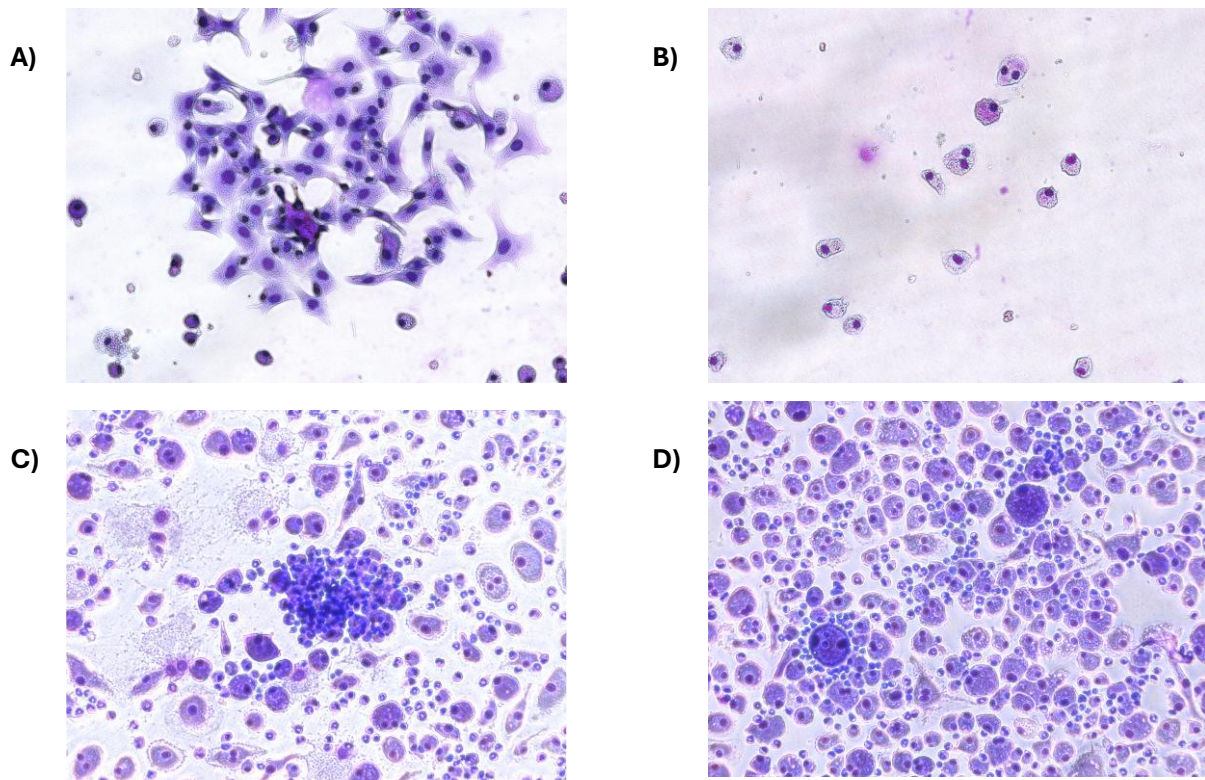


Figura 21: Células aderidas após 12 dias de cultivo celular. (A) controle, (B) carboplatina 50mg/Kg, (C) tarina 40µg (D) carboplatina 50mg/Kg + 40µg de tarina.

5. DISCUSSÃO

Os fármacos à base de platina, cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, são amplamente utilizados na quimioterapia para a erradicação do câncer. No entanto, os efeitos colaterais desses fármacos, como a falta de seletividade, a alta toxicidade sistêmica e a resistência medicamentosa, limitam seriamente sua aplicação clínica. (ZHANG , 2022). A carboplatina é um dos principais medicamentos à base de platina usados como agentes antitumorais. É destinada especificamente ao tratamento de câncer de testículo, ovário, cabeça, pescoço e carcinoma de pequenas células do pulmão (DASARI e TCHOUNWOU, 2014) Entretanto, o principal efeito da carboplatina é a mielossupressão, que ocorre em aproximadamente 20–40% dos pacientes tratados com doses convencionais de carboplatina e em mais de 90% dos pacientes tratados com altas doses. Os principais sintomas da mielossupressão induzida por carboplatina incluem trombocitopenia e neutropenia. Consequentemente, a mielossupressão induzida por carboplatina leva à anemia nos pacientes (MARANI *et al.*, 1966; GROOPMAN e ITRI, 1999) e limita consideravelmente o efeito terapêutico da carboplatina em prolongar a sobrevida de pacientes com tumores. Portanto, atenuar a toxicidade da carboplatina tornou-se um alvo importante na terapia do câncer

Os resultados obtidos neste estudo com carboplatina indicam que a dosagem de 50 mg/kg foi adequada para os camundongos, promovendo uma redução significativa dos leucócitos circulantes no terceiro dia após a administração e evidenciando recuperação substancial até o sétimo dia, sem mortalidade. Em contrapartida, a dosagem de 100 mg/kg agravou progressivamente o quadro de leucopenia, culminando na morte de todos os animais. Esses dados sugerem que dosagens de 100 mg/kg podem ser fatais para camundongos da linhagem C57BL/6, enquanto estudos de Jan *et al.*, (2021) em camundongos BALB/c utilizaram uma dosagem de 90 mg/kg. Ressalta-se que Jan e colaboradores basearam sua metodologia no peso corporal, equivalente à dose terapêutica humana de 400 mg/m², conforme calculado pelo método de Freireich *et al.*, (1966). Não há registros na literatura sobre diferenças de sensibilidade entre linhagens isogênicas de camundongos. Para futuros estudos, considera-se relevante avaliar concentrações

próximas às letais para experimentos voltados à sobrevivência de animais mielossuprimidos tratados com carboplatina, visando posteriormente amenizar seus efeitos deletérios através da utilização de tarina.

Os resultados do efeito da tarina na mielossupressão *in vivo* sugerem uma atenuação da leucopenia observada a partir do terceiro dia após o tratamento. Os animais mielossuprimidos e não tratados com tarina apresentaram um decaimento significativo dos leucócitos circulantes no terceiro dia após o tratamento, comportamento não observado nos animais que receberam a tarina associada a carboplatina. A leucopenia induzida por carboplatina decorre do efeito citotóxico do fármaco sobre células hematopoéticas altamente proliferativas, levando à redução transitória do compartimento leucocitário circulante em consequência da mielossupressão (SZEFLER *et al.*, 2021; ZHANG, 2022). Nesse contexto, a recuperação mais rápida dos leucócitos periféricos observada após a administração de tarina sugere modulação da dinâmica hematopoética, ainda que a análise do sangue periférico isoladamente não seja suficiente para a determinação do mecanismo celular envolvido.

A composição celular da medula óssea pós-quimioterapia sofre alterações drásticas, como evidenciado pela dinâmica das propriedades de dispersão da luz, analisada segundo os parâmetros tamanho versus granulosidade. A medula óssea não tratada pode ser dividida, de forma geral, em áreas de granulócitos e linfócitos, além da área intermediária de células com morfologia blastoide (YANKELEVIT, 2008). A análise da relação entre tamanho e granulosidade das populações celulares da medula óssea dos animais que receberam carboplatina, tratado ou não com tarina demonstrou um aumento da população de granulocíticas e diminuição da área de população de menor tamanho e granulosidade corresponde a população linfoide. O mesmo foi observado com animais tratados com tarina, com observações anteriores realizada pelo nosso grupo de pesquisa (MERIDA *et al.*, 2018 e MATTOS *et al.*, 2021). Desta forma, estas observações corroboram com estudos anteriores, como o realizado por Yankelevit (2008), argumentando que a maioria dos progenitores mieloides em divisão é eliminada da medula óssea precocemente e reaparece posteriormente após a quimioterapia; e consequentemente, células-tronco quiescentes e granulócitos maduros residuais compõem a maior parte da medula óssea logo após a quimioterapia.

Uma possível interpretação alternativa do adensamento da população granulocítica pode ser dialogada através do conceito de granulopoiese de emergência, descrito por Manz *et al.*, (2014), como um programa adaptativo desencadeado em situações de inflamação sistêmica, infecção ou dano hematopoético. Diferente da hematopoiese basal, esse processo envolve reprogramação funcional das CTHs, viés mieloide transitório, expansão acelerada de progenitores granulocítico-monocíticos (GMPs) e aumento da produção de neutrófilos no compartimento periférico. Tal resposta é sustentada por citocinas mieloestimuladoras, como G-CSF e IL-6, que remodelam o nicho medular e modulam o equilíbrio entre autorrenovação e diferenciação.

Foi também realizada a análise da expressão conjunta de c-Kit (CD117) e Sca-1 (Stem Cell Antigen-1) na medula óssea, sendo que Sca-1 é considerado um marcador clássico para identificação e isolamento de Células-Tronco Hematopoéticas (CTHs) com alta capacidade de autorrenovação e células progenitoras multipotentes. Alterações nos marcadores de superfície dessas populações, avaliadas por citometria de fluxo, indicam que a carboplatina promoveu uma significativa redução na expressão de c-Kit, concomitante ao aumento da expressão de Sca-1, sugerindo uma rápida diferenciação do compartimento LSK em progenitores mieloides c-Kit⁺/Sca-1⁻. Em contrapartida, a administração de tarina promoveu uma diminuição parcial da expressão de c-Kit sem alteração significativa de Sca-1 em relação aos controles não manipulados. Ressalta-se que, devido à indisponibilidade de reagentes específicos, não foi possível avaliar a expressão de Flk2, o que teria contribuído para uma caracterização mais detalhada do compartimento LSK em progenitores mieloides c-Kit⁺/Sca-1⁻, células mieloides maduras c-Kit⁻/Sca-1⁻ e nas poucas células LSK residuais que mantiveram sua identidade original, ainda que apresentando certa flutuação na expressão dos marcadores.

Em suma, os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com o viés de linhagem de produção das linhagens mieloide e linfoide em resposta às demandas hematopoéticas verificado por outros pesquisadores (PIETRAS *et al.*, 2015; MAYLE, 2013).

Entretanto, a maior diferença na resposta ao dano pode ser explicada a partir das diferenças observadas nas análises de Sca-1 e c-Kit. A expressão de Sca-1 não é fixa, sendo altamente induzível por interferons e outras citocinas, especialmente interferons do tipo I

e IFN- γ . Essers *et al.*, (2009) demonstraram que a ativação por IFN- α leva à saída da quiescência de CTHs e ao aumento da expressão de Sca-1, caracterizando um estado funcional de ativação transitória. De forma complementar, Baldridge *et al.*, (2010) mostraram que o IFN- γ atua diretamente sobre CTHs, promovendo ativação e proliferação em contextos de inflamação crônica. Esses resultados foram obtidos rastreando fenotipicamente células que expressavam os marcadores de células-tronco c-Kit e Sca-1, mas não os marcadores canônicos de diferenciação de linhagem (as chamadas células KSL) (BALDRIDGE *et al.*, 2010; FENG, 2008).

Considerando que a tarina é capaz de promover células da linhagem granulocítica *in vitro*, investigamos, em etapa subsequente, as alterações promovidas por essa lectina em culturas de medula óssea obtidas de camundongos mielossuprimidos por carboplatina, empregando a concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$. Observou-se que, após oito dias de cultivo, as células provenientes dos animais do grupo controle não manipulados apresentavam predominantemente morfologia fibroblastóide, com raríssima presença de células granulocíticas. Em contraste, as culturas derivadas de animais tratados com carboplatina evidenciaram a presença de células binucleadas, com núcleos arredondados, sugerindo alterações morfológicas associadas ao insulto citotóxico.

Nas culturas estabelecidas a partir de animais imunossuprimidos e suplementadas com tarina, verificou-se a formação de um estroma confluyente composto por células com características fibroblastóides ao longo do período de cultivo, além da presença de pequenos e médios clusters e colônias. Esses mesmos achados morfológicos foram observados nas culturas de medula óssea de animais não imunossuprimidos tratadas com tarina, porém de forma mais evidente e em maior quantidade, indicando um possível efeito modulador da tarina sobre a organização estromal e a formação de clusters celulares.

Ao avaliar as lâminas de citocentrifugado, foram identificadas células com morfologia compatível com a linhagem granulocítica. Esses achados indicam que a tarina pode interagir com o estroma da medula óssea, promovendo a secreção de fatores de crescimento capazes de estimular a proliferação e diferenciação de CTHs e progenitores em células da linhagem granulocítica, convergendo com dados previamente publicados pelo grupo, nos quais a tarina demonstrou favorecer diferenciação da linhagem granulocítica *in vitro* e *in vivo*, além de promover a recuperação hematopoética após

imunossupressão induzida por ciclofosfamida (PEREIRA *et al.*, 2014; 2015; MERIDA *et al.*, 2018). A observação de neutrófilos nos citocentrifugados de culturas estimuladas com tarina indicam uma possível atuação na recuperação da neutropenia causada pela carboplatina, sugerindo que a tarina possivelmente tem aplicabilidade na recuperação dos efeitos relacionados ao medicamento. Os resultados sugerem, ainda que, após o tratamento com carboplatina, a tarina favorece a estimulação dos progenitores mieloides remanescentes na medula óssea. Considera-se, portanto, a hipótese de que a tarina possa atuar na indução de fatores de crescimento, possivelmente incluindo o G-CSF, colaborando para a proliferação e diferenciação dessas células.

Os achados do presente estudo corroboram evidências da literatura que apontam o potencial de compostos naturais como moduladores da hematopoiese em condições de estresse, como a mielossupressão induzida por quimioterapia. Em particular, a tarina demonstra capacidade de estimular a proliferação e diferenciação de células da medula óssea de forma dose-dependente, promovendo aumento na formação de colônias e expansão de progenitores hematopoéticos, além de favorecer a manutenção de um microambiente estromal funcional. Esse efeito parece estar associado à sua capacidade de atuar como molécula mimética de citocinas, com atividade semelhante a IL-3 e GM-CSF, promovendo a expansão da linhagem granulocítica e a ativação de vias associadas à sobrevivência e diferenciação celular.

Além disso, a indução de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento por células estimuladas pela tarina sugere um mecanismo indireto de amplificação da resposta hematopoética, integrando sinais celulares e do nicho medular. Em conjunto, esses dados reforçam o potencial da tarina como agente adjuvante em protocolos quimioterápicos, possivelmente atuando não apenas na recuperação medular, mas também na reprogramação funcional do microambiente hematopoético, aspecto particularmente relevante frente à limitação dos fatores de crescimento tradicionais, que atuam de maneira mais restrita em linhagens específicas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 CONCLUSÃO

O presente trabalho investigou o potencial da lectina tarina na recuperação da mielossupressão murina induzida por carboplatina, com foco em alterações hematológicas e citomorfológicas. Os resultados obtidos demonstraram que:

1. A dose de 50mg/kg promove mielossupressão temporária com leucopenia e neutrofilia, sem registro de mortalidade em camundongos da linhagem C57BL/6.
2. A tarina administrada em conjunto com a carboplatina é capaz de atenuar significativamente a leucopenia associada a mielossupressão, com ação observada mesmo no nadir do medicamento
3. O tratamento com tarina manteve ou intensificou o adensamento granulocítico, corroborando estudos prévios que demonstram sua capacidade de estimular proliferação e diferenciação da linhagem mieloide, especialmente granulocítica.
4. *In vivo*, a tarina foi capaz de manter parcialmente populações de progenitores mieloides, preservando a funcionalidade do nicho hematopoético.
5. *In vitro*, a tarina pode atuar tanto diretamente sobre progenitores hematopoéticos quanto indiretamente via modulação do microambiente medular.
6. A tarina pode estimular progenitores mieloides remanescentes após mielossupressão, possivelmente por meio da indução de fatores de crescimento hematopoéticos, como G-CSF, favorecendo a recuperação da neutropenia

6.2 PERSPECTIVAS

Embora os resultados corroborem com a hipótese do potencial da tarina como agente imunomodulador adjuvante em regimes quimioterápicos, análises mais detalhadas necessitam ser realizadas. A avaliação da resposta ao dano através da citometria de fluxo considerando mais pontos temporais pode esclarecer de forma mais completa o panorama das variações de populações da medula óssea, elucidando de que forma ocorre a recuperação gradual da mielossupressão induzida observada nos leucogramas.

Além disso, o uso de um painel de marcadores mais robusto, como marcadores da expressão de Flk2, contribuiria para uma determinação mais detalhada do compartimento LSK em progenitores mieloides. Além disso, marcadores como CD34, CD16/32, CD150 e CD48 possibilitariam a análise de progenitores granulocítico-monocítico e SLAM, agregando e refinando a interpretação dos resultados obtidos.

In vitro, a análise do sobrenadante das culturas contribuiria fortemente para a caracterização mais detalhada do microambiente celular estimulado com tarina, com foco em G-CSF, GM-CSF, IL-6 e IFN- α / IFN- γ , permitindo a avaliação da ação direta sobre progenitores e ação indireta via microambiente estromal, elucidando o efeito da tarina sobre a modulação hematopoiética.

7. SEÇÃO PÓS TEXTUAL

7.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOLFSSON J, MÅNSSON R, BUZA-VIDAS N, HULTQUIST A, LIUBA K, JENSEN CT, BRYDER D, YANG L, BORGE OJ, THOREN LAM, ANDERSON K, SITNICKA E, SASAKI Y, SIGVARDSSON M, JACOBSEN SEW. Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential: a revised road map for adult blood lineage commitment. *Cell*. 2005;121(2):295-306.

AHARINEJAD S, FINK M, ABRI H, NEDWED S, SCHLAG MG, MACFELDA K, ABRAHAM D, MIKSOVSKY A, HÖLTL E, HÖLTL W. Efficient carboplatin single therapy in a mouse model of human testicular nonseminomatous germ cell tumor. *J Urol*. 2002;167(1):368-374.

ALYAMANY R, ALNUGHMUSH A, ALZAHIRANI H, ALFAYEZ M. Let it grow: the role of growth factors in managing chemotherapy-induced cytopenia. *Curr Oncol*. 2024;31(12):8094-8109.

ANIYA Y, MIYAGI C, NAKANDAKARI A, KAMIYA S, IMAIZUMI N, ICHIBA T. Free radical scavenging action of the medicinal herb *Limonium wrightii* from the Okinawa islands. *Phytomedicine*. 2002;9(3):239-244.

BEZERRA IC, CASTRO LA. A corm-specific gene encodes tarin, a major globulin of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). *Plant Mol Biol*. 1995;28(1):137-144.

BOZHILOV YK, HSU I, BROWN EJ, WILKINSON AC. *In vitro* human haematopoietic stem cell expansion and differentiation. *Cells*. 2023;12(6).

BOYER SW, SCHROEDER AV, SMITH-BERDAN S, FORSBERG EC. All hematopoietic cells develop from hematopoietic stem cells through Flk2/Flt3-positive progenitor cells. *Cell Stem Cell*. 2011;9(1):64-73.

BUZA-VIDAS N, WOLL P, HULTQUIST A, DUARTE S, LUTTEROPP M, BOURIEZ-JONES T, FERRY H, LUC S, JACOBSEN SEW. FLT3 expression initiates in fully multipotent mouse hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 2011;118(6):1544-1548.

CALVERT AH. The clinical development of carboplatin: a personal perspective. *Inorg Chim Acta*. 2019;498:118987.

CALVERT AH, HARLAND SJ, NEWELL DR, SIDDIK ZH, JUDSON IR, GORE ME, WILTSHAW E. Early clinical studies with cis-diammine-1,1-cyclobutanedicarboxylate platinum II. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1982;9:140-147.

CALVERT AH, NEWELL DR, GUMBRELL LA, O'REILLY S, BURNELL M, BOXALL FE, SIDDIK ZH, JUDSON IR, GORE ME, WILTSHAW E. Carboplatin dosage: prospective evaluation of a simple formula based on renal function. *J Clin Oncol*. 1989;7(11):1748-1756.

CARNEIRO M, RODRIGUES CA. Isolation and characterization of the major albumin from *Colocasia esculenta* corms. *Plant Sci*. 1990;67(1):39-46.

COLOMBO, N., SESSA, C., DU BOIS, A., LEDERMANN, J., MCCLUGGAGE, W. G., MCNEISH, I., MORICE, P., PIGNATA, S., RAY-COQUARD, I., VERGOTE, I., BAERT, T., BELAROUSSI, I., DASHORA, A., OLBRECHT, S., PLANCHAMP, F., QUERLEU, D., & ESMO-ESGO Ovarian Cancer Consensus Conference Working Group (2019). ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease†. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 30(5), 672–705.

DASARI S, TCHOUNWOU PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014 Oct 5;740:364-78.

DA SILVA EE. A cultura do taro-inhame (*Colocasia esculenta* (L.) Schott): alternativa para o estado de Roraima. *Boa Vista: Embrapa Roraima*; 2011.

DE CASTRO L, CARNEIRO M. Spatial and temporal gene expression patterns occur during corm development. *Plant Cell*. 1992;4(12):1549-1559.

FUERTES MA, ALONSO C, PÉREZ JM. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. *Chem Rev*. 2003;103:645-662.

GRIBALDO L. Haematotoxicology: scientific basis and regulatory aspects. *Altern Lab Anim*. 2002;30(Suppl 2):111-113.

HIRAI M, NAKAMURA K. cDNAs encoding storage proteins in the tubers of taro (*Colocasia esculenta* Schott). *Jpn J Genet*. 1993;68(3):229-236.

JEFFERY, E. C., MANN, T. L. A., POOL, J. A., ZHAO, Z., E MORRISON, S. J. (2022). Bone marrow and periosteal skeletal stem/progenitor cells make distinct contributions to bone maintenance and repair. *Cell Stem Cell*. 2022; 29(11), 1547-1561.e6.

KHOLINA AV, BOROZDINA NA, PALIKOV VA, MIKHAYLOV ES, KRAVCHENKO IN, DALEVICH RA, PAKHOMOVA IA, KAZAKOVA EN, TIMCHENKO MA, YEGOROV AYE, MOLCHANOV MV, ERMAKOV AM, ANTONOVA OY, KOCHETKOVA OY, PANKRATOVA NM, PANKRATOV AN, ARSHINTSEVA EV, PUSHKIN SY, DYACHENKO IA, MURASHEV AN. Efficacy of poloxamer 188 in experimental myelosuppression model induced by carboplatin in CBA mice. *Int J Mol Sci*. 2025;26(15):7081.

KIEL MJ, YILMAZ OH, IWASHITA T, YILMAZ OH, TERHORST C, MORRISON SJ. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell*. 2005;121(7):1109-1121.

LARSON CA, BLAIR BG, SAFAEI R, HOWELL SB. The role of the mammalian copper transporter 1 in the cellular accumulation of platinum-based drugs. *Mol Pharmacol*. 2009.

LAEMMLI UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-685.

LAURENTI E, GÖTTGENS B. From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes. *Nature*. 2018;553(7689):418-426.

LUCAS D. Structural organization of the bone marrow and its role in hematopoiesis. *Curr Opin Hematol*. 2021;28(1):36.

LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-275.

MANZ MG, BOETTCHER S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(5):302-314.

MATTOS EBA, PEREIRA PR, MÉRIDA LAD, CORRÊA ACNTF, FREIRE MPV, PASCHOALIN VMF, TEIXEIRA GAPB, PINHO MFB, VERÍCIMO MA. Taro lectin can act as a cytokine-mimetic compound, stimulating myeloid and T lymphocyte lineages and protecting progenitors in murine bone marrow. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):350.

MÉRIDA LA. Avaliação do efeito da tarina na recuperação da hipoplasia hematopoiética induzida em camundongos. Dissertação (Mestrado em Patologia). Niterói: Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense;2017.

MÉRIDA LA, MATTOS EB, *et al.* Tarin stimulates granulocyte growth in bone marrow cell cultures and minimizes immunosuppression by cyclophosphamide in mice. *PLoS One*. 2018;13:e0206240.

MONTE-NESHICH, D. C., T. L. ROCHA, *et al.* Characterization and spatial localization of the major globulin families of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) tubers. *Plant Science*, 1995. 112(2): 149159.

NILSSON SK, JOHNSTON HM, COVERDALE JA. Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: inferences for the localization of stem cell niches. *Blood*. 2001;97(8):2293-2299.

NIAN, Qing; LIU, Rongxing; ZENG, Jinhao. Unraveling the pathogenesis of myelosuppression and therapeutic potential of natural products. **Phytomedicine**, v. 132, p. 155810, 1 set. 2024.

OLAWAIYE AB, JAVA JJ, KRIVAK TC, FRIEDLANDER M, MUTCH DG, GLASER G, GELLER M, O'MALLEY DM, WENHAM RM, LEE RB, BODURKA DC, HERZOG TJ, BOOKMAN MA. Does adjuvant chemotherapy dose modification have an impact on the outcome of patients diagnosed with advanced stage ovarian cancer? An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol*. 2018;151(1):18-23.

Oncology Nursing Society. Oncology drug reference sheet: carboplatin. 2025.

OLAWAIYE A, MONK BJ, HERZOG TJ, ROSELLA: A phase 3 study of relacorilant in combination with nab-paclitaxel versus investigator's choice in advanced, platinum-resistant, high-grade epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian-tube cancer. *J Clin Oncol*. 2022;40(16_suppl):TPS5620-TPS5620.

PATCHEN ML, MACVITTIE TJ, *et al.* Administration of interleukin-6 stimulates multilineage hematopoiesis and accelerates recovery from radiation-induced hematopoietic depression. *Blood*. 1991;77(3):472-480.

PEREIRA PR, CORRÊA ACNTF, VERICIMO MA, PASCHOALIN VMF. Tarin, a potential immunomodulator and COX-inhibitor lectin found in taro (*Colocasia esculenta*). *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2018;17(4):878-891.

PEREIRA PR, WINTER HC, *et al.* Structural analysis and binding properties of isoforms of tarin, the GNA-related lectin from *Colocasia esculenta*. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. 2015;1854(1):20-30.

PEREIRA, P. R., MEAGHER, J. L., WINTER, H. C., GOLDSTEIN, I. J., PASCHOALIN, V. M., SILVA, J. T., & STUCKEY, J. A. High-resolution crystal structures of *Colocasia esculenta* tarin lectin. *Glycobiology*. 2017; 27(1), 50–56. <https://doi.org/10.1093/glycob/cww083>

PEREIRA PR, DEL AGUILA EM, *et al.* Purification and characterization of the lectin from taro (*Colocasia esculenta*) and its effect on mouse splenocyte proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Protein J*. 2014;33:92-99.

PEREIRA PR, SILVA JT, *et al.* Crude extract from taro (*Colocasia esculenta*) as a natural source of bioactive proteins able to stimulate hematopoietic cells in two murine models. *J Funct Foods*. 2015;18:333-343.

PEREIRA P.R., WINTER H.C *et al.* Structural analysis and binding properties of isoforms of tarin, the GNA related lectin from *Colocasia esculenta*. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Proteins Proteom*. 2015; 1854:20=30.

RABIK CA, DOLAN ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*. 2007;33(1):9-23.

RODRIGUES MV. Qualidade de vida no trabalho. Dissertação (Mestrado em Administração). Belo Horizonte: Faculdade de Ciências Econômicas, Universidade Federal de Minas Gerais; 1989.

ROGKOTI T, DONNELLY H, DALBY MJ, SALMERON-SANCHEZ M. Mechanical signatures and models of the bone marrow niche. *Nat Rev Bioeng*. 2025;3(8):697-713.

ROY A, GUPTA S, *et al.* Binding of insecticidal lectin *Colocasia esculenta* tuber agglutinin (CEA) to midgut receptors of *Bemisia tabaci* and *Lipaphis erysimi* provides clues to its insecticidal potential. *Proteomics*. 2014;14(13-14):1646-1659.

SAKURAGUI CM, KATO TYG, DUTRA JUNIOR DLS, PAULINO JV. More than one taioba: morpho-anatomical differentiation of Araceae species sold under a single vernacular name and their relevance for food quality and identification. *Braz J Bot*. 2026;49(1):4.

SARMAH A, ROY RK. Understanding the preferential binding interaction of aqua-cisplatin with nucleobase guanine over adenine: a density functional reactivity theory based approach. *RSC Adv*. 2013;3(8):2822-2830.

SHABALIN I, DAUTER Z, JASKOLSKI M, MINOR W, WLODAWER A. Crystallography and chemistry should always go together: a cautionary tale of protein complexes with cisplatin and carboplatin. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2015.

SOUSA GF, WLODARCZYK SR, MONTEIRO G. Carboplatin: molecular mechanisms of action associated with chemoresistance. *Braz J Pharm Sci*. 2014;50:693-701.

TAN Y, ZHENG FJ, LIN B, CHEN J, VERMA KK, CHEN GL. From starch to bioactives: emerging trends in taro (*Colocasia esculenta* L.) research on composition, functionality, health benefits, and sustainable food potential. *Front Nutr*. 2025;12:1640156.

TRAVLOS GS. Histopathology of bone marrow. *Toxicol Pathol*. 2006;34(5):566-598.

TESTA NG, HENDRY JH, MOLINEAUX G. Hematopoiesis: long-term effects of chemotherapy and radiation. *Hematology*. 1988;8:75-88.

VAN DAMME EJ, GOOSSENS K, SMEETS K, VAN LEUVEN F, VERHAERT P, PEUMANS WJ. The major tuber storage protein of araceae species is a lectin. Characterization and molecular cloning of the lectin from *Arum maculatum* L. *Plant Physiol*. 1995;107(4):1147-1158. doi:10.1104/pp.107.4.1147

WANG Y, PROBIN V, ZHOU D. Cancer therapy-induced residual bone marrow injury: mechanisms of induction and implication for therapy. *Curr Cancer Ther Rev*. 2006;2(3):271-279.

ZHANG L, WU ZY, LI J, LIN Y, LIU Z, CAO Y, ZHANG G, GAO HF, YANG M, YANG CQ, ZHU T, CHENG MY, JI F, LI JQ, WANG K. Neoadjuvant docetaxel plus carboplatin vs epirubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel in triple-negative early-stage breast cancer (NeoCART): results from a multicenter, randomized controlled, open-label phase II trial. *Int J Cancer*. 2022;150(4):654-662.

ZHANG C, XU C, GAO X, YAO Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*. 2022;12(5):2115-2132.

ZHANG, Qing-Yu, WANG, JIA. Natural Product Interventions for Chemotherapy and Radiotherapy-Induced Side Effects. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, p. 1253, 2018.

SZEFLER B, CZELEŃ P, KRAWCZYK P. The affinity of carboplatin to B-vitamins and nucleobases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(7):3634.

ZHU Y, YUAN Y, LI Y, ZENG D, LAN L, LI N. The risk factors for chemotherapy myelosuppression in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Front Genet.* 2025;16.

7.2 ANEXOS



Universidade
Federal
Fluminense



Universidade Federal Fluminense

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do potencial terapêutico da tarina na recuperação da mielossupressão experimental induzida pela carboplatina e pela irradiação", protocolada sob o CEUA nº 9435050324 (ID 002021), sob a responsabilidade de **Maurício Afonso Vericimo e equipe; Maurício Afonso Vericimo; Marco Antonio Frota Lima; Maria Paula Vigna Freire; Jessyca Rodrigues Silva** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense (CEUA/UFF) na reunião de 09/05/2024.

We certify that the proposal "Evaluation of the therapeutic potential of Tarina in the recovery of carboplatin and irradiation experimental myelosuppression", utilizing 85 Isogenics mice (85 males), protocol number CEUA 9435050324 (ID 002021), under the responsibility of **Maurício Afonso Vericimo and team; Maurício Afonso Vericimo; Marco Antonio Frota Lima; Maria Paula Vigna Freire; Jessyca Rodrigues Silva** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University Fluminense (CEUA/UFF) in the meeting of 05/09/2024.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **07/2024 a 07/2026** Área: **Imunologia**

Origem: **Biotério Central UFF - NAL**

Espécie: **Camundongos isogênicos**

Linhagem: **C57BL/6J**

sexo: **Machos**

idade: **10 a 12 semanas** Quantidade: **85**

Peso: **20 a 25 g**

Niterói, 16 de maio de 2024

Profª Alynne da Silva Barbosa

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Fluminense

Dra. Lis Jappour Autran
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Fluminense

