



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E  
TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – PPGCITA



**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO  
EXTRATO DE *Leucopaxillus* sp. EM CAMUNDONGOS SWISS**

**YARA DE MOURA MAGALHÃES LIMA**

**RIO BRANCO - AC  
Fevereiro - 2020**

**YARA DE MOURA MAGALHÃES LIMA**

**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO  
EXTRATO DE *Leucopaxillus* sp. EM CAMUNDONGOS SWISS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Inovação Tecnológica**.

**Orientador:** Prof. Dr. Quintino Moura Dias Junior

**Co-orientador:** Profa. Dra. Clarice Maia Carvalho

**RIO BRANCO - AC  
Fevereiro – 2020**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

L732p Lima, Yara de Moura Magalhães, 1993 -

Potencial anti-inflamatório e antinociceptivo de *Leucopaxillus sp* em camundongos swiss / Yara de Moura Magalhães Lima; orientador: Dr. Quintino Moura Dias Junior e Co-orientador: Dr<sup>a</sup>. Clarice Maia Carvalho. – 2020.

113 f.: il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós – Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia, Rio Branco, 2020.

Inclui referências bibliográficas e anexos.

1. Fungos Agaricales. 2. Anti-inflamatório. 3. Antinociceptivo. I. Dias Junior, Quintino Moura (orientador). II. Carvalho, Clarice Maia (Co-orientadora). III. Título.

CDD: 351

---

Bibliotecária: Nádia Batista Vieira CRB-11º/882.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA  
PARA A AMAZÔNIA – PPGCITA

POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO  
EXTRATO DE *Leucopaxillus* sp. EM CAMUNDONGOS SWISS

YARA DE MOURA MAGALHÃES LIMA

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 20/02/2020



---

Prof. Dr. Quintino Moura Dias Jr.  
(Orientador – PPG-CITA/FIOCRUZ)



---

Prof. Dr. Wagner de Jesus Pinto  
(Membro da Banca - CCSD/UFAC)



---

Profa. Dra. Marta Adelino da Silva Faria  
(Membro da Banca - CCSD/UFAC)

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me conceder saúde e sabedoria para continuar a caminhada. Obrigada Pai, por ser a minha força e o meu guia em todos os momentos. O Seu amor me constrange.

Ao meu amado esposo **Tito Franco**, pelo companheirismo, incentivo e paciência durante todo esse percurso. Essa conquista é nossa.

À minha família, em especial os meus pais **Oswaldo Dilson e Maria de Jesus**, por acreditarem em mim, e não medirem esforços para a concretização dos meus sonhos. Sem vocês, nada seria possível.

Ao **Prof. Dr. Quintino Moura Dias Júnior**, pela orientação prestada, pelo seu incentivo, disponibilidade e apoio que sempre demonstrou. Obrigada pelo acolhimento e realização dos experimentos na FIOCRUZ-RO.

À **Prof. Dra. Clarice Maia Carvalho** pela sua disponibilidade nos trabalhos de campo, pelo seu incentivo e igualmente pelo seu apoio e contribuição científica que me deram base para na elaboração deste trabalho.

À banca de qualificação e defesa, **Prof. Dr. Wagner de Jesus Pinto e Profa. Dra. Marta Adelino da Silva Faria**, pelas valiosas contribuições.

Aos **colegas de convívio diário e de trabalho nos laboratórios de Microbiologia e Fisiofarmacologia da Universidade Federal do Acre e Neuro e imunofarmacologia da Fundação Oswaldo Cruz de Rondônia**. A caminhada ao lado de vocês foi mais leve. Grata pelo conhecimento e apoio.

À **Universidade Federal do Acre**, ao **PPG-CITA** pela minha formação.

À **Fundação Oswaldo Cruz** pela disponibilização dos animais para execução dos testes experimentais.

À **CAPES e CNPq** pelo apoio financeiro.

*A todos a minha gratidão!*

*“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos foram bem-sucedidos.”*

***(Provérbios 16:3)***

## RESUMO

### POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO EXTRATO DE *Leucopaxillus* sp. EM CAMUNDONGOS SWISS

Autor: Yara de Moura Magalhães Lima

Orientador: Quintino Moura Dias Junior

A inflamação e a dor são processos biológicos protetivos desencadeados em muitas condições prejudiciais aos organismos vivos. No entanto, seu tratamento convencional utilizando fármacos a longo prazo têm tornado limitadas as terapias atuais. Neste contexto, os produtos naturais originados de fungos, possibilitam fontes promissoras de moléculas biologicamente ativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a propriedade anti-inflamatória e antinociceptiva do extrato alcoólico de *Leucopaxillus* sp (Ext.) em camundongos swiss. Para o estudo foram coletados fungos Agaricales no Parque Zoobotânico da UFAC e na Fazenda Experimental Catuaba. Os fungos foram identificados e isolados para produção do extrato alcoólico micelial. A análise citotóxica dos extratos foi realizada em células de hepatoblastoma humano (HepG2). Para avaliar as propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias do Ext. foi utilizado o teste da formalina 1% e carragenina 1%. O teste do labirinto em cruz elevado foi empregado para verificar se o extrato alteraria as funções locomotoras dos camundongos. Para a análise estatística usou-se o software Graphpad Prism versão 8.0.3. Total de 79 fungos Agaricales foram coletados, dos quais 5 foram identificados, isolados e selecionados para a produção do extrato. O Ext. foi escolhido em virtude do melhor crescimento micelial e maior rendimento. O teste de citotoxicidade em células HepG2 do Ext apresentou  $CC_{50}$  de 54,9  $\mu\text{g/ml}$ . As doses do extrato empregadas para os testes comportamentais *in vivo* foram de 20, 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$ , que foi equivalente a ~0.5, 2 e 4 vezes a  $CC_{50}$ , respectivamente. Nos ensaios *in vivo*, a dose de 100  $\mu\text{g/ml}$  do Ext., reduziu significativamente a intensidade e duração da 2ª fase de resposta nociceptiva induzida pela formalina 1%, mas não foi efetivo na 1ª fase de resposta do teste, de modo similar ao Paracetamol. O Ext. também reduziu significativamente a intensidade e duração do edema de pata induzida pela carragenina 1% na dose de 200  $\mu\text{g/ml}$ . Por fim, o Ext. aumentou significativamente a atividade locomotora dos animais na dose de 100  $\mu\text{g/ml}$ , no teste do labirinto em cruz elevado, de modo similar ao Diazepam. Mostrando pela primeira vez que Ext. apresenta significativa atividade antinociceptiva e anti-inflamatória. O efeito biológico observado indica que o Ext. atua inibindo mediadores pró-inflamatórios induzidos na segunda fase do formalina e pela carragenina. Também pode estar associado a ação de um ou mais componentes bioativos encontrados nos fungos Agaricales tais como polissacarídeos, ácidos graxos, ácidos fenólicos, esteroides, terpenos. Estudos adicionais serão necessários para identificar as moléculas bioativas e seus respectivos mecanismos farmacológicos. Portanto, o presente estudo abre a possibilidade de exploração de fungos *Leucopaxillus* sp como fontes para bioprospecção de produtos com aplicação antinociceptiva e anti-inflamatória.

**Palavras-chave:** Fungos Agaricales; Anti-inflamatório; Antinociceptivo; Efeito sedativo.

## ABSTRACT

### ANTI-INFLAMMATORY AND ANTINOCICEPTIVE POTENTIAL OF *Leucopaxillus* sp. IN SWISS MICE

Author: Yara de Moura Magalhães Lima

Advisor: Quintino Moura Dias Junior

Inflammation and pain are protective biological processes triggered in many conditions that are harmful to living organisms. However, its conventional treatment using drugs over the long term has limited current therapies. In this context, natural products originating from fungi, provide promising sources of biologically active molecules. The aim of this work was to evaluate the anti-inflammatory and antinociceptive properties of the alcoholic extract of *Leucopaxillus* sp (Ext.) In Swiss mice. For the study, Agarical fungi were collected at the Zoobotanic Park of UFAC and at Fazenda Experimental Catuaba. The fungi were identified and isolated for the production of the mycelial alcoholic extract. The cytotoxic analysis of the extracts was performed on human hepatoblastoma (HepG2) cells. To evaluate the antinociceptive and anti-inflammatory properties of Ext., The formalin 1% and carrageenan 1% test was used. The elevated plus-maze test was used to verify whether the extract would alter the locomotor functions of the mice. For statistical analysis, Graphpad Prism software version 8.0.3 was used. A total of 79 Agarical fungi were collected, of which 5 were identified, isolated and selected for the production of the extract. Ext. Was chosen due to the better mycelial growth and higher yield. The cytotoxicity test on Ext HepG2 cells showed a CC50 of 54.9  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . The extract doses used for in vivo behavioral tests were 20, 100 and 200  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , which was equivalent to  $\sim 0.5$ , 2 and 4 times the CC50, respectively. In in vivo tests, the dose of 100  $\mu\text{g} / \text{ml}$  of Ext., Significantly reduced the intensity and duration of the 2nd phase of nociceptive response induced by formalin 1%, but was not effective in the 1st phase of the test response, similarly to the Paracetamol. Ext. Also significantly reduced the intensity and duration of paw edema induced by carrageenan 1% at a dose of 200  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . Finally, Ext. Significantly increased the locomotor activity of the animals at a dose of 100  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , in the elevated plus-maze test, similarly to Diazepam. Showing for the first time that Ext. Has significant antinociceptive and anti-inflammatory activity. The observed biological effect indicates that Ext. Acts by inhibiting pro-inflammatory mediators induced in the second phase of formalin and carrageenan. It can also be associated with the action of one or more bioactive components found in Agarical fungi such as polysaccharides, fatty acids, phenolic acids, steroids, terpenes. Additional studies will be needed to identify the bioactive molecules and their respective pharmacological mechanisms. Therefore, the present study opens the possibility of exploring *Leucopaxillus* sp fungi as sources for bioprospecting products with antinociceptive and anti-inflammatory application.

**Keywords:** Agarical fungi; Anti-inflammatory; Antinociceptive; Sedative effect.



## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Metabolismo do Ácido Araquidônico e Inflamação.....	18
Figura 2. Migração de leucócitos.....	19
Figura 3. Ilustração esquemática das estruturas gerais de Agaricales.....	27
Figura 4. Área de coleta dos fungos Agaricales.....	34
Figura 5. Metodologia para extração dos metabolitos miceliais.....	37
Figura 6. Fluxograma representando o teste de Formalina.....	40
Figura 7. Fórmula da diferença do volume da pata injetada e o controle.....	41
Figura 8. Fluxograma representando o teste de Carragenina.....	41
Figura 9. Fluxograma representando o teste do labirinto em cruz elevado.....	42
Figura 10. Fungos Agaricales selecionados para teste citotóxico e <i>in vivo</i> .....	45
Figura 11. Análise microscópica das estruturas reprodutivas e estéreis.....	47
Figura 12. Efeitos da administração de 20 µg/ µL do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre a reposta nociceptiva no teste da formalina 1%.....	50
Figura 13. Efeitos da administração de 100 µg/ µL do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre reposta nociceptiva no teste da formalina 1%.....	51
Figura 14. Efeitos da administração de 200 µg/ µL do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre reposta nociceptiva no teste da formalina 1%.....	51
Figura 15. Área sob a curva das respostas comportamentais no teste da formalina 1% obtidas a partir dos resultados das figuras 12, 13 e 14.....	52
Figura 16. Efeito da administração de 20 µg/ ml do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%.....	53
Figura 17. Efeito da administração de 100 µg/ ml do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%.....	54

Figura 18. Efeito da administração de 200 µg/ ml do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%.....	54
Figura 19. Área sob a curva das alterações nos volumes de pata no teste da carragenina 1% obtidas a partir dos resultados das figuras 16, 17 e 18.....	55
Figura 20. Efeito do extrato de <i>Leucopaxillus</i> sobre a atividade locomotora no teste do labirinto em cruz elevado.....	56

## LISTA DE QUADROS

	<b>Pág.</b>
Quadro 1. Mediadores inflamatórios e sinais cardinais da inflamação.....	21
Quadro 2. Fungos Agaricales com potencial anti-inflamatório e antinociceptivo.....	30
Quadro 3. Rendimento do extrato dos fungos Agaricales.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

5 HETE - 5-Hidroxiieicosatetranoico  
AA - Ácido araquidônico  
AINE - Anti-inflamatório não esteroideal  
ASC - Área sob a curva  
BD - Batata Dextrose  
BDA - Batata Dextrose Agar  
Car - Carragenina 1%  
CC<sub>50</sub> - Concentração citotóxica para 50% das células  
CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais  
COD. 1A - Coloração branca  
COD. 2A - Coloração rosada a esbranquiçada  
COD. 2B - Coloração cinza alaranjado  
COD. 3C - Coloração vermelho opaco  
COD. 8A - Coloração vermelha alaranjada  
COD. 8C - Coloração marrom alaranjado  
COD. 8D - Coloração marrom avermelhado  
COD. 8E - Coloração marrom amarelado  
COX - Ciclooxigenase  
COX 1 - Ciclooxigenase 1  
COX 2 - Ciclooxigenase 2  
Dia - Diazepam  
DL<sub>50</sub> - Dose letal para 50 % dos indivíduos  
DMSO - Dimetilsulfóxido  
EPM - Erro padrão da média  
Ext - Extrato alcoólico de *Leucopaxillus*  
FMG-Am - Heterogalactano  
For - Formalina 1%  
HepG2 - Células de hepatoblastoma humano  
IASP - Associação Internacional para o Estudo da Dor  
IFN $\gamma$  - Interferon gama  
IL-10 - Interleucina-10  
IL-1 $\beta$  - Interleucinas 1 $\beta$

Ind - Indometacina  
LOX - Lipoxigenase  
LPS - Lipopolissacarídeos  
LT - Leucotrienos  
LTA4 - Leucotrieno A4  
LTB4 - Leucotrienos B4  
LTC4 - Leucotrienos C4  
LTD4 - Leucotrienos D4  
LTE<sub>4</sub> - Leucotrienos E4  
LX - Lipoxinas  
NAPs - Neurônios aferentes primários  
Par - Paracetamol  
PC - Pata controle não-injetada  
PG - Prostaglandina  
PGI<sub>2</sub> - Prostaciclina  
PI - Pata injetada  
PUFA - Ácidos graxos poli-insaturados  
Sal - Salina  
SISBIO - Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade  
SNC - Sistema nervoso central  
TGF- $\beta$  - Fator de transformação do crescimento beta  
TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral  $\alpha$   
TX - Tromboxanos  
 $\beta$ GLC-Am -  $\beta$ -d-glucano

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1. INFLAMAÇÃO.....	16
2.2. DOR.....	22
2.3. FUNGOS AGARICALES.....	26
2.3.1. Fungos basidiomicetos e o potencial biotecnológico.....	28
3. OBJETIVO.....	32
3.1. OBJETIVO GERAL.....	32
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1. FÁRMACOS.....	33
4.2. COLETA, IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE FUNGOS AGARICALES.....	34
4.2.1. Área de coleta dos fungos Agaricales.....	34
4.2.2. Método de coleta dos fungos agaricales.....	34
4.2.3. Identificação macroscópica e microscópica dos fungos agaricales.....	35
4.2.4. Isolamento de fungos Agaricales.....	36
4.3. PREPARAÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO MICELIAL.....	36
4.4. TESTE DE CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS DE FUNGOS AGARICALES.....	38
4.5. ANIMAIS.....	39
4.6. TESTES COMPORTAMENTAIS.....	39
4.6.1. Teste da formalina.....	39
4.6.2. Teste da carragenina (edema de pata).....	40
4.6.3. Teste do labirinto em cruz elevado.....	41
4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	43
5. RESULTADOS.....	44
5.1. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS AGARICALES.....	44
5.2. ISOLAMENTO E PRODUÇÃO DE EXTRATOS ALCOÓLICOS.....	47
5.3. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS.....	48
5.4. ESCOLHA E DETERMINAÇÃO DA DOSE DE TRABALHO DO EXTRATO ALCOÓLICO.....	48
5.5. TESTE COMPORTAMENTAIS.....	49
5.5.1. Teste da formalina.....	49
5.5.2. Teste da Carragenina.....	52
5.5.3. Teste do Labirinto em cruz elevado.....	55
6. DISCUSSÃO.....	57

7. CONCLUSÃO.....	66
REFERÊNCIAS .....	67
ANEXOS.....	80
ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)...	80
ANEXO B - DIVERSIDADE DE AGARICALES (AGARICOMYCETES) NO BRASIL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA .....	81
ANEXO C - ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE AGARICALES (AGARICOMYCETES): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA .....	98
ANEXO D - APROVAÇÃO PELO SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE (SIBIO) .....	113

# 1. INTRODUÇÃO

A reação inflamatória é um processo biológico protetivo desencadeado em quase todas as condições prejudiciais aos organismos vivos, especialmente em humanos. Traumas, lesões térmicas, infecções, isquemias, reações imunológicas a agentes externos e processos autoimunes são acompanhados, em maior ou menor grau, de reações inflamatórias (HINZ; BRUNE, 2002). Neste sentido, a resposta inflamatória aguda está ligada aos processos biológicos para proteção tecidual e de reparo quando o tecido se encontra danificado (ROCHA et al., 2007).

Por outro lado, quando a resposta inflamatória não é capaz de restabelecer o funcionamento normal do tecido pode se tornar um processo crônico, prejudicial e sem papel protetivo ao organismo, possibilitando o desenvolvimento de algumas doenças e distúrbios complexos como as doenças autoimunes e cardiovasculares, síndrome metabólica e processos neurodegenerativos (MEDZHITOV, 2008; MURAKAMI; HIRANO, 2012).

A inflamação se manifesta clinicamente através de sinais cardinais característicos tais como dor, calor, eritema, edema e limitação funcional (ONO et al., 2017). Um dos sinais típicos da reação inflamatória é a dor, caracterizada por ser uma experiência multidimensional, subjetiva, envolvendo mecanismos sensoriais e emocionais desagradáveis (TEIXEIRA et al., 2016). A dor, assim como a inflamação, tem papel protetivo aos organismos, sinalizando a ocorrência de um potencial evento (RAJA, 2015).

No entanto, a dor pode se tornar um processo duradouro e prejudicial, resultando em situações críticas ao paciente, como o estresse e a perda da capacidade de executar atividades cotidianas. Tal situação leva ao comprometimento da qualidade de vida e, conseqüentemente, elevado consumo de medicamentos, tornando o paciente suscetível as inúmeras reações adversas atribuídas ao seu uso em longo prazo (SCHAEFE et al., 2014; RAJA, 2015; RAZIQ et al., 2016).



Com mais de 1,5 bilhões de doentes que sofrem de diversas condições dolorosas, especialmente crônicas, o tratamento e o manejo da dor configuram-se como um importante desafio em saúde pública (SREEKEESON et al., 2014). A abordagem terapêutica mais comum para tratamento da dor e a inflamação envolve o uso de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais, como aspirina ou ibuprofeno, bem como com o uso de opioides analgésicos, incluindo morfina (MCGETTIGAN; HENRY, 2013; ELSESSER; CEGLA, 2017).

Apesar da eficácia reconhecida para as condições dolorosas, os analgésicos opioides e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) estão associados a várias reações adversas. Os AINES podem desenvolver suscetibilidade a lesões, ulceração, sangramento e toxicidade (BATLOUNI, 2010; DA SILVA, et al. 2014; SILVA et al., 2019). Os opioides podem apresentar reações adversas como dependência química, depressão respiratória e alterações hormonais (KRAYCHETE, et al. 2014).

Dessa forma, as reações adversas decorrentes da utilização em longo prazo dos fármacos convencionais para tratamento da dor e inflamação têm tornado limitadas as terapias atuais para estas condições. Nesse sentido, torna-se essencial buscar novas alternativas terapêuticas, especialmente farmacológicas, que proporcionem maior segurança e eficácia, e menos incidência de reações adversas, durante o tratamento da dor e inflamação (BOURINET et al., 2005).

Neste contexto, os produtos naturais aparecem como fontes promissoras de moléculas biologicamente ativas contra a dor e a inflamação (PETROVSKA, 2012). O Brasil se destaca pela grande diversidade biológica, com potencial para a produção de novos fármacos (SOUSA et al., 2018). E, embora a grande parte da diversidade mundial esteja concentrada na região Amazônica, pouco dela foi explorada para a descoberta destes compostos. Assim, o investimento na pesquisa deste âmbito é uma estratégia na descoberta de bioativos (SANTOS et al., 2014).

Dentre as fontes amazônicas de produtos naturais ricas em novas biomoléculas e que ainda foram pouco exploradas são os fungos (ALONSO et al., 2010). E dentre estes, os fungos da ordem Agaricales, popularmente conhecidos como cogumelos, têm se tornado fonte de exploração para a identificação de suas propriedades farmacológicas, especialmente imunomoduladoras, antitumorais, antimicrobianas, entre outros (ZHANG et al., 2007; WASSER, 2010).

Estima-se que estão presentes na Floresta Amazônica Brasileira aproximadamente 1.051 espécies de fungos, contudo é perceptível que o conhecimento da sua diversidade ainda é insuficiente (SANTOS, 2014; SOARES et al, 2014). Até então 133 espécies de Agaricales foram relatados na mesma região, mas nenhum trabalho foi desenvolvido no estado do Acre. A baixa exploração pode estar relacionada a baixa quantidade de fungos Agaricales já identificados na biodiversidade brasileira. De fato, num montante de 45 referências sobre diversidade brasileira de Agaricales, é relatado apenas 284 fungos pertencentes a esta ordem, sendo 46,6% pertencentes ao bioma Mata Atlântica, 13,3% a Amazônia, e nenhum na região do Acre (LIMA et al., 2019).

Com relação ao gênero *Leucopaxillus* e sua aplicação em testes de inflamação e dor, este trabalho é pioneiro e pode trazer importantes contribuições farmacológicas (FLORA DO BRASIL, 2019). O gênero *Leucopaxillus*, pertencente a ordem Agaricales, ainda tem sido pouco explorado no Brasil. Todavia, diversos estudos mostram seu potencial antiproliferativo, antioxidante e antimicrobiano. No entanto, nenhum estudo avaliou suas propriedades anti-inflamatórias e antinociceptivas. Portanto, devido à necessidade de terapias complementares para o tratamento da inflamação e dor, este trabalho tem por objetivo avaliar o potencial anti-inflamatório e antinociceptivo do extrato alcoólico de *Leucopaxillus* em camundongos swiss.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. INFLAMAÇÃO

A inflamação é uma resposta de defesa do organismo desencadeada frente a presença de estímulos endógenos e exógenos potencialmente danosos, tais como microrganismos, agentes físicos, químicos, necrose tecidual ou reações imunológicas (SILVA et al., 2014). Nesse sentido, a inflamação se desenvolve com objetivo de eliminar o agente nocivo e reestabelecer a homeostasia local, constituindo-se dessa forma como uma resposta de defesa benéfica ao organismo (SERHAN, 2004, DE PAULO et al., 2017). A resposta inflamatória com papel protetivo é também conhecida como resposta inflamatória aguda, fisiológica ou de curta duração. Por outro lado, a resposta inflamatória pode se tornar prejudicial ao organismo especialmente quando persiste por muito tempo, causando degeneração tecidual e fibrose (FRANCESCHI; CAMPISI, 2014; RAJESH, A et al., 2014).

O processo inflamatório é caracterizado pela presença dos sinais cardinais calor, rubor, edema, dor e perda de função. Neste processo, o calor e rubor são resultantes de um aumento da circulação (hiperemia) na área inflamada. A formação do edema é decorrente do aumento da permeabilidade vascular e a dor é causada pela ativação de terminações nervosas livres chamadas de nociceptores. Já a perda de função da área inflamada é uma incapacitação resultante diretamente da manifestação dos sinais cardinais do processo inflamatório, especialmente edema e dor (LUENGO et al., 2005; MEDZHITOV, 2008; DUARTE et al., 2016).

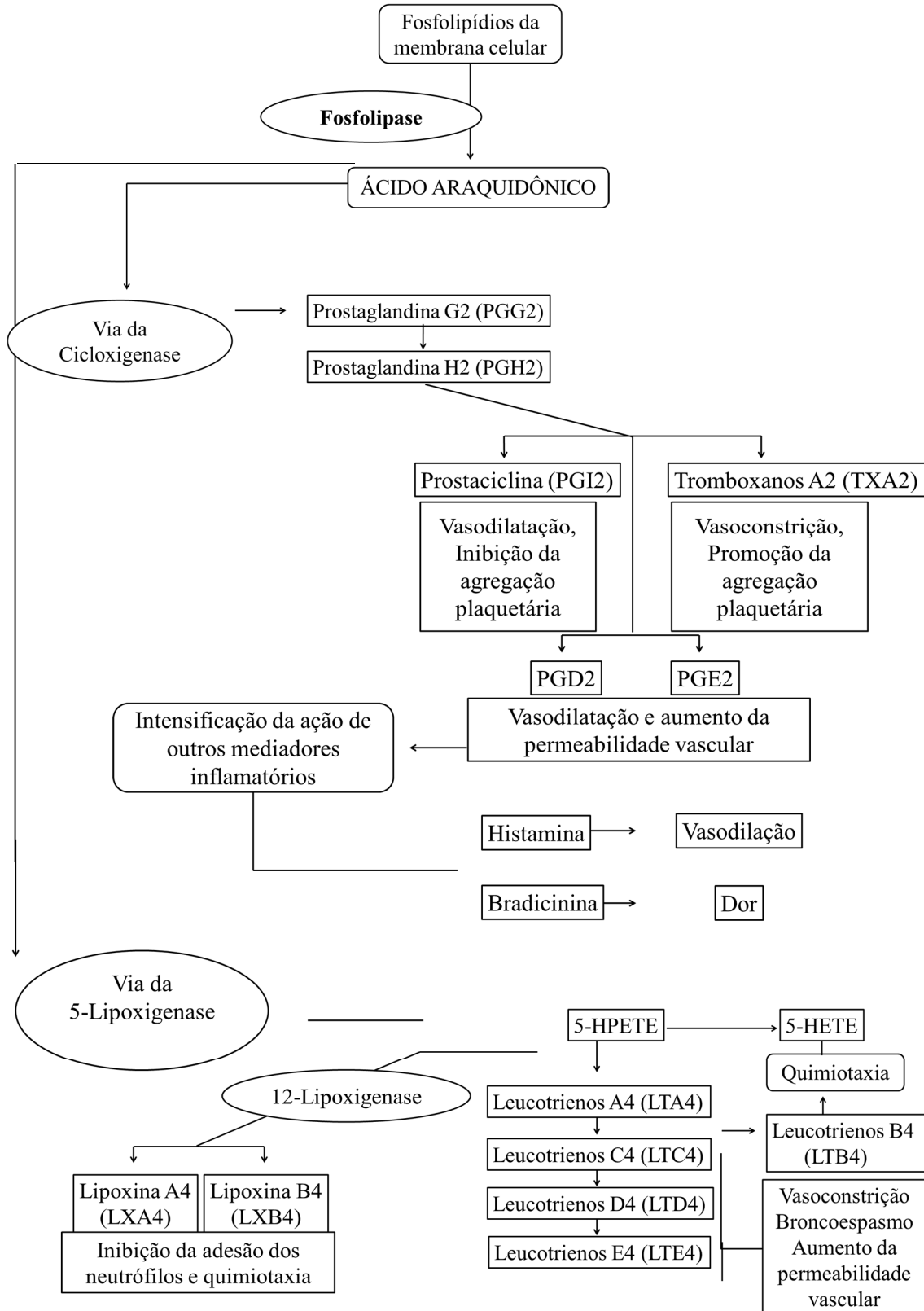
Os principais componentes envolvidos no desenvolvimento e manutenção da resposta inflamatória são o componente vascular e o celular que participam deste processo de forma interdependente (KUMAR et al., 2004; MEDZHITOV, 2010). O componente vascular, formado pelos vasos sanguíneos, participa de processos como migração celular e de

mediadores inflamatórios de origem plasmática para o local do processo inflamatório. No local da inflamação os vasos sofrem dilatação, com consequente aumento do fluxo sanguíneo no local, e aumento da permeabilidade vascular, causando a exsudação plasmática. Já o componente celular é composto por leucócitos e células residentes, tais como neutrófilos, basófilos, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas e epiteliais, que quando ativadas se concentram no local da inflamação (LUENGO et al., 2005; SZADE et al., 2015).

O início da resposta inflamatória ocorre quando o componente celular, especialmente células do sistema fagocitário (monócitos circulantes e macrófagos residentes), reconhecem um estímulo inflamatório. Este reconhecimento do estímulo inflamatório, por sua vez, ativam as vias da ciclooxigenase e lipoxigenase, responsáveis por secretarem diversos mediadores pró-inflamatórios (Figura 1), tais como a prostaglandinas (PG), prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT), 5-hidroxicicosatetranoico (5-HETE) e lipoxinas (LX) (KUMAR et al., 2004).

A ciclooxigenase possui três principais isoformas, a ciclooxigenase-1 (COX-1) responsável pela citoproteção da mucosa gastrointestinal e, sob condições fisiológicas, produz prostaglandinas necessárias à modulação das funções gastrintestinais, renais e a homeostase vascular (BATLOUNI, 2010; SILVA et al., 2019). A ciclooxigenase-2 (COX-2) induzida em células inflamatórias, quando elas são ativadas, é responsável pela produção dos mediadores pró-inflamatórios e manutenção das funções fisiológicas cardiovasculares e renovasculares. A ciclooxigenase-3 (COX-3) variante da ciclooxigenase-1, expressa no cérebro e coração, e apresenta a mesma sequência de aminoácidos da COX-1 (BATLOUNI, 2010; DA SILVA, et al. 2014; SILVA et al., 2019).

Figura 1. Metabolismo do Ácido Araquidônico e Inflamação

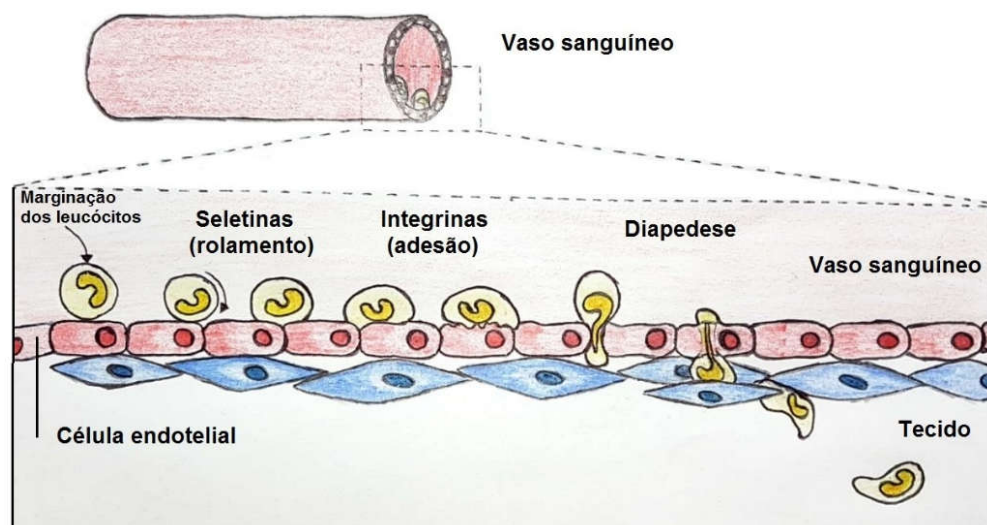


Fonte: Adaptado de Robbins S. L. et al. 2010.

Outros mediadores pró-inflamatórios também são liberados adicionalmente no local da inflamação tais como histamina (agindo sobre receptores H1), Fator de Agregação Plaquetária, Bradicinina, taquicinas, interleucinas 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucinas 6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina 17, interferon gama (IFN $\gamma$ ), anafilatoxinas e as proteases plasmina e tripsina. Em paralelo, o processo inflamatório pode ser endogenamente regulado por mediadores anti-inflamatórios tais como a histamina (agindo sobre receptores H2), prostaglandinas e tromboxanos A2, lipoxinas, resolvinas D e E, neuroproteínas, acetilcolina, interleucina 10 (IL-10), Fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ), antiproteases  $\alpha$ 1-antitripsina e  $\alpha$ 2-acroglobulina, glicocorticoides e endorfinas (NOURSHARGH et al., 2010; BANCHEREAU et al., 2012).

Grande parte desses mediadores são liberados pelos macrófagos e são responsáveis por eventos vasculares tais como a expressão das selectinas e integrinas nas células do endotélio vascular e de leucócitos, promovendo os processos de rolagem e adesão, respectivamente, dos leucócitos para o local da inflamação (Figura 2) (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; NOURSHARGH et al., 2010).

Figura 2. Migração de leucócitos



Para alcançar o foco inflamatório, os leucócitos da corrente sanguínea são ativados e realizam o processo de rolagem, adesão e diapedese. Uma vez atingido o local da inflamação, estes juntamente com outras células fagocitam e destroem o agente causador. Fonte: Autoria própria.

Com a migração dos leucócitos, mais mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios são produzidos e liberados no local da inflamação. Nesse sentido, os mediadores devem ser liberados no momento certo para que os fenômenos subsequentes atinjam o objetivo de defesa (eliminação ou contenção da agressão) e de reparo (regeneração ou cicatrização), havendo uma cronologia adequada para que os mecanismos pró-inflamatórios antecedam os anti-inflamatórios, possibilitando que a inflamação aconteça e seja resolvida ou terminada (BANCHEREAU et al., 2012; TURNER et al., 2014).

As PGs e os LTs são potentes mediadores inflamatórios derivados do metabolismo do ácido araquidônico (AA) pelos sistemas enzimáticos ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), respectivamente (ROCHA et al., 2007). Estes mediadores participam de diversos processos biológicos tais como regulação vascular, modulação das funções neuronais e renais, o processo de ovulação, a proteção da mucosa gástrica, a dor e inflamação (ROCHA et al., 2007; WALLACE, 2008). A PGE<sub>2</sub>, uma PG gerada pela reação de metabolização do AA pela PGE sintase de membrana-1, é responsável pelo estabelecimento dos principais sinais cardinais da inflamação, dentre eles a dor (AOKI; NARUMIYA, 2012; SYKES et al., 2014) através da ativação de receptores tais como EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub> e EP<sub>4</sub> localizados nos nociceptores (KOBAYASHI et al., 2002).

Outro mediador inflamatório liberado no local da inflamação é o LT chamados de cisteinil leucotrienos (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub>) responsáveis por causar vasoconstrição, broncoespasmo e aumento da permeabilidade vascular (YOKOMIZO, 2014). Já o leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) é um mediador anti-inflamatório, o qual ativa os leucócitos, responsáveis por produzir e liberar citocinas como a IL-10 e o TGF-β, que interagem mediando a resposta inflamatória através da inibição da ativação de macrófagos e a síntese de citocinas pró-inflamatórias (OKE; TRACEY, 2009; YOKOMIZO, 2011). O Quadro 1 mostra os mediadores mais comuns da inflamação atuando na vasodilatação, no aumento da

permeabilidade vascular, quimiotaxia, na febre, dor e lesão tecidual (COTRAN et al., 2000; SYKES et al., 2014).

Quadro 1. Mediadores inflamatórios e sinais cardinais da inflamação

<b>Mediadores</b>	<b>Sinais Cardinais</b>
Prostaglandinas; Óxido nítrico	Vasodilatação
Aminas vasoativas; C3a e C5a; Bradicinina; Leucotrienos C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub> ; FAP; Substância P	Aumento da permeabilidade vascular
C5a; Leucotrienos B <sub>4</sub> ; Quimiocinas; Produtos bacterianos	Quimiotaxia, ativação dos leucócitos
IL-1; IL-6; TNF $\alpha$ ; Prostaglandinas	Febre
Prostaglandinas; Bradicinina	Dor
Enzimas lisossômicas dos neutrófilos e macrófagos; Metabólitos do oxigênio; Óxido nítrico	Lesão tecidual

Fonte: Adaptado de COTRAN, BARBOSA E VOEUX, 2000.

O processo inflamatório pode ser experimentalmente reproduzido em modelos *in vivo* empregando roedores, especialmente ratos e camundongos. Um dos modelos mais amplamente empregados para estudo do processo inflamatório agudo é o teste da carragenina desenvolvida na década de 60 por Winter e colaboradores (1962). A carragenina, ao ser inoculada na pata do roedor induz processo inflamatório associado com formação de exsudato rico em proteínas e neutrofilia local, com expressiva formação de edema local. A carragenina é um mucopolissacarídeo sulfatado extraído das paredes celulares de algas vermelhas (*Chondrus crispus*, *Gigartina stellata* e *Rhodymenia palmata*) da ordem Gigartinales. Estruturalmente, a carragenina compõe um grupo complexo de polissacarídeos feitos de repetidos monômeros de galactose e são de 3 tipos: lambda, kappa e iota (WINTER et al., 1962).

A resposta inflamatória induzida pela carragenina pode ser dividida em três fases bioquimicamente distintas. Na primeira fase do processo (primeira hora), caracteriza-se pelo



significativo aumento da permeabilidade vascular mediada por histamina e serotonina, que podem atuar em combinação. Na segunda fase (segunda hora), é caracterizada pela presença significativa de cininas responsável pela vasodilatação. Na terceira fase (terceira hora) observa-se o pico de formação do edema, caracterizado pela ação das prostaglandinas sobre a permeabilidade vascular (DI ROSA et al., 1971a; DI ROSA et al., 1971b; KENNE; RENNE, 2014).

## 2.2. DOR

No Brasil, estima-se que cerca de 50 milhões de pessoas queixam-se de algum tipo de dor (FORNI et al., 2012). A sua prevalência tem variado de 29,3% a 73,3%, e o local mais prevalente das queixas tem sido a região dorsal/lombar. No entanto, há uma carência de estimativa precisa, uma vez que as pesquisas refletem dados regionais (VASCONCELOS; ARAUJO, 2018). Segundo Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor pode ser definida como uma “experiência sensorial e emocional desagradáveis, associada a dano potencial ou real, ou em termos que sugerem tal dano” (MIRANDA et al., 2016).

Dessa forma, a dor compreende uma experiência complexa e subjetiva, pois, envolve não só a codificação e processamento neural de estímulos nocivos, denominado nocicepção, como também por componentes cognitivos, afetivos e emocionais (SCHAIBLE; RICHTER, 2004; NEUGEBAUER et al., 2009; QUEIRÓZ et al., 2015). Portanto, em condições fisiológicas a dor é gerada de forma a alertar ao corpo da existência de lesões potenciais ou reais. Além disso, a dor é capaz de gerar respostas comportamentais frente à exposição a estímulos danosos a fim de prevenir ou minimizar danos teciduais (ALVAREZ; SASSO, 2011; QUEIRÓZ et al., 2015).

Embora não consensual, o uso do termo dor para caracterizar as respostas comportamentais observadas em animais enquanto estes são submetidos a estimulações

nocivas tem sido questionada por alguns autores. Tendo em vista a nossa incapacidade de mensurar os aspectos motivacional afetivo e cognitivo dos animais. Nesse sentido, o termo dor é mais apropriado para determinar a sensação e percepção do estímulo nocivo apenas em seres humanos. Desta maneira, adequou-se a utilização do termo nocicepção, para caracterizar a reação do animal a estímulos nocivos em modelos para estudo da dor (LOESER; MELZACK, 1999; DE OLIVEIRA ALVES et al., 2017).

A nocicepção é gerada por terminações nervosas livres, ou nociceptores, de neurônios de pequeno calibre denominados de neurônios aferentes primários (NAPs). O nociceptor normalmente apresenta elevado limiar de ativação, ou seja, responde a estímulos potencialmente nocivos (JULIUS; BASBAUM, 2001). Ao serem ativados, os nociceptores geram impulsos elétricos que são conduzidos até a medula espinal através de NAPs (YAKSH; HAMMOND, 1982; KLAUMANN et al., 2008). Os NAPs são classificados em 3 tipos: A $\beta$ , A $\delta$  e C, que se diferem quanto a sua estrutura, diâmetro e velocidade de condução (JULIUS; BASBAUM, 2001).

As fibras A $\beta$  são de grande calibre e altamente mielinizadas, responsáveis pela condução de estímulos não nocivos, exceto em condições patológicas. As fibras A $\delta$  são pouco mielinizadas, menores em diâmetro e mais lenta que A $\beta$ , respondendo a estímulos térmicos e mecânicos nocivos (dor rápida ou primeira dor). Por fim, as fibras C são pequenas e médias, amielinizadas e de condução lenta, detectando estímulos dolorosos (dor lenta ou segunda dor), com terminações sensíveis a estímulos térmicos, mecânicos e químicos como serotonina e histamina. Logo, as fibras A $\delta$  e C são consideradas as NAPs mais relevantes na dor aguda e persistente, enquanto que as NAPs do tipo A $\beta$  tenha importância em condições de dor patológica (MILLAN, 1999; HUCHO; LEVINE, 2007; KLAUMANN et al., 2008; BASBAUM et al., 2009).

Dessa forma, a informação nociceptiva é transmitida pelos NAP, para diferentes regiões da medula espinal, especialmente as lâminas de Rexed, onde são feitas sinapses com neurônios denominados de 2ª ordem (CASTRO LOPEZ, 2003; KLAUMANN et al., 2008). Os neurônios de 2ª ordem podem ser classificados, eletrofisiologicamente, em 3 tipos: Neurônios nociceptivos específicos, ativados apenas por estímulos de alta intensidade; Faixa dinâmica ampla, ativados por estímulos de alta e baixa intensidade; não nociceptivos, ativados por estímulos de baixa intensidade (CASTRO LOPEZ, 2003). Os neurônios de 2ª ordem retransmitem a informação nociceptiva através de seus axônios que se projetam para estruturas supra espinais do sistema nervoso central, tais como o tálamo, após decussarem a medula espinal (ALMEIDA et al., 2004; MARCHAND, 2008).

O tálamo é considerado como estrutura responsável por retransmitir as informações sensoriais, para diferentes áreas do SNC, até o córtex somatosensorial, por meio do neurônio de 3ª ordem. É no córtex somatosensorial que a informação nociceptiva é discriminada, descrita e interpretada/percebida como dor. Além disso, o trato espinotalâmico igualmente se conecta com regiões do sistema nervoso envolvidos com a geração dos aspectos motivacionais da dor, tal como a substância cinzenta periaquedutal, hipotálamo e septo (NAIDU; PHAM, 2015; KLAUMANN et al., 2008).

A informação nociceptiva que ativa estruturas do SNC, igualmente podem ativar as redes ou sistemas neuronais descendentes, os quais estão envolvidos com o controle endógeno da nocicepção. Dessa forma, tem sido evidenciado experimentalmente que estimulação elétrica em discretas áreas do SNC ocasiona na ativação de vias neuronais que se projetam para a medula espinal gerando antinocicepção (MAYER et al., 1971; TEIXEIRA, 2001).

As diferentes áreas envolvidas nesses sistemas descendentes de controle da dor são a substância cinzenta periaquedutal ou PAG (MAYER et al., 1971), núcleo magno da rafe (PROUDFIT; ANDERSON, 1975), núcleo reticular paragigantocelular (AKAIKE et al.,

1978), cerebelo (SIEGEL; WEPSIC, 1974), tálamo ventrobasal (HOSOBUCHI et al., 1973), núcleo pretectal anterior ou NPtA (ROBERTS; REES, 1986), região pontina parabraquial (DESALLES et al., 1985) e núcleo pedunculopontino tegmental ou NPPTg (DIAS et al., 2009). Tais estruturas, quando ativadas, inibem de maneira seletiva a resposta nociceptiva sem, no entanto, mudar o estado de alerta a estímulos ambientais (BONICA et al., 1999).

A dor pode ser classificada sobre diferentes perspectivas. Do ponto de vista temporal, pode ser classificada como aguda ou crônica. A dor aguda é definida como a dor de início súbito e de duração normalmente curta. Este tipo de dor é comumente bem característica e possui correlação causal com lesão ou doença que a gera (DE OLIVEIRA ALVES et al., 2017). Por outro lado, a dor crônica pode perpetuar-se por meses ou anos, o que muitas vezes dificulta o seu tratamento. Além disso, a dor crônica apresenta caráter patológico pois muitas vezes não apresenta relação causal com eventos lesivos em curso, apesar de normalmente ser consequência de danos ou lesões teciduais, tal como o tecidos do sistema nervoso, levando a condições como a dor neuropática (KLAUMANN et al., 2008; GRIMM et al., 2015).

Do ponto de vista fisiopatológico a dor pode ser classificada em nociceptiva e neuropática (SALTER, 2005; ALVAREZ; SASSO, 2011). A dor nociceptiva é o tipo de dor que se desenvolve em resposta a diferentes tipos de estímulos nocivos (tal como estímulos físicos, térmicos ou químicos) aplicados sobre os nociceptores. Além disso, a dor nociceptiva pode ser do tipo somática quando gerada na pele, ossos ou músculos, e do tipo visceral, quando originada em órgãos abdominais e torácicos, acompanhada de inflamação, (p. ex., pós-operatória e queimadura) (KLAUMANN et al., 2008; DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010; SIKKA et al., 2015). A dor neuropática, por sua vez, é consequência de lesão no SNC ou periférico, manifestando-se sem lesões teciduais aparentes, sendo enquadrada como um tipo de dor crônica ou patológica (NOGUCHI; OKUBO, 2011; MIRANDA et al., 2016).

A dor pode ser experimentalmente estudada empregando diversos modelos animais que mimetizam condições observadas em seres humanos. Um destes testes é o teste da formalina, descrita inicialmente por Hunskaar e Hole (1987). Este teste é largamente utilizado para o estudo da fisiopatologia da dor e como modelo para descoberta de novos analgésicos. Em roedores, a injeção subcutânea de formalina produz manifestação, normalmente motoras, associadas diretamente à intensidade e duração de uma resposta nociceptiva (HUNSKAAR; HOLE, 1987; BAGGIO et al., 2010).

O modelo é caracterizado pela manifestação comportamental bifásica após a injeção de formalina. A primeira fase, que se desenvolve 5-10 minutos após a injeção de formalina, está relacionada ao desenvolvimento de resposta nociceptiva neurogênica em decorrência da estimulação química direta dos NAPs do tipo C e A $\delta$ , bem como a ação de aminoácidos excitatórios (ex.: glutamato), óxido nítrico e substância P. Já a segunda fase, que se desenvolve durante um intervalo de 20 a 50 minutos pós-injeção de formalina, está relacionada com o desenvolvimento de um processo inflamatório onde ocorre liberação de mediadores pró-inflamatórios, como bradicinina, PGs e serotonina. Entre as duas fases, num intervalo de 10 -15 minutos pós-injeção de formalina, observa-se silenciamento momentâneo das respostas comportamentais nociceptivas que está associada especialmente à ação de mecanismos inibitórios descendentes da nocicepção (HUNSKAAR; HOLE, 1987; TJOLSEN et al., 1992).

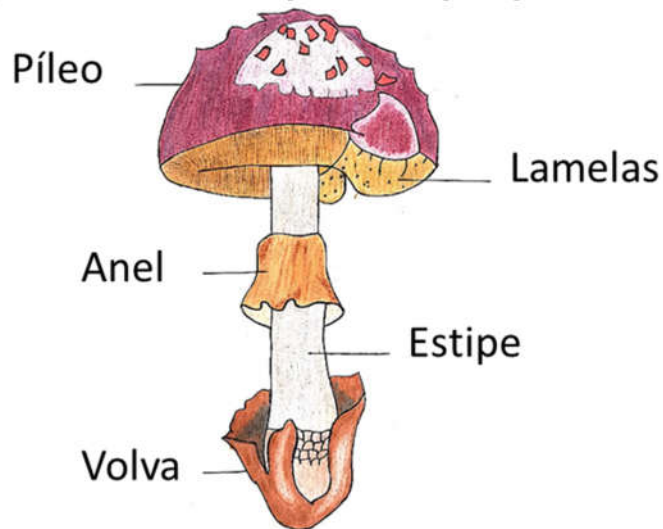
### 2.3. FUNGOS AGARICALES

Os fungos são organismos eucariontes, heterotróficos e com reprodução sexuada e/ou assexuada, pertencentes ao reino Fungi e são imprescindíveis para o funcionamento dos ecossistemas terrestres (ALFREDO, 2012). O reino Fungi possui características morfológicas (macroscópico, microscópico e ultramicroscópico), sendo constituído pelos filamentos

Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota (HIBBETT et al., 2007; ALFREDO, 2012). O filo Basidiomycota é um grande grupo de fungos macroscópicos, com cerca de 23.000 espécies, caracterizados por produzirem esporos sexuais, denominados basidiósporos. No entanto, não são todos os grupos que apresentam basidioma em formato de cogumelo, somente os pertencentes à classe Agaricomycetes (SANTOS, 2015).

A ordem Agaricales, pertencente à classe Agaricomycetes, possui uma grande diversidade e variedade quanto à forma, tamanho e coloração, incluindo espécies comestíveis e tóxicas (KIRK et al., 2008). As hifas destes fungos modificam-se originando pseudo-tecidos, os quais se diferem em píleo, estipe, lamelas, anel e volva (Figura 3) (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998; OLIVEIRA, 2014).

Figura 3. Ilustração esquemática das estruturas gerais de fungos Agaricales



Fonte: Autoria própria

No Brasil, os fungos da ordem Agaricales, apresentam uma diversidade de 924 espécies, de acordo com o levantamento da Flora do Brasil, sendo a maior parte desta diversidade concentrada na região Amazônica (SILVA, 2010; FLORA DO BRASIL, 2019). O clima quente e úmido da Amazônia é favorável para a abundância de linhagens

microbianas, especialmente os fungos que se mostraram com grande eficiência neste hábitat (PUTZKE; PUTZKE, 2004; CONDÉ et al., 2017).

### 2.3.1. Fungos basidiomicetos e o potencial biotecnológico

Os fungos são reconhecidos por possuírem constituintes químicos com propriedades nutracêuticas e farmacológicas. Essas propriedades biológicas estão associadas especialmente a fatores como o tipo de fungo, condições de cultivo e frutificação, estágio de desenvolvimento, idade do fungo fresco, condições de armazenamento e processamento (GUILLAMÓN et al., 2010; MORRIS et al., 2017).

Os Basidiomicetos podem conter metabólitos da classe dos terpenos, esteroides, antraquinonas, peptídeos, proteínas e polissacarídeos (GAO et al., 2017; YASIN et al., 2019). Essa diversidade de constituintes explica as diversas propriedades biológicas já descritas tais como antioxidante (UM et al., 2012; YAN et al., 2019), antineoplásica (ELKHATEEB et al., 2018), antiparasitária (ADAMS et al., 2010), antiviral (ADOTEY et al., 2011; DUDKA et al., 2015), anti-inflamatória (RUTHES et al., 2013; CASTRO et al., 2014), antidiabética (STOJKOVIC et al., 2019) e ação sobre o sistema cardiovascular (GUILLAMÓN, 2010).

A propriedade anti-inflamatória e anti-nociceptiva de extratos e componentes isolados de diversas espécies de Basidiomicetos Agaricales já foram evidenciados em diversos estudos (Quadro 2; SILVESTRE et al., 2019). O efeito antinociceptivo foi confirmado pelo isolado  $\beta$ -D-glucano (GHW-PN), obtido do cogumelo comestível *Pholiota nameko*, contra a nocicepção induzida por formalina *in vivo*. O pré-tratamento intraperitoneal com o GHW-PN em todas as doses testadas (0,3, 1,0 e 3,0 mg kg) reduziu significativamente a segunda fase da resposta nociceptiva ligada a resposta inflamatória em 24,8% ( $136,4 \pm 21,0$  s), 56,9% ( $83 \pm 13,6$  s) e 82,3% ( $32,75 \pm 9,0$  s), respectivamente (ABREU et al., 2019).

Também foi evidenciado o efeito antinociceptivo do isolado  $\beta$ -D-glucano de *Rhodotorula mucilaginosa* contra a nocicepção induzida por formalina *in vivo*. O pré-

tratamento intraperitoneal com o  $\beta$ -D-glucano foram nas doses 3, 10 e 30 mg/kg. A propriedade antinociceptiva de  $\beta$ -D-glucano de *Rhodotorula mucilaginosa* foi confirmado no teste da formalina, em que a maior dose de 30 mg / kg, causou efeito antinociceptivo ( $P < 0,005$ ) na fase tardia, mas não na fase inicial, do teste da formalina. O que demonstrou atividade antinociceptiva periférica, provavelmente através da inibição de mediadores inflamatórios (VALASQUES et al., 2014).

Em outro estudo, foi avaliado os possíveis efeitos antinociceptivos de um heterogalactano (FMG-Am) e um  $\beta$ -d-glucano ( $\beta$ GLC-Am) isolado de *Amanita muscaria* no modelo de formalina. Os resultados demonstraram que a administração intraperitoneal de  $\beta$ GLC-Am reduziu a dor neurogênica (fase inicial) na dose máxima de 30 mg/ kg e inibição de  $64 \pm 3\%$ , enquanto o FMG-Am não produziu um efeito inibitório na fase inicial. No entanto,  $\beta$ GLC-Am e FMG-Am foram mais eficazes contra a dor inflamatória (fase tardia) da nocicepção induzida por formalina, com inibição de  $91 \pm 8\%$  na dose de 30 mg kg<sup>-1</sup> de  $\beta$ GLC-Am e  $88 \pm 7\%$  na dose de 10 mg kg<sup>-1</sup> de FMG-Am (RUTHES et al., 2013).

Quanto ao potencial anti-inflamatório, foi evidenciado o efeito de *Caripia montagnei*, nas doses de 30, 60 e 90 mg / kg, em ratos Wistar com edema inflamatório induzido por carragenina 1%. A alteração da espessura foi medida com paquímetro, 30 min antes e 1 a 4 h após a indução da inflamação. Os animais tratados com dose de 90 mg / kg exibiram uma taxa inibidora de edema de  $90,7 \pm 3,5\%$  na quarta hora, semelhante a indometacina (15mg/kg) que apresentou inibição de  $92,4 \pm 9,6\%$  na quarta hora (CASTRO et al., 2014).

Em outro estudo, os animais receberam o tratamento de um exopolissacarídeo produzido por *Pleurotus sajor-caju* (manogalactano, PEIsR, 0,1 mg / kg, i.p.) 30 min antes e após a injeção de carragenina 1%. O grupo pré-tratado com o manogalactan (PEIsR) promoveu redução acentuada do edema 5 h após a administração de carragenina, esse efeito foi mantido durante a sexta hora. A redução observada nos dois momentos (5 e 6 h) atingiu



71% e 69%, respectivamente. Quando o tratamento foi administrado após a carragenina injeção (pós-tratamento), observamos uma redução do edema de 58%, 63% e 51%, às 4, 5 e 6 h, após a injeção de carragenina, respectivamente (SILVEIRA et al., 2015).

Foi verificado o potencial anti-inflamatórios do extrato metanólico de *Agaricus blazei* (*A. blazei*) contra a doença de Parkinson induzida por rotenona em camundongos. O estudo foi randomizado dividido nos seguintes grupos: controle, tratado com rotenona (1 mg / kg / dia), co-tratado com rotenona e *A. blazei* (50, 100 e 200 mg / kg de peso corporal) e tratado com *A. blazei* sozinho (200 mg / kg de peso corporal). O tratamento com rotenona exibiu comprometimentos motores aumentados, déficits neuroquímicos, estresse oxidativo e inflamação, enquanto a administração oral do extrato de *A. blazei* atenuou os índices acima mencionados (GOBI et al., 2017).

Quadro 2. Fungos agaricales com potencial anti-inflamatório e antinociceptivo

<b>Referências</b>	<b>Espécies</b>	<b>Atividade evidenciada</b>
ABREU et al., 2019	<i>Pholiota nameko</i>	Antinociceptiva e Anti-Inflamatório
CARBONERO et al., 2008	<i>Lentinus edodes</i>	Antinociceptiva
CASTRO et al., 2014	<i>Caripia montagnei</i>	Anti-Inflamatório
CHANG et al., 2018	<i>Armillaria mellea</i>	Anti-Inflamatório
CHEN et al., 2018	<i>Macrolepiota procera</i>	Anti-Inflamatório
GAO et al., 2017	<i>Oudemansiella radicata</i>	Anti-Inflamatório
GOBI et al., 2017	<i>Agaricus blazei</i>	Anti-Inflamatório
HU et al., 2018	<i>Pleurotus eryngii</i>	Anti-Inflamatório
KOMURA et al., 2010	<i>Agaricus brasiliensis</i>	Antinociceptiva e Anti-Inflamatório
LEE et al., 2018	<i>Armillariella tabescens</i>	Anti-Inflamatório
LIU et al., 2018	<i>Hypsizygus marmoreus</i>	Anti-Inflamatório
MINATO et al., 2019	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Anti-Inflamatório
REN et al., 2018	<i>Lentinula edodes</i>	Anti-Inflamatório
ROHR et al., 2016	<i>Crinipellis spp.</i>	Anti-Inflamatório
RUTHES et al., 2012	<i>Agaricus bisporus</i>	Anti-Inflamatório
RUTHES et al., 2013	<i>Amanita muscaria</i>	Antinociceptiva
RUTHES et al., 2013	<i>Lactarius rufus</i>	Antinociceptiva e Anti-Inflamatório
SAIKI et al., 2017	<i>Agaricus brasiliensis</i>	Anti-Inflamatório
SILVEIRA et al., 2015	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Anti-Inflamatório
SMIDERLE et al., 2008	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Antinociceptiva e Anti-Inflamatório
VALASQUES et al., 2014	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Antinociceptiva
WU et al., 2010	<i>Flammulina velutipes</i>	Anti-Inflamatório

Evidências mostram que a molécula clitocina, isolada do fungo *Leucopaxillus giganteus*, possui propriedade antitumoral por indução de apoptose de células tumorais do colo do útero (REN et al., 2008). Também foi demonstrado que fungo de *Leucopaxillus giganteus* rico em fenois e flavonoides apresenta atividade antioxidante e antimicrobiano, especialmente em bactérias Gram positiva (BARROS et al., 2007). De modo semelhante, a ação antimicrobiana da espécie *Leucopaxillus albissimus* também foi significativa contra bactérias Gram negativas (ALVES et al., 2012). Apesar dos estudos com o gênero *Leucopaxillus* indicar suas propriedades antiproliferativas, antioxidantes e antibióticos, não existem estudos avaliando se ele também possui atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial anti-inflamatório e antinociceptivo do extrato alcoólico de fungos *Leucopaxillus* sp. em camundongos swiss.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Produzir o extrato alcoólico de fungos da ordem Agaricales;
- ✓ Verificar a toxicidade do extrato alcoólico de Agaricales sobre células HepG2;
- ✓ Avaliar a ação antinociceptiva do extrato alcoólico de *Leucopaxillus* sp;
- ✓ Analisar o efeito anti-inflamatório do extrato alcoólico de *Leucopaxillus* sp;
- ✓ Avaliar o efeito do extrato alcoólico de *Leucopaxillus* sp sobre a atividade locomotora;

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 FÁRMACOS

No presente estudo foram utilizados os seguintes fármacos:

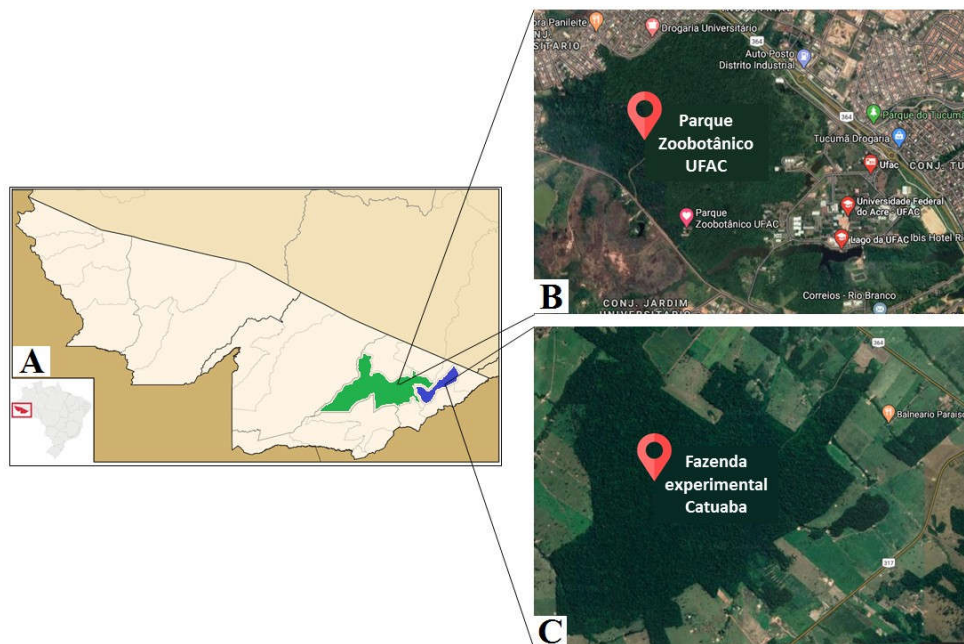
- ✓ Formaldeído/Formalina (Sigma-Aldrich): foi utilizada solução de formaldeído a 1% que foi preparada por diluição da solução estoque à 37 % em solução fisiológica 0,9 % (TJOLSEN et al., 1992) e foi administrada por via subcutânea no dorso da pata posterior direita no volume de 25  $\mu$ L;
- ✓  $\lambda$ -Carragenina (Sigma-Aldrich): foi empregada solução de carragenina a 1% que foi preparada por dissolução de 1 g de carragenina em 100 ml de solução fisiológica 0,9 % (WINTER et al., 1962) e foi administrada por via subcutânea intraplantar na pata posterior direita no volume de 25  $\mu$ L;
- ✓ Diazepam (União Química): foi preparada solução de diazepam na dose de 0,06 mg/kg ou 2 mg/ Kg (CRAWLEY; DAVIS, 1982). A solução foi preparada a partir da diluição da solução de ampolas de diazepam (5 mg/ml) com solução fisiológica 0,9 % e foi administrada por via oral;
- ✓ Indometacina (Tocris Bioscience): foi administrada na dose de 30 mg/ Kg (HUNSKAAR; HOLE, 1987). A solução de indometacina foi preparada dissolvendo 30 mg da droga em 1 ml de solução fisiológica a 0,9 % e foi administrada por via oral.
- ✓ Paracetamol (Sigma-Aldrich): foi aplicado na dose de 200 mg/ Kg (HUNSKAAR; HOLE, 1987). A solução de paracetamol foi preparada por dissolução de 6 mg do fármaco em 1 ml de solução fisiológica a 0,9 % e foi administrada por via oral.
- ✓ Extrato alcoólico de *Leucopaxillus*: foi usado nas doses de 0,33 mg/Kg (20  $\mu$ g/ml), 1,6 mg/Kg (100  $\mu$ g/ml) e 3,3 mg/Kg (200  $\mu$ g/ml), equivalente a ~0.5, 2 e 4 vezes a CC50, respectivamente. Os extratos foram diluídos em solução fisiológica à 0,9% e administrado por via oral na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal.

## 4.2 COLETA, IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE FUNGOS AGARICALES

### 4.2.1. Área de coleta dos fungos Agaricales

Os fungos Agaricales foram coletados nas trilhas do Parque Zoobotânico (9°57'8"S - 67°52'25"W) da Universidade Federal do Acre, campus Rio Branco-AC, e na Fazenda experimental Catuaba (10°04'S e 67°37'O), município de Senador Guiomard (Figura 4).

Figura 4. Área de coleta dos fungos Agaricales



**A.** Estado do Acre; **B.** Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre, Localizado na cidade de Rio Branco; **C** – Fazenda Experimental Catuaba, Localizado no município de Senador Guiomard. Fonte: IBGE, 2019; GOOGLE MAPS, 2019.

### 4.2.2. Método de coleta dos fungos agaricales

As coletas foram realizadas durante o dia nos períodos de Outubro a Dezembro de 2018 e Fevereiro a Março de 2019, previamente autorizada pelo Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade (SISBIO), sob nº 72229, conforme ANEXO D.

Os basidiomas foram retirados do substrato com auxílio de bisturi e acondicionados em caixas organizadoras e/ou sacos de papel. Foram utilizados como critérios de inclusão:

fungos frescos, coloridos e maduros. Foram excluídos do estudo os fungos que não pertenciam a ordem Agaricales, basídios envelhecidos, machucados ou imaturos. Os basidiomas foram levados para o Laboratório de Microbiologia da UFAC, onde foi realizada a identificação de acordo com Vargas-Isla e colaboradores (2014).

#### 4.2.3. Identificação macroscópica e microscópica dos fungos agaricales

Os componentes avaliados para a identificação macroscópica dos fungos frescos da ordem Agaricales foram o píleo (coloração, forma, superfície e margem), a estípete (coloração, posição e superfície) e a lamelas (coloração e aspecto) (GIMENES, 2010). A descrição das cores predominante nas estruturas foi baseada na literatura Methuen handbook of colour, as quais estão descritas conforme os códigos correspondentes as cores (KORNERUP; WANSCHER, 1967).

Para observação das estruturas microscópicas, foram feitos cortes a mão livre nos basidiomas com lâmina de aço e os cortes colocados entre lâmina e lamínula com hidróxido de potássio a 3%. Os cortes foram corados com reagente vermelho congo para se observar as microestruturas reprodutivas basídios e basidiósporos e microestruturas estéreis queilocistídio, pleurocistídio e caulocistídio (LARGENT, 1977; GIMENES, 2010).

A fim de identificar taxonomicamente os fungos pertencentes a ordem Agaricales, as características macro e microscópicas foram analisadas utilizando chaves de identificação presente em bibliografias específicas (RYVARDEN; JOHANSEN, 1980; RYVARDEN, 1991, 2004, 2010, 2015; PEGLER, 1983) e banco de dados Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) e Mycobank (<http://www.mycobank.org/>).

#### 4.2.4. Isolamento de fungos Agaricales

O isolamento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da UFAC, campus de Rio Branco-AC. Para isso foi retirado um fragmento do basidioma e, em câmara de fluxo laminar, foi submetido ao processo de desinfecção pela imersão por três minutos em hipoclorito 3% (ALFENAS et al., 2007)

Para a inoculação, foram cortados cinco fragmentos de aproximadamente 5 mm<sup>2</sup>, e transferidos para placas de Petri contendo os meios Batata-Dextrose-Agar-BDA (infusão de 200g de batata, 20g de Dextrose, 15g de Ágar, 1000 mL de água destilada); Aveia (infusão de 100g de farinha de aveia, 15g de Ágar, 1000ml de água destilada); Serragem (20g de serragem de cedro, 20g de farelo de trigo, 2g de carbonato de cálcio, 20g de Ágar, 1000ml de água destilada); Arroz (30g farelo de arroz, 15g de Ágar, 1000ml de água destilada); Malte (30g extrato de malte, 15g de Ágar, 1000ml de água destilada). Em cada meio foi acrescido o antibiótico cloranfenicol 100 µg mL<sup>-1</sup> e benomil 100 µg mL<sup>-1</sup>, a fim de evitar o crescimento de bactérias (ALFENAS et al., 2007).

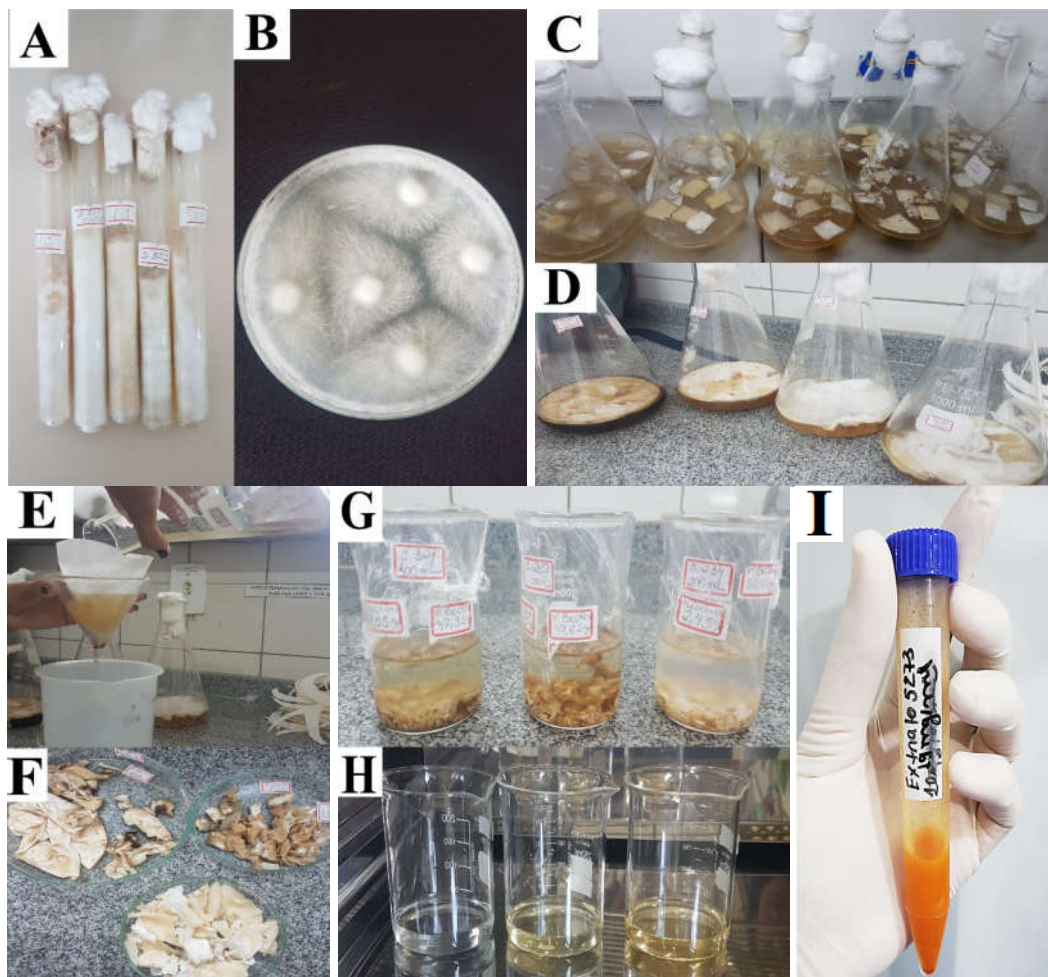
Após o crescimento dos inóculos, realizou-se a purificação do micélio, com a retirada do fungo sem contaminação e transferência destes para uma nova placa com BDA. A preservação da cultura pura foi feita em tubos de ensaio com BDA e mantidos com tampões de algodão hidrofóbico, a 25°C e na ausência de luz, evitando-se contaminações (ALFENAS et al., 2007).

#### 4.3 PREPARAÇÃO DO EXTRATO ALCOÓLICO MICELIAL

Para obtenção dos extratos alcoólicos, os fungos isolados com melhor crescimento micelial (Figura 5A), foram crescidos novamente em cinco pontos nas placas de Petri, contendo 20 ml do meio de cultura BDA por 14 dias a 28 ° C (Figura 5B). Posteriormente, 20 % (20 ml BDA) do micélio puro crescidos foram depositados em frascos Erlenmeyer

contendo 200 mL de meio Batata-Dextrose-BD (200g de batata e 20g de dextrose), incubados a 28 °C sem agitação por 14 dias (Figura 5C-D). Após incubação, realizou-se a filtração com a finalidade de separar o micélio do meio líquido. Por fim, o micélio foi submetido a secagem em estufa 37°C (Figura 5E-F) (OLIVEIRA, 2014). O micélio seco foi colocado no Becker e macerado com 50 ml de álcool 96° por 24h (Figura 5G). Em seguida, o micélio foi filtrado e a extração líquida foi mantida em estufa 37°C por 24h (Figura 5H). Essa metodologia foi repetida três vezes. A extração seca durante três repetições foi pesada e ressuspensa com solução fisiológica 0,9% (OLIVEIRA, 2014).

Figura 5. Metodologia para extração dos metabolitos miceliais



5A: Colônias isoladas de fungos. 5B: Crescimento micelial de fungos. 5C: Inóculos miceliais. 5D: Crescimento de fungos em Erlenmeyer. 5E: Filtração. 5F: Secagem; 5G: Extração alcoólica. 5H: Secagem do extrato alcoólico. 5I: Extrato pronto. Fonte: Autoria própria.



#### 4.4. TESTE DE CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS DE FUNGOS AGARICALES

A determinação *in vitro* da citotoxicidade dos extratos de fungos Agaricales foi feito na Fundação Oswaldo Cruz Rondônia – Porto Velho. Para o ensaio de citotoxicidade foram utilizadas células hepáticas da linhagem celular do tipo HepG2, uma linhagem celular de hepatoblastoma humano, e foi avaliado a viabilidade celular após incubação com diferentes concentrações do extrato por meio do método colorimétrico do MTT (3-[(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio]) (MOSMANN, 1983).

Inicialmente, as linhagens de células hepáticas foram distribuídas em placas de 96 poços e tratados com extrato alcoólico micelial (7,8125; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/ml). Após 24 horas, 20 µL de solução de MTT (5 mg/ml em tampão salina fosfato) foi adicionado a cada poço e, em seguida, incubado por 4 horas à 37 °C. Ao final desse período, o sobrenadante de cada poço foi desprezado e 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich®) foi adicionado a cada poço para solubilizar qualquer molécula de formação depositada. A leitura de absorbância da placa foi realizada em espectrofotômetro de microplacas (Spectra Max M2e, Molecular Devices) com densidade óptica de cada poço medido em comprimento de onda de 540 nm (MOSMANN, 1983).

A Citotoxicidade das concentrações testadas foi determinada com base na porcentagem de viabilidade celular frente ao tratamento controle (veículo) de acordo com os parâmetros adotados no documento ISO 10993-5: 1999. A concentração citotóxica para 50% das células (CC<sub>50</sub>) foi determinada a partir de regressão não linear das concentrações testadas, utilizando o programa Origin (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA). A partir dos valores obtidos de CC<sub>50</sub>. A partir da CC<sub>50</sub> as doses do extrato alcoólico foram determinadas.

#### 4.5. ANIMAIS

No presente estudo foram utilizados camundongos swiss webster machos (30-35g), fornecidos pelo Biotério de Criação do escritório técnico Fiocruz Rondônia. Os animais foram mantidos em sala com luz e temperatura controladas, água e comida ad libitum, com padronização para início dos testes as 09 horas (a.m.). O estudo empregou 102 camundongos distribuídos em grupos experimentais com 6 animais. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fundação Oswaldo Cruz de Rondônia sob nº 2018/11 (ANEXO A).

#### 4.6. TESTES COMPORTAMENTAIS

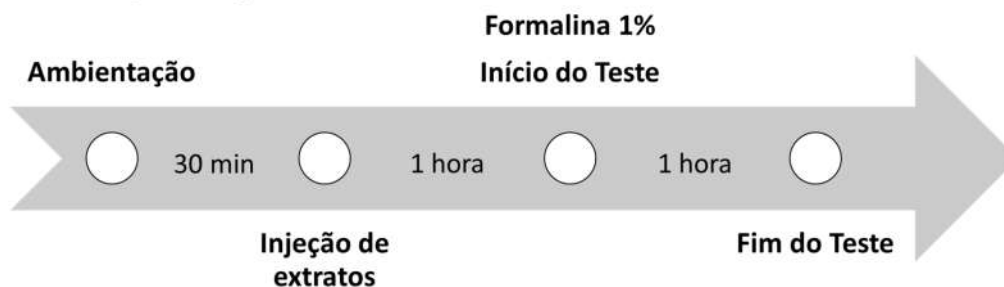
##### 4.6.1. Teste da formalina

O teste da formalina foi empregado para avaliar se o extrato alcoólico micelial de *Leucopaxillus* alteram a resposta nociceptiva induzida por injeção subcutânea dorsal da pata traseira direita de formalina 1%, conforme descrito por Hunskaar e Hole (1987). Para tal, os camundongos foram colocados na sala de experimentação por 30 minutos para ambientação e, então, realizado a administração oral do extrato alcoólico micelial de *Leucopaxillus* (Ext.) nas doses de 0,33 mg/Kg (20 µg/ml), 1,6 mg/Kg (100 µg/ml) e 3,3 mg/Kg (200 µg/ml). O extrato foi administrado no por via oral na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal. Como controle negativo e positivo, os animais foram pré-tratados, respectivamente, com salina (500 µl/animal; oral) e Paracetamol (200 mg/ Kg; oral).

Após 1 hora do pré-tratamento, os animais receberam injeção de 25 µL de formalina a 1% no dorso da pata posterior direita. Imediatamente após a injeção de solução de formalina, os camundongos foram colocados sob o aparato de vidro ladeado por dois espelhos para a realização de contagem do número total de comportamentos nociceptivos a cada 5

minutos durante 60 minutos. Foi considerado como comportamento nociceptivo a elevação do dorso, sacudida e/ou lambida da pata injetada com formalina. O protocolo experimental deste teste é representado de acordo do o fluxograma (Figura 6) abaixo:

Figura 6. Fluxograma representando o teste de Formalina



Fonte: Autoria própria.

#### 4.6.2. Teste da carragenina (edema de pata)

O teste da carragenina foi empregado para avaliar a capacidade do Ext. em inibir o edema inflamatório induzido por injeção intraplantar de carragenina conforme previamente descrito por Morris (2003). O edema de pata foi mensurado com o auxílio de um pletismômetro de pata (Insight, Brasil), que consiste em um equipamento capaz de detectar alterações volumétricas da pata.

Inicialmente, foram obtidas as medidas basais de ambas as patas posteriores e, em seguida, os animais foram pré-tratados com o extrato alcoólico *Leucopaxillus* nas doses de 0,33 mg/Kg (20 µg/ml), 1,6 mg/Kg (100 µg/ml) e 3,3 mg/Kg (200 µg/ml). O extrato foi administrado no por via oral na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal. Como controle negativo e positivo, os animais foram pré-tratados, respectivamente, com salina (500 µl/animal; oral) e indometacina (30 mg/ Kg; oral). Após 1 hora do pré-tratamento, os animais foram injetados com 25 µL de solução de carragenina 1% na região plantar da pata direita (pata ipsilateral) e, imediatamente depois, mediu-se o volume de ambas patas posteriores. O volume das patas injetadas e não-injetadas foram avaliadas 1, 2, 3, 4 e 5 horas após

administração da solução de carragenina. Os dados obtidos foram transformados em dados percentuais da diferença entre o volume da pata injetada e sua respectiva pata oposta (controle) de cada tratamento nos diferentes tempos avaliados, de acordo com a fórmula da Figura 7:

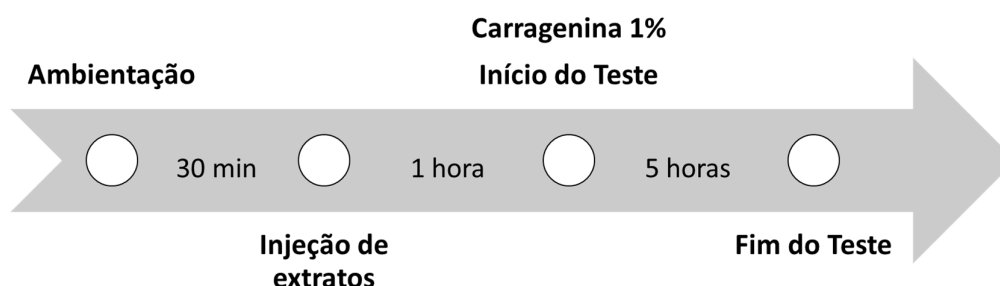
Figura 7. Fórmula da diferença do volume da pata injetada e o controle

$$\frac{\% \text{ Diferença do Volume da pata}}{\text{Volume da pata}} = \frac{(P_i - P_c)}{P_c} \times 100$$

Onde  $P_i$  é a pata injetada e  $P_c$  a pata controle não-injetada. Somente a porcentagem da diferença foi estatisticamente analisada. Fonte: Adaptado de MORRIS, 2003.

O protocolo experimental deste teste é representado de acordo com o fluxograma (Figura 8) abaixo:

Figura 8. Fluxograma representando o teste de Carragenina



Fonte: Autoria própria.

#### 4.6.3. Teste do labirinto em cruz elevado

O teste labirinto em cruz elevado foi empregado para avaliar se o pré-tratamento com o extrato alcoólico de *Leucopaxillus* alteram a atividade locomotora de camundongos de acordo com Boerngen-Lacerda e Souza-Formigoni (2000). Para a realização do teste, foi utilizado um aparato feito de madeira, elevado a 50 cm do solo, com dois braços opostos sem paredes (braços abertos) medindo 50x10 cm e dois braços opostos com paredes (Braços fechados) de 40 cm de altura. Os assoalhos dos braços abertos e fechados possuíam a mesma

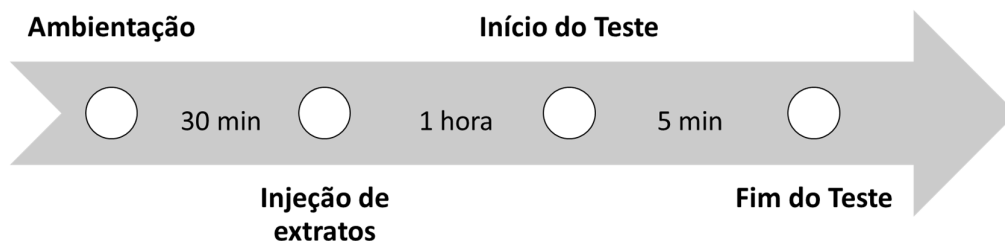
medida e estavam dispostas perpendicularmente umas às outras, delimitando uma área central com 10 cm<sup>2</sup>.

Os camundongos foram colocados na sala de experimento por, pelo menos, 1 semana em condição de ciclo claro-escuro invertido (sala escura durante o dia e clara durante a noite) para ambientação. Os experimentos foram realizados no ciclo escuro, em sala isolada, com lâmpada vermelha de 60W disposta a 120 cm do aparato. O animal foi posicionado na região central de frente para um dos braços abertos e observado durante 5 minutos. O experimento foi filmado e o registro gravado em formato digital para análise posterior.

Os animais foram tratados por via oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus* nas doses de 0,33 mg/Kg (20 µg/ml), 1,6 mg/Kg (100 µg/ml) e 3,3 mg/Kg (200 µg/ml). O extrato foi administrado no por via oral na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal. Nos grupos controles foram empregados, os tratamentos com salina (500 µl/animal; oral) e Diazepam (0,06 mg/kg). Após 1 hora da administração, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado durante 5 minutos, observados e filmados para análise posterior.

Os comportamentos registrados foram: número de quadrantes percorridos e número de comportamentos de se elevar sobre as patas posteriores. A partir destes parâmetros foram calculados a atividade locomotora total = total de quadrantes cruzados + comportamento de se elevar sobre as patas posteriores (RODGERS et al., 1995; RODGERS, et al., 1997). O protocolo experimental deste teste está representado no fluxograma da Figura 9 abaixo:

Figura 9. Fluxograma representando o teste do labirinto em cruz elevado



Fonte: Autoria própria.

#### 4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A influência dos diversos tratamentos sobre as variáveis estudadas, em função do tempo, será estatisticamente analisada através de análise de variância de um ou dois fatores com medidas repetidas (One way ANOVA ou Two way ANOVA), quando for o caso, para comparar os grupos durante todo o tempo do experimento. Para o teste Two way ANOVA os fatores analisados foram tratamento, tempo e a interação tratamento x tempo. Nos casos em que houver diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos será realizado teste de múltiplas comparações de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico Graphpad Prism 8.3.0, e o nível de significância fixado em  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS AGARICALES

Foram obtidos 79 morfoespécies pertencentes a ordem Agaricales e 11 morfoespécies apresentaram características tóxicas. Destes, foram selecionados 5 espécimes (nº 5.273, 5.280, 5.302, 5.314 e 5.321) com base na possibilidade de identificação e melhor rendimento de crescimento micelial (Figura 10). Em seguida, os fungos foram submetidos a produção dos extratos alcoólicos e posterior realização dos testes de citotoxicidade *in vivo*. Na análise macroscópica, foi possível analisar as estruturas píleo, estípite e lamelas:

Fungo 5.273 (Figura 10A) – Tamanho 4,5 – 6,5 cm. Píleo com coloração marrom alaranjado (COD. 8C) com consistência carnosa; superfície lisa e forma campanulado. Lamelas com coloração branca (COD. 1A); inserção adnatas a decorrentes de forma regular. Estípite com coloração branca (COD. 1A); posição central com superfície fibriloso. Evidenciando ser do gênero *Leucopaxillus*.

Fungo 5.280 (Figura 10B) – Tamanho 11,5 cm. Píleo com coloração marrom amarelado (COD. 8E) e esbranquiçado (COD. 1A) no centro; com superfície radialmente fibrilosa; Forma plana a umbonada. Lamelas com coloração branca (COD. 1A); inserção livre de forma regular. Estípite com coloração cinza alaranjado (COD. 2B); posição central com superfície pubescente. Evidenciando ser do gênero *Oudemansiella*.

Fungo 5.302 (Figura 10C) – Tamanho 5 a 6 cm. Píleo com coloração vermelho opaco (COD. 3C) e estrias rosadas a esbranquiçadas (COD. 2A); com superfície radialmente fibrilosa; Forma aplanada. Lamelas com coloração concolor ao píleo; Inserção decorrente com forma intervenosa. Estípite concolor ao píleo; posição central com superfície lisa.

Fungo 5.314 (Figura 10D) – Tamanho 5,5 cm. Píleo com coloração vermelha alaranjada (COD. 8A); com superfície lisa e forma campanulado. Lamelas com coloração

branca (COD. 1A); inserção livre de forma regular. Estípite com coloração branca (COD. 1A); posição central com presença de anel com borda dupla e superfície lisa.

Fungo 5.321 (Figura 10E) – Tamanho 1 a 2 cm. Píleo com coloração marrom avermelhado (COD. 8D); com superfície radialmente fibrilosa; forma convexo. Lamelas com coloração concolor ao píleo; inserção livre a estreita com forma regular. Estípite concolor ao píleo; posição central com superfície lisa a fibriloso.

Figura 10. Fungos Agaricales selecionados para teste citotóxico e *in vivo*



**10A:** amostra 5273. **10B:** amostra 5280. **10C:** amostra 5302. **10D:** amostra 5314. **10E:** amostra 5321. Fonte: Autoria própria.

Conforme identificação microscópica (Figura 11) foi possível analisar as seguintes estruturas:



Fungo 5.273 (Figura 11A) – Presença de estruturas reprodutivas, basídios bisporado e basidiósporos subelisoide a elipsoide. Presença de microestrutura estéril com numerosos queilocistídios clavados e fusóides. Evidenciando ser do gênero *Leucopaxillus*.

Fungo 5.280 (Figura 11B) – Presença de estruturas reprodutivas com basídios paneolus bisporado e basidiósporos equinados. Presença de microestrutura estéril com numerosos queilocistídios em forma utríforme com grânulos. Evidenciando ser do gênero *Oudemansiella*.

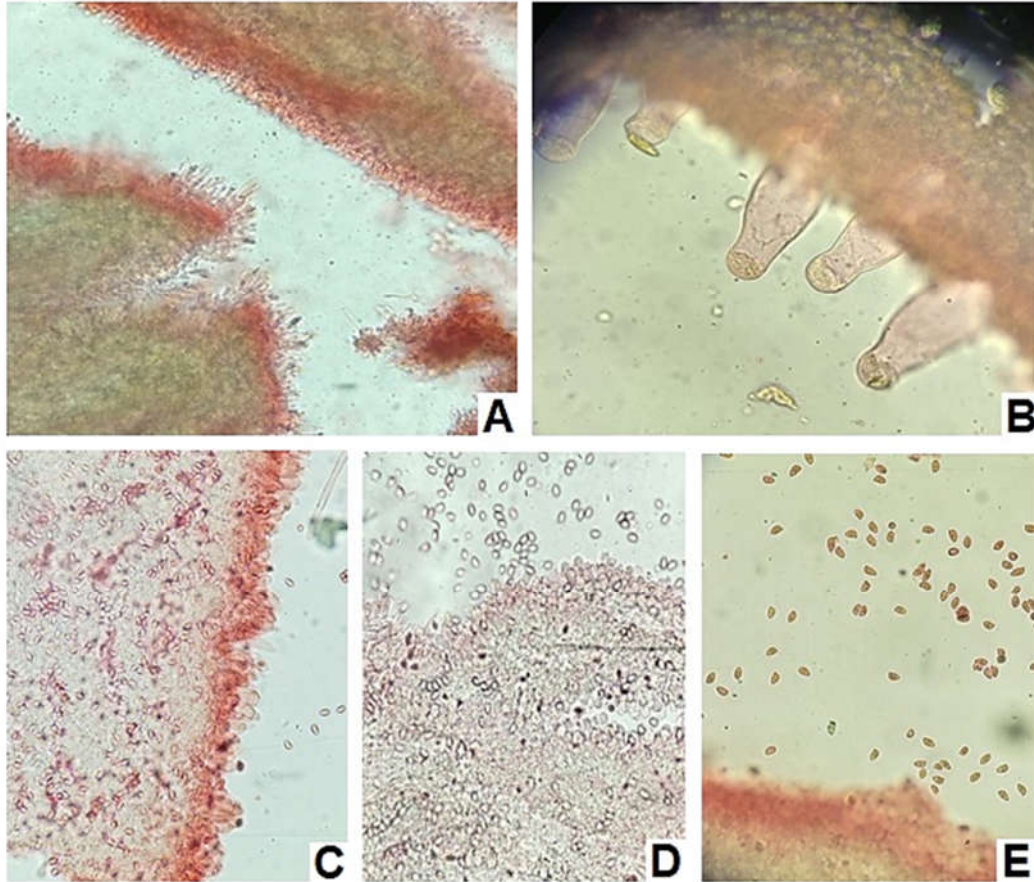
Fungo 5.302 – Ausência de estruturas reprodutivas basídios e basidiósporos, bem como de microestruturas estéreis.

Fungo 5.314 (Figura 11C e D) – Presença de estruturas reprodutivas com basídio bisporado e basidiósporos subelisoide a elipsóide. Presença de microestrutura estéril com inúmeros queilocistídios clavados e fusóides. Superfície pilear com alguns cistídios e hifas.

Fungo 5.321 (Figura 11E) – Presença de estruturas reprodutivas com basídio bisporado do tipo paneolus e basidiósporos globosos e elipsóide. Presença de microestrutura estéril com inúmeros queilocistídios clavados do tipo macrocistídios.

Conforme análise clássica para identificação macroscópica e microscópica, foi possível analisar que os cinco espécimes selecionadas são da ordem Agaricales, sendo que os espécimes 5.273 e 5.280 pertencentes ao gênero *Leucopaxillus* e *Oudemansiella*, respectivamente.

Figura 11. Análise microscópica das estruturas reprodutivas e estéreis



**11A.** 5.273 – Numerosos queilocistídios clavados a fusóides; **11B.** 5.280 – Queilocistídios utrifórmes com grânulos; **11C.** 5.314 – Basidiósporos subelísóides a elísóides; **11D.** 5.314 – Inúmeros queilocistídios clavados e fusóides; **11E.** 5.321 – Basidiósporos globosos a elipsóides. Fonte: Autoria própria.

## 5.2. ISOLAMENTO E PRODUÇÃO DE EXTRATOS ALCOÓLICOS

Os resultados mostraram que dentre os meios empregados para o isolamento de fungos Agaricales, os meios BDA e aveia foram os que permitiram melhores resultados. Após o isolamento das 5 morfoespécies selecionadas realizou-se a produção de extratos alcoólicos. Os extratos alcoólicos apresentaram diferentes rendimentos de crescimento micelial, peso e a consistência. O rendimento dos extratos alcoólicos miceliais produzidos é apresentado no quadro abaixo:

Quadro 3. Rendimento do extrato dos fungos Agaricales

<b>Fungo n°</b>	<b>Rendimento (mg)</b>
5.273	70,90 mg
5.280	69,65 mg
5.314	35,70 mg
5.321	33,28 mg
5.302	18,46 mg

Fonte: Autoria própria.

### 5.3. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS

O resultado do ensaio de citotoxicidade mostraram que o extrato alcoólico micelial dos fungos n° 5.280, 5.314, 5.321 e 5.302 apresentaram  $CC_{50}$  acima de 500  $\mu\text{g/ml}$ . Já o extrato alcoólico micelial do fungo n° 5.273 apresentou  $CC_{50}$  de 54,9  $\mu\text{g/ml}$ . Dessa forma, apesar da concentração teto mais baixa, o fungo 5.273 do gênero *Leucopaxillus* possibilitou melhor identificação macroscópica e microscópica, sendo selecionado o extrato deste para realização da análise molecular, bem como, dos testes comportamentais *in vivo* nas doses de 20, 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$ .

### 5.4. ESCOLHA E DETERMINAÇÃO DA DOSE DE TRABALHO DO EXTRATO ALCOÓLICO

A escolha do extrato alcoólico de fungo a ser empregado no presente estudo se baseou em dois critérios: nível de identificação e rendimento do extrato. Nesse sentido, o fungo 5.273 do gênero *Leucopaxillus* possibilitou melhor identificação macroscópica e microscópica e produziu maior rendimento de extrato.

Uma vez que o rendimento da fração não permitiu a realização de teste de toxicidade aguda, a dose do extrato alcoólico micelial do fungo *Leucopaxillus* (fungo n° 5.273) foi estabelecido de forma empírica usando como base a  $CC_{50}$  em células HepG2. Neste sentido, as concentrações das soluções do extrato que foram empregadas para os testes

comportamentais in vivo foram de 20, 100 e 200 µg/ml, equivalente a ~0.5, 2 e 4 vezes a CC50, respectivamente. Portanto, determinou-se como dose de trabalho 0,33 mg/Kg (20 µg/ml), 1,6 mg/Kg (100 µg/ml) e 3,3 mg/Kg (200 µg/ml).

## 5.5. TESTE COMPORTAMENTAIS

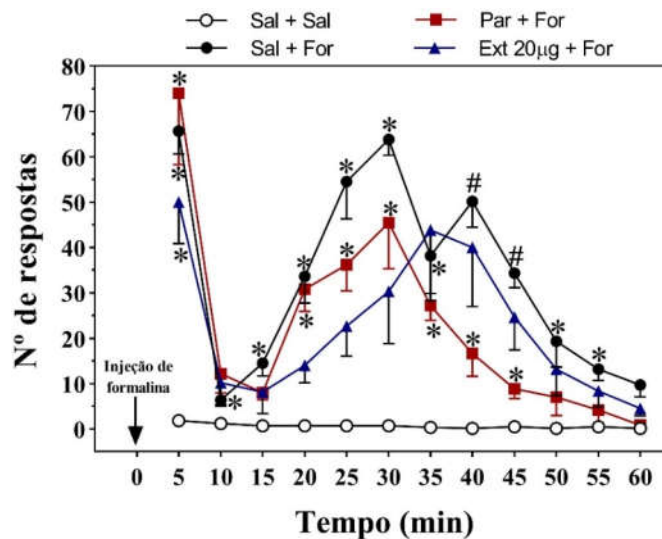
### 5.5.1 Teste da formalina

Os resultados mostram que a injeção de formalina 1% no dorso da pata posterior direita induziu resposta nociceptiva bifásica característica. Uma fase inicial de curta duração (primeiros 10 minutos) desenvolvida imediatamente após a injeção da formalina 1% e uma segunda fase mais duradoura, que perdurou pelo período compreendido entre 20 e 50 minutos pós-injeção. Entre a primeira e segunda fase do teste, observou-se um período de aproximadamente 10 minutos onde ocorreu significativa redução das respostas comportamentais (Figura 12, 13 e 14). A análise da área sob a curva também demonstra claramente que a injeção de formalina 1% aumenta significativamente a 1ª fase, fase intermediária e 2ª fase quanto comparado ao grupo injetado com salina (Figura 15A, 15B e 15C).

Os resultados também mostraram que o pré-tratamento com paracetamol (200 mg/kg; gavagem), usado como controle positivo, reduziu significativamente a 2ª fase de respostas nociceptiva, mas não a 1ª fase e fase intermediária de respostas (Figura 12, 13, 14 e 15). Já os animais tratados com extrato alcoólico de *Leucopaxillus* observou-se significativa redução das respostas comportamentais da fase intermediária e da 2ª fase do teste quando comparado com grupo formalina e pré-tratado com salina (Figura 12, 13, 14 e 15). A atenuação da fase intermediária foi significativa nas concentrações de 100 µg/ml (Figuras 13 e 15) e 200 µg/ml (Figura 14 e 15), enquanto a 2ª fase foi significativamente atenuada na concentração de 100 µg/ml (Figura 13 e 15).

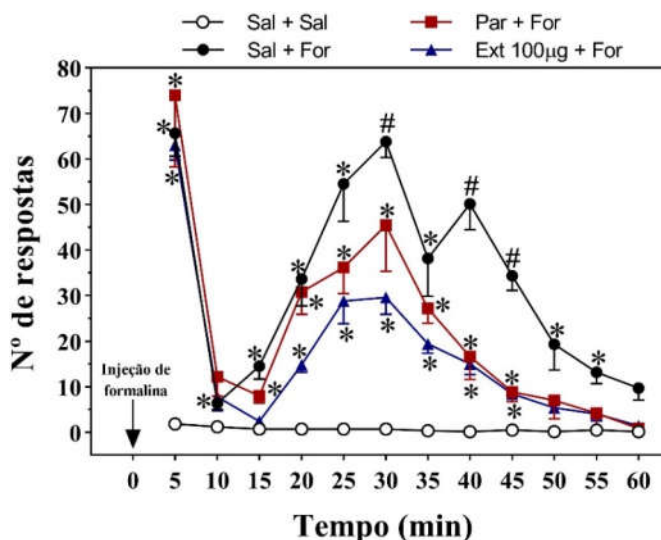
A figura 12 mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{3, 20} = 16,24$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto ao tempo ( $F_{4,209, 84,17} = 30,49$ ;  $p < 0,0001$ ) e demonstrou significativa interação tratamento versus tempo ( $F_{33, 220} = 5,621$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 13 mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{3, 19} = 29,05$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto ao tempo ( $F_{3,645, 69,26} = 59,96$ ;  $p < 0,0001$ ) e demonstrou significativa interação tratamento versus tempo ( $F_{33, 209} = 9,244$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 14 mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{3, 19} = 28,82$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto ao tempo ( $F_{3,659, 69,52} = 61,51$ ;  $p < 0,0001$ ) e demonstrou significativa interação tratamento versus tempo ( $F_{33, 209} = 9,290$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 15A mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{5, 28} = 9,428$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 15B mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{5, 28} = 5,079$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 15C mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{5, 28} = 60,87$ ;  $p < 0,0001$ ).

Figura 12. Efeitos da administração de 20  $\mu\text{g/ml}$  do extrato de *Leucopaxillus* sobre a reposta nociceptiva no teste da formalina 1%



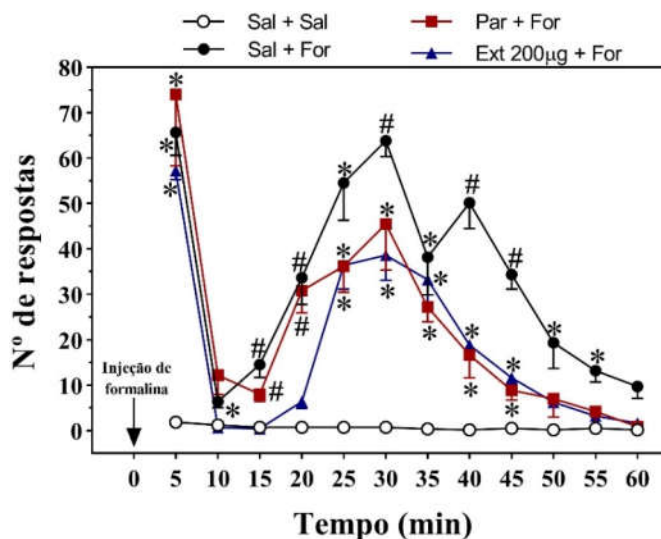
Sal + Sal = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção subcutânea de salina (Sal). Sal + For = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção subcutânea de formalina (For). Par + For = pré-tratamento com paracetamol (Par) e injeção subcutânea de formalina (For). Ext 20 $\mu\text{g}$  + For = pré-tratamento com 20  $\mu\text{g/ml}$  de extrato alcoólico de *Leucopaxillus* (Ext) e injeção subcutânea de formalina (For). A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* diferente do grupo Sal + Sal. # diferente do grupo Sal + Sal e demais grupos.

Figura 13. Efeitos da administração de 100 µg/ml do extrato de *Leucopaxillus* sobre reposta nociceptiva no teste da formalina 1%



S Sal + Sal = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção subcutânea de salina (Sal). Sal + For = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção subcutânea de formalina (For). Par + For = pré-tratamento com paracetamol (Par) e injeção subcutânea de formalina (For). Ext 100 µg + For = pré-tratamento com 100 µg/ml de extrato alcoólico de *Leucopaxillus* (Ext) e injeção subcutânea de formalina (For). A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* diferente do grupo Sal + Sal. # diferente do grupo Sal + Sal e demais grupos.

Figura 14. Efeitos da administração de 200 µg/ml do extrato de *Leucopaxillus* sobre reposta nociceptiva no teste da formalina 1%



Sal + Sal = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção subcutânea de salina (Sal). Sal + For = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção subcutânea de formalina (For). Par + For = pré-tratamento com paracetamol (Par) e injeção subcutânea de formalina (For). Ext 200µg + For = pré-tratamento com 200 µg/ml de extrato alcoólico de *Leucopaxillus* (Ext) e injeção subcutânea de formalina (For). A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* diferente do grupo Sal + Sal. # diferente do grupo Sal + Sal e demais grupos.

Figura 15. Área sob a curva das respostas comportamentais no teste da formalina 1% obtidas a partir dos resultados das figuras 12, 13 e 14

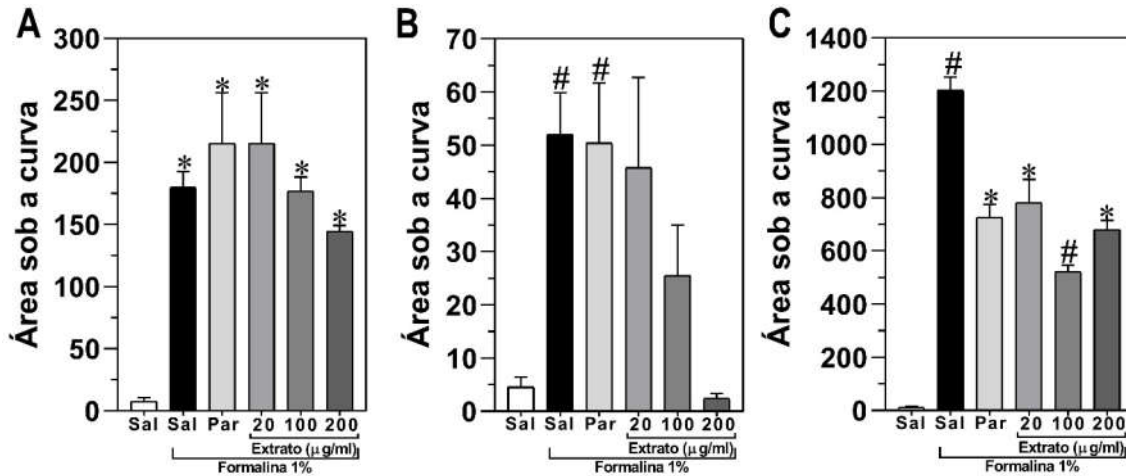


Figura 15 A. ASC = Área sob a curva da 1ª fase (0-10 minutos); Figura 15 B. ASC da fase intermediária (10 minutos); Figura 15 C. ASC da 2ª fase (20-50 minutos); Sal = salina; Par = Paracetamol; \* = diferente do grupo Sal + Sal; # = diferente do Ext + For e do Sal + Sal. A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* diferente do grupo Sal. # diferente do grupo Sal + Sal e demais grupos.

### 5.5.2 Teste da Carragenina

Os resultados mostraram que a injeção intraplantar de carragenina 1% induziu aumento do volume da pata, representada pelo aumento do percentual de diferença do volume entre a pata tratada (ipsilateral) e a pata controle (contralateral) do mesmo animal. A carragenina causou aumento significativo do volume da pata a partir da 3ª hora pós-injeção, e manteve aumentado até o final do experimento quando comparado ao grupo controle salina (Figura 16, 17 e 18). Os resultados também mostram que ASC do grupo injetado com carragenina foi estatisticamente diferente do grupo controle salina (Figura 19).

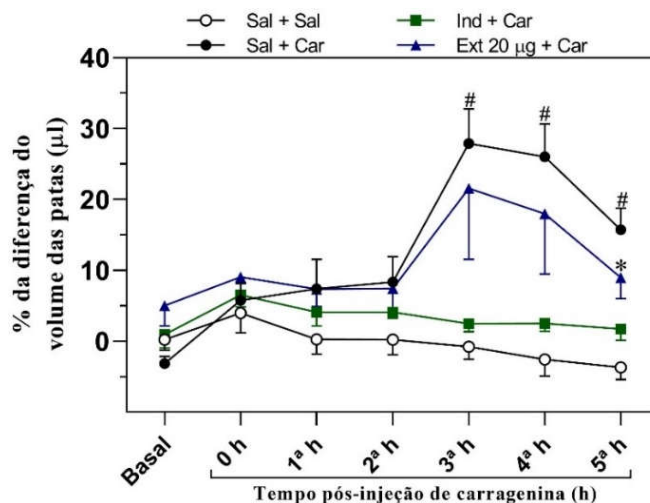
O pré-tratamento com indometacina (30 mg/Kg; oral) reduziu significativamente a intensidade e duração do edema induzido pela carragenina (Figura 16, 17, 18) e reduziu significativamente a área sobre a curva quando comparado ao grupo salina + carragenina (Figura 19). O estudo também demonstrou que o pré-tratamento com o extrato alcoólico de *Leucopaxillus* atenuou significativamente o desenvolvimento do edema de pata induzido pela



carragenina (Figuras 16, 17 e 18). O efeito anti-edematogênico do extrato foi significativo na concentração de 200 µg/ml, mas não nas de 20 e 100 µg/ml (Figura 16, 17, 18 e 19).

A figura 16 apresenta a significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{3, 19} = 6,954$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto ao tempo ( $F_{2,029, 38,55} = 7,105$ ;  $p < 0,0001$ ) e demonstrou significativa interação tratamento versus tempo ( $F_{18, 114} = 3,973$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 17 mostra significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{3, 19} = 8,098$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto ao tempo ( $F_{3,596, 68,33} = 20,11$ ;  $p < 0,0001$ ) e demonstrou significativa interação tratamento versus tempo ( $F_{18, 114} = 10,25$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 18 mostra significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{3, 19} = 9,375$ ;  $p < 0,0001$ ), quanto ao tempo ( $F_{3,340, 63,45} = 15,28$ ;  $p < 0,0001$ ) e demonstrou significativa interação tratamento versus tempo ( $F_{18, 114} = 9,894$ ;  $p < 0,0001$ ). A figura 19 mostrou significativa diferença como relação ao tratamento ( $F_{5, 29} = 15,66$ ;  $p < 0,0001$ ).

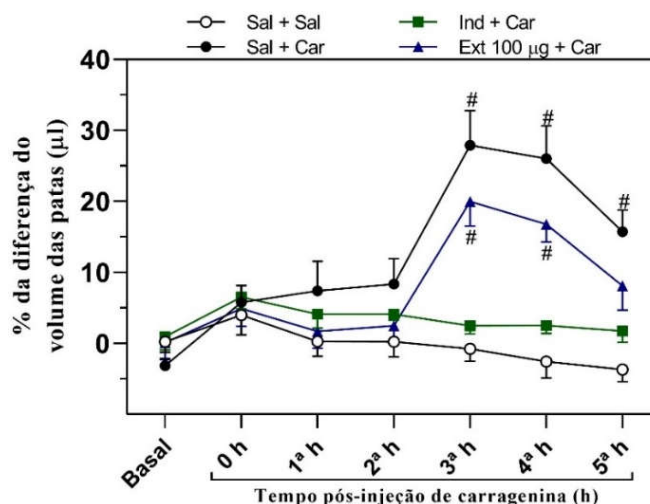
Figura 16. Efeito da administração de 20 µg/ml do extrato de *Leucopaxillus* sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%



Sal + Sal = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção intraplantar subcutânea de salina (Sal). Sal + Car = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção intraplantar subcutânea de carragenina 1% (Car). Ind + Car = pré-tratamento com indometacina (Ind) e injeção intraplantar de carragenina 1% (Car). Ext 20 µg + Car = pré-tratamento com 20 µg / ml extrato alcoólico de *Leucopaxillus* (Ext) e injeção intraplantar subcutânea de carragenina 1% (Car). A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média ± EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* = Significativamente diferente do Sal + Sal. # = Significativamente diferente da Ind + Car.

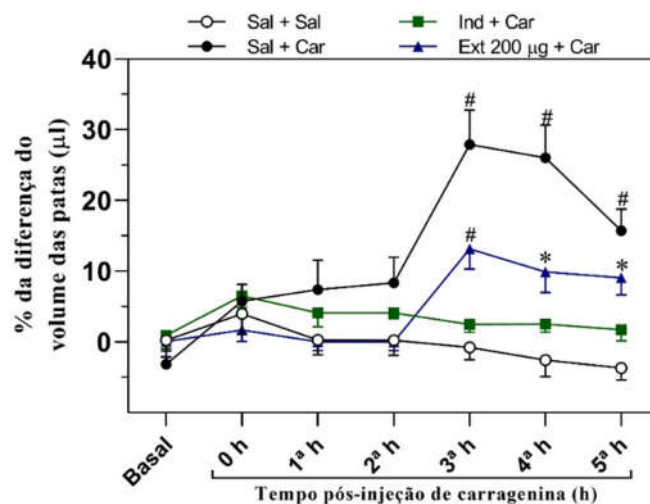


Figura 17. Efeito da administração de 100 µg/ ml do extrato de *Leucopaxillus* sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%



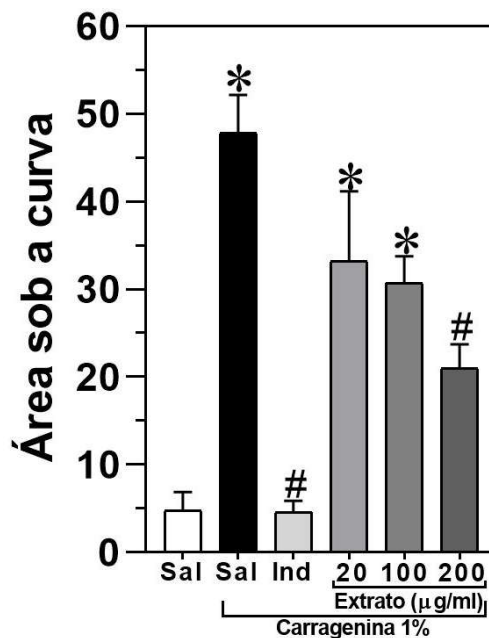
Sal + Sal = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção intraplantar subcutânea de salina (Sal). Sal + Car = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção intraplantar subcutânea de carragenina 1% (Car). Ind + Car = pré-tratamento com indometacina (Ind) e injeção intraplantar de carragenina 1% (Car). Ext 100 µg + Car = pré-tratamento com 100 µg / ml extrato alcoólico de *Leucopaxillus* (Ext) e injeção intraplantar subcutânea de carragenina 1% (Car). A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* = Significativamente diferente do Sal + Sal. # = Significativamente diferente da Ind + Car.

Figura 18. Efeito da administração de 200 µg/ ml do extrato de *Leucopaxillus* sobre o edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%



Sal + Sal = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção intraplantar subcutânea de salina (Sal). Sal + Car = pré-tratamento com salina (Sal) e injeção intraplantar subcutânea de carragenina 1% (Car). Ind + Car = pré-tratamento com indometacina (Ind) e injeção intraplantar de carragenina 1% (Car). Ext 200 µg + Car = pré-tratamento com 200 µg / ml extrato alcoólico de *Leucopaxillus* (Ext) e injeção intraplantar subcutânea de carragenina 1% (Car). A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* = Significativamente diferente do Sal + Sal. # = Estatisticamente diferente do grupo Ind + Car e do Ext 200µg + Car.

Figura 19. Área sob a curva das alterações nos volumes de pata no teste da carragenina 1% obtidas a partir dos resultados das figuras 16, 17 e 18

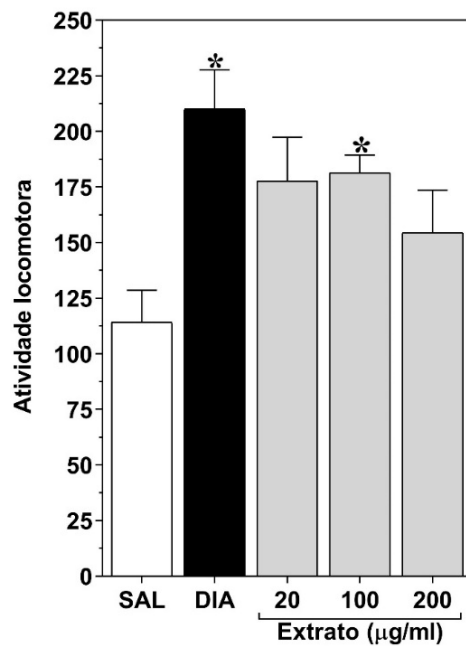


Sal = salina; Ind = Indometacina. A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* = Significativamente diferente do grupo Sal. # = Significativamente diferente do grupo Sal e dos demais grupos.

### 5.5.3 Teste do Labirinto em cruz elevado

No presente estudo empregou-se o teste do labirinto em cruz, sendo analisado o efeito da administração do extrato alcóolico de *Leucopaxillus* sobre a atividade locomotora dos animais. Os resultados mostram que o diazepam (2 mg/Kg ou 0,06 mg/ml), usado como controle positivo, aumentou significativamente a atividade locomotora dos animais quando comparado com aqueles tratados com salina (Figura 20). Os resultados também mostram que o extrato de *Leucopaxillus* aumentou significativamente a atividade locomotora na concentração de 100  $\mu\text{g/ml}$ . Nas concentrações de 20 e 200  $\mu\text{g/ml}$  o extrato de *Leucopaxillus* não alterou significativamente a atividade locomotora quando comparado ao grupo salina (Figura 20). Os dados da Figura 20 foram estatisticamente diferentes quanto ao tratamento ( $F_{4, 20,75} = 4,783$ ;  $p = 0,0068$ ).

Figura 20. Efeito do extrato de *Leucopaxillus* sobre a atividade locomotora no teste do labirinto em cruz elevado.



A atividade locomotora foi definida como a soma do nº de quadrantes cruzados + elevação sobre as patas posteriores. Sal = salina; Dia = Diazepam (2 mg/Kg; ip). O extrato de *Leucopaxillus* foi administrado nas concentrações de 20, 100 e 200 µg/ml por gavagem. A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ . Os dados foram representados como média ± EPM (erro padrão da média) de 5-6 animais. \* diferente do grupo Sal.

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo foram selecionadas cinco morfoespécies de fungos Basidiomicetos (cogumelos), de um total de 79 morfoespécies coletadas, após avaliação de características macroscópicas e microscópicas com indicativos de presença de compostos bioativos que, apesar de tóxicos, podem ser explorados farmacologicamente (HIBBETT et al, 2007; SOCCOL et al, 2007). A coloração dos cogumelos foi a principal característica indicativa de que eles possuíam compostos bioativos tais como ciclo-peptídeos, mono-metil-hidrazina, coprina, muscarina, muscimol (ácido ibotênico), psilocina, psilocibina, serotonina e polissacarídeos. O fungo *Leucopaxillus* apresenta uma coloração diferenciada com o píleo marrom alaranjado (COD. 8C) (HUFFMAN et al., 2008; CARVALHO et al., 2014; BACH et al., 2017).

Evidências mostram que algumas espécies de cogumelos, especialmente aqueles coloridos, apresentam alguns desses compostos bioativos em concentrações suficientes para causar oxidação pelo simples manuseio. Por exemplo, coloração roxo-azulada de alguns cogumelos pode ser atribuída à oxidação enzimática de triptofano, serotonina ou psilocibina, que são substâncias tóxicas, embora esta reação também possa ser observada em espécies que não possuem compostos tóxicos (ROSSATO, 2008). Além do critério coloração, outra maneira de determinar a toxicidade é através de identificação precisa do fungo por análise molecular, bem como análise de seus constituintes químicos (HIBBETT et al, 2007).

A análise macroscópica e microscópica permitiu confirmar que os espécimes 5.302, 5.314 e 5.321 se tratava de fungos da ordem Agaricales. A precisão na identificação do espécime 5.302 foi prejudicada pela ausência de estruturas reprodutivas e microestruturas estéreis, assim como os fungos 5.314 e 5.321 que apesar de apresentarem basídios e basidiósporos, não foi possível caracterizá-los a nível de gênero. Mesmo assim, os espécimes 5.302, 5.314 e 5.321 foram caracterizados quanto a ordem com base na análise de píleo

(coloração, forma, superfície e margem), do estípete (coloração, posição e superfície) e as lamelas (coloração e aspecto) (KORNERUP; WANSCHER, 1967; GIMENES, 2010).

Os espécimes 5.273 e 5.280 foram identificados como pertencentes, respectivamente ao gênero *Leucopaxillus* e gênero *Oudemansiella* através da análise clássica por critérios macroscópicos e microscópicos. O gênero *Leucopaxillus* pertence ao reino Fungi, filo Basidiomycota, classe Agaricomycetes, ordem Agaricales e família Tricholomataceae, estando representado no Brasil por três espécies: *L. brasiliensis* (Rick) Singer & A.H. Sm.; *L. gracillimus* Singer & A.H. Sm.; e *L. rickii* Singer (PUTZKE, 1994). Já o gênero *Oudemansiella* pertence ao reino Fungi, filo Basidiomycota, classe Agaricomycetes, ordem Agaricales e família Physalacriaceae. Atualmente são descritas a existência de 108 espécies do gênero *Oudemansiella* no mundo (<http://www.mycobank.org/>).

Foram diversas opções utilizadas para o processo de isolamento e crescimento micelial, mas os meios Batada-Dextrose-Ágar (BDA) e aveia foram os que produziram melhores resultados. Isso é devido provavelmente aos nutrientes, especialmente carboidratos complexos e de melhor degradação, existentes nos meios BDA e aveias (CARNAÚBA et al, 2007; GOMES; PENA, 2016). Todavia, mesmo entre fungos do mesmo gênero pode existir susceptibilidade distinta de crescimento nos meios de cultivo utilizados (NOZAKI et al, 2004). Outro fator importante que poderia explicar a dificuldade no isolamento é a interação com outros fungos ambientais, como fungos Agaricales do gênero *Xylaria* sp (SANTOS, 2017).

Fungos do gênero *Xylaria* pertencem ao Filo Ascomycota, e são organismos saprófitos, conhecidos principalmente por terem um papel de decomposição de madeira morta (OSONO et al., 2011). Assim como algumas espécies de basidiomicetos que exercem essa atividade de decomposição na natureza, o que pode caracterizar uma relação de simbiose

entre esses dois organismos que compartilham do mesmo substrato (WEBSTER; WEBER, 2007).

A dificuldade no isolamento de fungos Basidiomicetos tem sido relatada em outros estudos. Santos (2017) descreve que foi capaz isolar apenas 19% dos 168 espécimes de basidiomicetos coletados em florestas secundárias do estado do Acre. De modo semelhante, Neto (2010) descreve que apenas 11% dos 260 basidiomicetos coletados na Mata Atlântica foram efetivamente isolados. Por fim, Abrahão (2009) coletou 295 basidiomicetos, sendo 12 selecionados para o isolamento e apenas 4 efetivamente foram isolados. A baixa quantidade de isolados ocorreu principalmente devido à interação com fungos ambientais como, *Xylaria* sp. e *Trichoderma* sp. Vale ressaltar que os estudos apresentados, utilizaram diferentes métodos para o processo de desinfecção do basidioma. A metodologia utilizada neste trabalho para a desinfecção, foi aperfeiçoada baseada nas literaturas pesquisadas.

Após análise citotóxica, o espécime 5.273, identificada como *Leucopaxillus* sp, foi selecionado para a realização dos testes *in vivo* uma vez que apresentou melhor rendimento e foi possível melhor identificação, embora tenha apresentado maior citotoxicidade pela CC<sub>50</sub> em células HepG2. Apesar de bom, o rendimento não foi suficiente para a realização de ensaio de toxicidade aguda para determinação da dose letal para 50 % dos indivíduos (DL<sub>50</sub>) e dose de trabalho, conforme preconizado pelo Guia nº 423 da The Organisation for Economic Co-operation and Development (OCDE) (ANVISA, 2017). Além disso, por não ter sido possível identificar a espécie do fungo também não foi possível se basear nos escassos dados na literatura empregando doses não tóxicas em modelos *in vivo*.

O único estudo encontrado na literatura avalia o efeito anti-hipertensivo *in vivo* de extrato de *Leucopaxillus tricolor* na dose de 200 mg/Kg, sem descrever o método de determinação da dose de trabalho (GENG et al., 2015). Neste sentido, o estudo optou em empregar doses baseadas em múltiplos da CC<sub>50</sub>. Nas doses empregadas não foi observado

qualquer sinal agudo de toxicidade, tal como alteração da ambulação, pelos eriçados, convulsão, prostração, vocalização, irresponsividade ao toque físico ou movimentos estereotipados e repetitivos. Além disso, nenhuma animal morreu durante os experimentos, especialmente após a administração do extrato.

O presente estudo mostrou de forma inédita que o extrato alcóolico de *Leucopaxillus* sp apresenta atividade antinociceptiva na 2ª fase, mas não na 1ª fase, do teste da formalina 1%. Este efeito foi com o fármaco controle paracetamol na dose de 200 mg/ Kg empregada no estudo. Estudos mostram que a capacidade do paracetamol de inibir ambas as fases do teste da formalina são dependentes da dose, já que com 300 e 400 mg/Kg ela produz antinocicepção bifásica (TJOLSEN et al., 1992; BONNEFONT et al., 2003). Dessa forma, é possível que em doses mais altas o extrato alcóolico de *Leucopaxillus* sp seja capaz de inibir ambas fases do teste.

No estudo também foi observado que o extrato alcóolico de *Leucopaxillus* sp reduz de forma significativa o número de respostas nociceptivas na fase intermediária do teste da formalina. A fase intermediária é caracterizada pela redução significativa e temporária das respostas comportamentais nociceptivas em virtude ativação de mecanismos de controle endógeno da nocicepção (HUNSKAAR; HOLE, 1987; TJOLSEN et al., 1992). Nesse sentido, é possível que o efeito antinociceptivo do extrato envolva algum grau de ativação de mecanismos endógenos da dor, apesar de não se observar inibição da primeira fase do teste da formalina.

O paracetamol também, quando administrado por via oral, também produz efeito antinociceptivo mediado por ativação de mecanismos endógenos moduladores da dor. Esses mecanismos ativados podem envolver a participação de neurotransmissores tais como a serotonina de origem supra-espinal, especialmente das vias serotoninérgicas do bulbo espinal (RAFFA et al., 2000; MILLAN et al., 2002). No entanto, o paracetamol pode produzir

antinocicepção por inibição da transmissão nociceptiva periférica por mecanismo não inflamatórios, uma vez que este fármaco tem atividade discreta sobre COX-1 e COX-2 (AMINOSHARIAE; KHAN, 2015).

Pela similaridade no perfil de resposta com o paracetamol, é possível supor que o extrato alcóolico de *Leucopaxillus* empregados no estudo produza efeitos antinociceptivos envolvendo mecanismos centrais e periféricos. Todavia, os mecanismos atribuídos ao extrato nesta pesquisa só poderão ser confirmados com futuros testes adicionais, envolvendo utilização de antagonistas farmacológicos dos neurotransmissores envolvidos com a ação central da nocicepção, bem como avaliação dos níveis dos principais mediadores periféricos da inflamação, tais como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e PGE<sub>2</sub> (HUNSKAAR; HOLE, 1987; TJOLSEN et al., 1992; COTRAN et al., 2000; SYKES et al., 2014).

Estudos empregando fungos que pertencem da família Tricholomataceae, a qual os fungos *Leucopaxillus* pertencem, corroboram os resultados alcançados no presente estudo. O extrato aquoso do micélio de *Pleurotus sajorcaju* reduziu as contorções abdominais na dosagem de 1000 mg/kg no modelo de dor visceral induzido por ácido acético, mas não reduziu as respostas nociceptivas no teste da placa quente em camundongos. Já o extrato metanólico do micélio de *Pleurotus sajorcaju* reduziu as respostas nociceptivas tanto no teste de contorção abdominal induzida por ácido acético quanto no teste da placa quente (PATEL et al., 2011).

Resultados semelhantes mostram que *Pleurotus ostreatus* reduz significativamente as respostas nociceptivas em ambas as fases do teste da formalina (VASUDEWA et al., 2007). Por fim, Kudahewa e colaboradores (2008) mostraram que a administração de extrato de *Pleurotus cystidiosus*, um cogumelo comestível, inibe a resposta nociceptiva no teste da placa quente e no teste de retirada de cauda. Neste sentido, tais evidências reforçam os achados do presente estudo de que fungos basidiomicetos podem produzir inibição da nocicepção através



de mecanismos que envolvem o SNC e periférico. No entanto, no presente estudo o extrato de *Leucopaxillus* não inibiu bem como modulação da resposta inflamatória (KUDAHEWA, et al. 2008).

O presente estudo também observou que extrato de *Leucopaxillus* reduziu significativamente a intensidade e duração do edema de pata induzido por injeção intraplantar de carragenina a 1%, indicando propriedades anti-inflamatórias deste fungo. No entanto, este efeito anti-inflamatório foi menos intenso quando comparado ao efeito da indometacina, o fármaco anti-inflamatório não esteroide usado como controle positivo no estudo. Como já relatado, o efeito menos intenso do que do fármaco padrão pode estar associado à dose do extrato empregado no estudo. Neste sentido, é necessário estudos com doses mais altas do extrato de *Leucopaxillus* para verificar se o efeito pode ser incrementado. A indometacina otimiza a resposta anti-inflamatória, reduzindo não só sua intensidade como a duração do edema, uma vez que este fármaco atua predominantemente na inibição das ciclooxigenases (COX1 e COX2) (ALVÁN, et al., 1975; DI ROSA et al., 1971a; CHEN, et al., 1995).

A resposta inflamatória induzida por carragenina é dividida em três fases distintas, caracterizadas conforme ação dos respectivos mediadores inflamatórios liberados ao longo do tempo. Assim, o pico do edema de pata se desenvolve na terceira fase (3ª hora). Neste estudo, foi observado que o extrato de *Leucopaxillus* reduziu o pico do edema na terceira fase. Portanto, é possível sugerir que o efeito anti-inflamatório do extrato está associada à interferência da ação de mediadores pró-inflamatórios da terceira fase, tal como a PGE2 (DI ROSA et al., 1971a; DI ROSA et al., 1971b; KENNE; RENNE, 2014).

Apesar de ainda não haver estudos utilizando extrato do gênero *Leucopaxillus* para aplicação no teste de inflamação induzida por carragenina 1%, existem pesquisas semelhantes com a mesma família Tricholomataceae. A espécie *Pleurotus pulmonarius* foi avaliada quanto

ao seu potencial anti-inflamatório no teste de edema de pata induzido por carragenina 1%, nas concentrações de 500 e 1000 mg/kg, onde observou que foi significativamente eficaz na redução do edema, sugerindo, assim, potencial terapêutico para *P. pulmonarius* como agente anti-inflamatório (JOSE et al., 2002).

Outro estudo analisou a ação dos polissacarídeos do micélio (MSPS) de *Hypsizigus marmoreus* (Tricholomataceae), nas doses de 200, 400 e 800 mg/ kg, em camundongos com lesão pulmonar induzida lipopolissacarídeos (LPS) (5mg/ kg – intraperitoneal). As investigações indicaram que MSPS melhorou as lesões pulmonares na dose de 800mg/ Kg, pela ação anti-inflamatória relacionada aos efeitos antioxidantes dos polissacarídeos (LIU et al., 2018). Os compostos anti-inflamatórios identificados nos cogumelos incluem polissacarídeos, ácidos graxos, ácidos fenólicos, esteroides, terpenos e outras biomoléculas. Possivelmente os resultados dessa pesquisa são apoiados nessa constituição química. No entanto, são necessários mais estudos para confirmar esse potencial (TAOFIQ et al. 2016).

A caracterização dos polissacarídeos de cogumelos foi descrita nos isolados de *Pleurotus pulmonarius*, *Agaricus bisporus*, *A. brasiliensis* e *Cordyceps militaris*. Para isso foram testados em linhagem monocítica de células humanas THP-1, onde observaram a presença de p-glucana-(1->6), de a-glucana- (1->4)-(1->6) e de manogalactana nos polissacarídeos, com diferentes proporções. Os extratos brutos dos basidiomicetos foram testados em macrófagos. Pôde-se observar efeito anti-inflamatório nas células contra os LPS, mas ainda precisa ser esclarecida a via de atuação, sendo uma possível explicação, a competição pela ligação com o mesmo receptor de membrana dos LPS (SMIDERLE, F. R. et al., 2012).

Apesar de apresentarem quantidades reduzidas de gorduras totais, os cogumelos principalmente da ordem Agaricales possuem alta porcentagem de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), constituídos por diversas classes de lipídeos, incluindo os ácidos

graxos livres, mono-triglicérideos, esteróis, terpenóides e fosfolípídeos, destacando-se a lecitina (BORCHERS et al., 1999; NOVAES; NOVAES, 2005). Estes também possuem ação anti-inflamatória, ao reduzir a síntese de derivados do AA tais como PGE<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> e LTB<sub>4</sub> (KREMER, 2007; MESQUITA et al., 2011).

Os ácidos fenólicos também possuem potencial anti-inflamatório, expressado por meio de mecanismos que envolvem a inibição de formação de um dos principais mediadores pró-inflamatórios, os leucotrienos. Essa resposta se dá por meio da redução da expressão da enzima 5-lipoxigenase responsável pela oxidação do AA e, por fim, formação dos leucotrienos (MURIEL, 2009; GUGLIUCCI; BASTOS, 2009; GUGLIUCCI et al., 2009).

Os glicocorticoides são uma classe de hormônios esteroides também presentes nos cogumelos, que desempenham um importante papel no controle do sistema imunológico. Devido à sua natureza lipofílica, difunde-se rapidamente para as células e ligam-se ao receptor de glicocorticoide citosólico. O complexo ativado migra para o núcleo, onde suprime a expressão de proteínas pró-inflamatórias e melhora a expressão de proteínas anti-inflamatórias (SCHACKE et al., 2002; REVOLLO; CIDLOWSKI, 2009; DE BOSSCHER et al., 2010).

Os terpenos estão representados nos cogumelos principalmente pelos triterpenos (SUŁKOWSKA-ZIAJA et al., 2017). Alguns estudos com Agaricales evidenciaram que os compostos de triterpenos reduzem a quantidade de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, NO, PGE<sub>2</sub> e COX-2. No entanto são necessários mais estudos para verificar as vias de ativação (DUDHGAONKAR et al., 2009; HASNAT et al., 2015; SUŁKOWSKA-ZIAJA et al., 2017).

Nesta pesquisa, também foi possível observar que o pré-tratamento com o extrato de *Leucopaxillus* aumentou a atividade locomotora total no teste do labirinto em cruz elevado, de forma significativa na dosagem de 100  $\mu$ g/ml, quando comparados com o grupo controle

tratado com salina. A ausência de imobilidade nos animais tratados reforça a suposição de que os efeitos antinociceptivos periféricos, analisados nos testes da formalina, não estão associados à possíveis efeitos sedativos ou que comprometam a capacidade do animal de gerar respostas comportamentais, tais como os comportamentos nociceptivos. Fármacos que aumentam a atividade locomotora normalmente se enquadram na classe dos psicoestimulantes, alucinógenos e ansiolíticos. O aumento da atividade locomotora pode decorrer de propriedades ansiolíticas que se assemelham ao fármaco controle diazepam empregado no estudo.

Na dose de 2 mg/Kg o diazepam, um fármaco benzodiazepínico, é desprovido de efeito sedativo. Pelo contrário, nesta dose o diazepam apresenta significativo aumento da atividade locomotora como consequência de seu efeito ansiolítico e consequente aumento de sua atividade exploratória (CRAWLEY; DAVIS, 1982; BROWN et al., 1999; KASH et al., 1999; SHIMADA et al., 1995; CHOLERIS et al, 2001).

Por fim, o presente estudo demonstra pela primeira vez que os fungos do gênero *Leucopaxillus*, ainda pouco explorados, podem compreender importantes fontes naturais para a descoberta de compostos com aplicação farmacêutica. Com o presente estudo foi possível adicionar a propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias à lista de propriedades biológicas já descritas tais como antiproliferativa, antioxidante e antimicrobiana. Estes resultados abrem perspectivas para o desenvolvimento de terapias complementares para o tratamento da inflamação e dor.

## 7. CONCLUSÃO

- Os fungos identificados são pertencentes a ordem Agaricales (fungos nº 5.302, 5.314 e 5.321), ao gênero *Leucopaxillus* (fungos nº 5.273) e ao gênero *Oudemansiella* (fungo nº 5.280);
- O extrato alcoólico dos fungos nº 5.280, 5.302, 5.314 e 5.321 apresentam  $CC_{50}$  sobre células HepG2, acima de 500  $\mu\text{g/ml}$ , e o extrato de *Leucopaxillus* (5.273) apresenta  $CC_{50}$  de 54,9  $\mu\text{g/ml}$ ;
- O extrato alcóolico de *Leucopaxillus* inibe a resposta nociceptiva na 2ª fase (inflamatória), mas não 1ª fase (neurogênica), do teste da formalina a 1%;
- O extrato alcóolico de *Leucopaxillus* reduz a duração e atenua a intensidade do edema de pata no teste da carragenina a 1%;
- O extrato alcóolico de *Leucopaxillus* aumenta a atividade locomotora no teste do labirinto em cruz elevado;

## REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, M. C. **Estudo da diversidade de Basidiomicetos poliporoides de fragmentos florestais remanescentes do noroeste paulista**. 2009. 240 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, São Paulo, 2009.
- ABREU, H. et al. Gelling functional property, anti-inflammatory and antinociceptive bioactivities of  $\beta$ -D-glucan from the edible mushroom *Pholiota nameko*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, n. 1, p.1128-1135, 2019.
- ADAMS, M. et al. Antiplasmodial Lanostanes from the *Ganoderma lucidum* Mushroom. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 5, p.897-900, 2010.
- ADOTEY G., et al. Effect of immunomodulating and antiviral agent of medicinal mushrooms (immune assist 24/7) on CD4+ T-Lymphocyte Counts of HIV-infected patients. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 13, n. 2, p. 109–113, 2011.
- AKAIKE, A. et al. Analgesia induced by microinjection of morphine into, and electrical stimulation of, the nucleus reticularis paraventricularis of rat medulla oblongata. **Neuropharmacology**, v. 17, n. 9, p. 775-778, 1978.
- ALFENAS, A. C. et al. **Isolamento de fungos fitopatogênicos. Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 90 p.
- ALFREDO, D. S. *Scleroderma minutisporum*, a new earthball from the Amazon rainforest. **Mycosphere**, v. 3, n. 3, p.294-299, 2012.
- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v. 1000, n. 1, p. 40-56, 2004.
- ALONSO, D. et al. Chitosan-based microcapsules containing grapefruit seed extract grafted onto cellulose fibers by a non-toxic procedure. **Carbohydrate research**, v. 345, n. 6, p. 854-859, 2010.
- ALVÁN, G. et al. Pharmacokinetics of indomethacin. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 18, n. 3, p. 364–373, 1975.
- ALVAREZ, A. G.; SASSO, G. T. M. D. Aplicação de objeto virtual de aprendizagem, para avaliação simulada de dor aguda, em estudantes de enfermagem. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 19, n. 2, p. 1-9, 2011.
- ALVES, M. J. et al. A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. **Planta medica**, v. 78, n. 16, p. 1707-1718, 2012.
- AMINOSHARIAE, A.; KHAN, A. Acetaminophen: old drug, new issues. **Journal of endodontics**, v. 41, n.5, p. 588-593, 2015.
- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos*, jan. 2013. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em 08 de Janeiro de 2020.

AOKI, T.; NARUMIYA, S. Prostaglandins and chronic inflammation. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 33, n. 6, p. 304-310, 2012.

BACH, F. et al. **Avaliação do potencial nutricional, antioxidante e antibacteriano de cogumelos comestíveis**. 2017. 70 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2017.

BAGGIO, C. H. et al. Antinociceptive effects of (1→3),(1→6)-linked β-glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius* in models of acute and neuropathic pain in mice: evidence for a role for glutamatergic receptors and cytokine pathways. **The Journal of Pain**, v. 11, n. 10, p. 965-971, 2010.

BANCHEREAU, J. et al. From IL-2 to IL-37: The expanding spectrum of anti-inflammatory cytokines. **Nature Immunology**, v. 13, n. 10, p. 925-931, 2012.

BARROS, L. et al. Bioactive properties of the medicinal mushroom *Leucopaxillus giganteus* mycelium obtained in the presence of different nitrogen sources. **Food chemistry**, v. 105, n. 1, p. 179-186, 2007.

BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-84, 2009.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 556-563, 2010.

BOERNGEN-LACERDA, R.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. O. Does the increase in locomotion induced by ethanol indicate its stimulant or anxiolytic properties? **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 67, n. 2, p. 225-232, 2000.

BONICA, J. J. et al. **Textbook of pain**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1999. 250 p.

BONNEFONT, J. et al. Orally Administered Paracetamol Does Not Act Locally in the Rat Formalin Test Evidence for a Supraspinal, Serotonin-dependent Antinociceptive Mechanism. **Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v. 99, n. 4, p. 976-981, 2003.

BORCHERS, A. T. et al. Mushroom, tumors, and immunity. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 221, n. 4, p. 281-93, 1999.

BOURINET, Emmanuel et al. Silencing of the Cav3. 2 T-type calcium channel gene in sensory neurons demonstrates its major role in nociception. **The EMBO journal**, v. 24, n. 2, p. 315-324, 2005.

BROWN, R. E.; COREY, S.C.; MOORE, A. K. Differences in measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice. **Behavior Genetics**, v. 26, n. 1, p. 263-271, 1999.

CARBONERO, E. R. et al. *Lentinus edodes* heterogalactan: antinociceptive and anti-inflammatory effects. **Food Chemistry**, v. 111, n. 3, p. 531-537, 2008.

CARNAÚBA, J. P. et al. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. **Summa Phytopathol**, v. 33, n. 1, p. 199-200, 2007.

- CARVALHO, L. M. et al. Nontargeted and targeted analysis of wild toxic and edible mushrooms using gas chromatography ion trap mass spectrometry. **Talanta**, v. 118, n. 1, p. 292–303, 2014.
- CASTRO LOPEZ, J. M. **Fisiopatologia da dor**. Lisboa: Permanyer Portugal, 2003. 36p.
- CASTRO, A. J. G. et al. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antioxidant activities of polysaccharide-rich extract from fungi *Caripia montagnei*. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 121–129, 2014.
- CHANG, C. C. et al. Purification, structural elucidation, and anti-inflammatory activity of xylosyl galactofucan from *Armillaria mellea*. **International journal of biological macromolecules**, v. 114, n. 1, p. 584-591, 2018.
- CHEN, H. et al. Anti-Proliferative and Anti-Inflammatory Lanostane Triterpenoids from the Polish Edible Mushroom *Macrolepiota procera*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 12, p. 3146-3154, 2018.
- CHOLERIS, E. et al. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 25, n. 3, p.: 235-60, 2001.
- CONDÉ, V. F. et al. Farinha de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (cogumelo Hiratake) enriquecido em ferro. **Ciência e Natura**, v. 39, n. 1, p. 01-06, 2017.
- COTRAN, R. S.; BARBOSA, J. B.; VOEUX, P. J. R. **Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. 200 p.
- CRAWLEY, J.N.; DAVIS, L.G. Baseline exploratory activity predicts anxiolytic responsiveness to diazepam in five mouse strains. **Brain Research Bulletin**, v. 8, n. 6, p.: 609-12, 1982.
- DA SILVA, J. M. et al. Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais. **Revista Científica do ITPAC**, v. 7, n. 4, p. 1-15, 2014.
- DE BOSSCHER, K. et al. Targeting inflammation using selective glucocorticoid receptor modulators. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 10, n. 1, p. 497–504, 2010.
- DE OLIVEIRA ALVES, J. E. et al. Mecanismos fisiopatológicos da nociceção e bases da analgesia perioperatória em pequenos animais. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 8, n. 1, p. 56-68, 2017.
- DE PAULO, L. F. et al. Inflamação: história, tipos e causas. **Revista uningá review**, v. 1, n. 1, p. 56-63, 2017.
- DESALLES, A.A. et al. Pain suppression induced by electrical stimulation of the pontine parabrachial region. **Experimental study in cat. Journal of Neurosurgery**, v. 67, n. 1, p. 397-407, 1985.
- DIAS, Q. M.; CRESPILO, S. F.; SILVEIRA, J. W.; PRADO, W. A. Muscarinic and alpha (1)-adrenergic mechanisms contribute to the spinal mediation of stimulation-induced antinociception from the pedunculopontine tegmental nucleus in the rat. **Pharmacology Biochemistry Behavior**, v. 92, n. 3, p. 488-94, 2009.



DI ROSA M.; GIROUD J.P.; WILLOUGHBY D.A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **The Journal of Pathology**, v. 104, n. 1, p. 15-29, 1971a.

DI ROSA M.; PAPADIMITRIOU J.M.; WILLOUGHBY D.A. A histopathological and pharmacological analysis of the mode of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **The Journal of Pathology**, v. 105, n. 1, p. 239–256, 1971b.

DUARTE et al. Estudo sobre automedicação no uso de anti-inflamatórios não Esteróides na cidade de Valparaíso de Goiás. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 9, n. 5, p. 142-153, 2016.

DUBIN, A. E.; PATAPOUTIAN, A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3760-3772, 2010.

DUDHGAONKAR, S. et al. Suppression of the inflammatory response by triterpenes isolated from the mushroom *Ganoderma lucidum*. **International immunopharmacology**, v. 9, n. 11, p. 1272-1280, 2009.

DUDKA, M. M. et al. Fungus *Cerrena unicolor* as an effective source of new antiviral, immunomodulatory, na anticancer compounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.79, n. 1, p. 459-468, 2015.

ELKHATEEB, W. A. et al. *Ganoderma applanatum* secondary metabolites induced apoptosis through different pathways: *In vivo* and in vitro anticancer studies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, n. 1, p. 264-277, 2018.

ELSESSER, K.; CEGLA, T. Long-term treatment in chronic noncancer pain: Results of an observational study comparing opioid and nonopioid therapy. **Scandinavian journal of pain**, v. 17, n. 1, p. 87-98, 2017.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 04/09/2019.

FORNI, J. E. et al. Perfil sócio-demográfico e clínico de uma coorte de pacientes encaminhados a uma Clínica de Dor. **Revista Dor**, v. 13, n. 2, p.147-51, 2012.

FRANCESCHI, C.; CAMPISI, J. Chronic Inflammation and its potential contribution to age-associated diseases. **The journals of Gerontology Series a Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 69, n. 1, p.4-9, 2014.

GAO, Z. et al. Antioxidative, anti-inflammation and lung-protective effects of mycelia selenium polysaccharides from *Oudemansiella radicata*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.104, n. 1, p. 1158–1164, 2017.

GENG, X. et al. Isolation of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory protein with antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats from the edible wild mushroom *Leucopaxillus tricolor*. **Molecules**, v. 20, n. 6, p. 10141-10153, 2015.

GIMENES, L. J. **Fungos Basidiomicetos - Técnicas de coleta, isolamento e subsídios para processos Biotecnológicos**. São Paulo: IBT, 2010. 60 p.

- GOBI, V. V. et al. *Agaricus blazei* extract abrogates rotenone-induced dopamine depletion and motor deficits by its anti-oxidative and anti-inflammatory properties in Parkinsonic mice. **Nutritional Neuroscience**, v. 21, n. 9, p.657-666, 2017.
- GOMES, E. M. C.; PENA, R. C. M. Isolamento, caracterização morfológica e avaliação do crescimento micelial e esporulação em diferentes meios de cultura de cepas do fungo *Quambalaria* sp. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 4, p. 59-63, 2016.
- GOOGLE MAPS, 2019. *Rio Branco, AC. Coordenadas 10°04'S e 67°37'O*. Disponível em: <<https://www.google.com/maps>>. Acesso em: 17 agosto 2019.
- GOOGLE MAPS, 2019. *Rio Branco, AC. Coordenadas 9°57'8"S - 67°52'25"W*. Disponível em: <<https://www.google.com/maps>>. Acesso em: 17 agosto 2019.
- GRIMM, K. A. et al. (Ed.). **Veterinary anesthesia and analgesia: the fifth edition of lumb and jones**. John Wiley & Sons, 2015. 1072 p.
- GUGLIOTTA, A. M.; CAPELARI, M. **Taxonomia de basidiomicetos. Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**, São Paulo: Instituto de Botânica, 1998. 184 p.
- GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D. H. M. Chlorogenic acid protects oaraoxonase 1 activity in high density lipoprotein from inactivation caused by physiological concentrations of hypochlorite. **Fitoterapia**, v. 80, n. 1, p. 138-142, 2009.
- GUGLIUCCI, A. et al. Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. **Fitoterapia**, v. 80, n. 6, p. 339-344, 2009.
- GUILLAMÓN E., et al. Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 715–723, 2010.
- HASNAT, M. A. et al. Anti-inflammatory activity on mice of extract of *Ganoderma lucidum* grown on rice via modulation of MAPK and NF-κB pathways. **Phytochemistry**, v. 114, n. 1, p. 125-136, 2015.
- HIBBETT D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n. 5, p.509-47, 2007.
- HINZ, B.; BRUNE, K. Cyclooxygenase-2—10 years later. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 300, n. 2, p. 367-375, 2002.
- HOSOBUCHI, Y.; ADAMS, J.E.; RUTKIN, B. Chronic thalamic stimulation for the control of facial anesthesia dolorosa. **Archives of Neurology**, v. 29, n. 3, p.158-161, 1973.
- HU, Q. et al. Polyphenols-rich extract from *Pleurotus eryngii* with growth inhibitory of HCT116 colon cancer cells and anti-inflammatory function in RAW264.7 cells. **Food & Function**, v. 9, n. 3, p. 1601-1611, 2018.
- HUCHO, T.; LEVINE, J. D. Signaling pathways in sensitization: Toward a nociceptor cell biology. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 365-376, 2007.
- HUFFMAN, D. M. et al. **Mushrooms and other Fungi of the Midcontinental United States**. Iowa City: University of Iowa Press, 2008. 384 p.

- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n. 1, p. 103-114, 1987.
- IBGE, 2019. *BASE cartográfica vetorial contínua do Brasil ao milionésimo – BCIM*. Disponível em: <<https://mapas.ibge.gov.br/escolares/ensino-medio/mapas-estaduais>>. Acesso em: 13 de agosto de 2019.
- JOSE, N. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor activities of culinary-medicinal mushroom *Pleurotus pufmonanus* (Fr.) Quel. (Agaricomycetidae). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 4, n.4, p. 1-7, 2002
- JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203-210, 2001.
- KASH, S.F. et al. Increased anxiety and altered responses to anxiolytics in mice deficient in the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 4, p.: 1698–1703, 1999.
- KENNE, E.; RENNE, T. Factor XII: a drug target for safe interference with thrombosis and inflammation. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 1, p.1459-1464, 2014.
- KIRK, P. M. et al. **Ainsworth & bisby's dictionary of the fungi**. Wallingford: CAB International, 2008. 771 p.
- KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 1-12, 2008.
- KOBAYASHI, M. et al. Identification of the interactive interface and phylogenic conservation of the Nrf2-Keap1 system. **Genes to Cells**, v. 7, n. 8, p. 807-820, 2002.
- KOMURA, D. L. et al. Structure of *Agaricus spp.* fucogalactans and their anti-inflammatory and antinociceptive properties. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 6192-6199, 2010.
- KORNERUP, A.; WANSCHER, J. H. **Methuen handbook of colour**. London: Methuen and Co; 1967. 62 p.
- KRAYCHETE, D. C. et al. Recomendações para uso de opioides no Brasil: Parte IV. Efeitos adversos de opioides. **Revista Dor**, v. 15, n. 3, p. 215 – 223, 2014.
- KREMER, J. M.  $\omega$ -3 fatty acid supplements in rheumatoid arthritis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 349S-51S, 2007.
- KUDAHEWA, D. D. et al. Antinociceptive activity of *Pleurotus cystidiosus*, an edible mushroom in rats. **Pharmacognosy Magazine**, v. 4, n. 13, p. 37, 2008.
- KUMAR, R. et al. The dynamics of acute inflammation. **Journal of theoretical biology**, v. 230, n. 2, p. 145-155, 2004.
- LARGENT, D. et al. **How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features**. Eureka, CA: Mad River Press Inc., 1977. 148 p.
- LEE, S. et al. Antigastritis effects of *Armillariella tabescens* (Scop.) Sing. and the identification of its anti-inflammatory metabolites. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 3, p. 404-412, 2018.

- LIMA, Y. M. M. et al. Diversidade de agaricales (agaricomycetes) no Brasil: uma revisão sistemática. In: CARVALHO, C. M. et al. **Ciência, Inovação e Tecnologia na Amazônia 2**. Rio Branco: Stricto Sensu, 2019. 405 p.
- LIU, M. et al. Characterization, antioxidant and antiinflammation of mycelia selenium polysaccharides from *Hypsizygus marmoreus* SK-03. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, n. 1, p.566–574, 2018.
- LOESER, J. D.; MELZACK, R. Pain: an overview. **The lancet**, v. 353, n. 9164, p. 1607-1609, 1999.
- LUENGO, M.L. Uma revisão histórica dos principais acontecimentos da imunologia e da farmacologia na busca do entendimento e tratamento das doenças inflamatórias. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p.64-72, 2005.
- MARCHAND, S. The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. **Rheumatic disease clinics of North America**, v. 34, n. 2, p. 285-309, 2008.
- MAYER, D.J. et al. Analgesia from electric stimulation in the brain stem of the rat. **Science**, v. 174, n.1, p.1351-1354, 1971.
- McGETTIGAN, P; HENRY, D. Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs That Elevate Cardiovascular Risk: An Examination of Sales and Essential Medicines Lists in Low-, Middle-, and High- Income Countries. **PLOS Medicine**, v.10, n. 2, p.1-7, 2013.
- MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.
- MEDZHITOV, R.; Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428-435, 2008.
- MESQUITA, T. R. et al. Efeito anti-inflamatório da suplementação dietética com ácidos graxos ômega-3, em ratos. **Revista dor**, v. 12, n. 4, p. 337-341, 2011.
- MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**, v. 57, n. 1, p. 1-164, 1999.
- MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress Neurobiology**, v. 66, n. 1, p. 355–474, 2002.
- MINATO, K. et al. *Pleurotus citrinopileatus* polysaccharide stimulates anti-inflammatory properties during monocyte-to-macrophage differentiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, n. 1, p.705-712, 2019.
- MIRANDA, C. C. V. et al. New physiological classification of pains: current concept of neuropathic pain. **Revista Dor**, v. 17, n. 1 p. 2-4, 2016.
- MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. **Inflammation protocols**. Humana Press, 2003. 121 p.
- MORRIS, H. J., et al. The Use of Mushrooms in the Development of Functional Foods, Drugs, and Nutraceuticals. In: MORALES, P. et al. **Wild Plants, Mushrooms and Nuts**, Functional food properties and applications, 2017. 157 p.

- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- MURAKAMI, M.; HIRANO, T. The molecular mechanisms of chronic inflammation development. **Frontiers in immunology**, v. 3, n. 1, p. 323-324, 2012.
- MURIEL, P. NF-KB in liver diseases: a target for drug therapy. **Journal of Applied Toxicology**, v. 29, n. 2, p. 91-100, 2009.
- MYCOBANK DATABASE. Disponível em: < <http://www.mycobank.org/>>. Acesso em: 24 de Setembro de 2019.
- NAIDU, R. K.; PHAM, T. M. Pain management. In: SIKKA, P. K. et al. **Basic Clinical Anesthesia**. New York: Springer, 2015. 296 p.
- NETO, J. T. V. **Diversidade e seleção de fungos basidiomicetos afiloforóides para a produção de enzimas lignocelulolíticas em áreas de Mata Atlântica do sul da Bahia**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2010.
- NEUGEBAUER, V. et al. Forebrain pain mechanisms. **Brain Research**, v. 60, n. 1, p. 226-242, 2009.
- NOGUCHI, K.; OKUBO, M. Leukotrienes in Nociceptive Pathway and Neuropathic/Inflammatory Pain. **Biological e Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n.8, p.1163-1169, 2011.
- NOURSHARGH, S.; HORDIJK, P. L.; SIXT, M. Breaching multiple barriers: leukocyte motility through venular walls and the interstitium. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 11, n. 5, p. 366-378, 2010.
- NOVAES, M. R. C. G.; NOVAES, L. C. G. Fármaco-nutrientes em cogumelos comestíveis Agaricales e outros basidiomicetos. **Revista brasileira de nutrição clínica**, v. 20, n. 3, p. 181-7, 2005.
- NOZAKI, M. de H. et al. Caracterização de Diaporthe citri em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p. 429-432, 2004.
- OKE, S.L; TRACEY, K.J. The Inflammatory Reflex and the Role of Complementary and Alternative Medical Therapies. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 1172, n. 1, p.172–180, 2009.
- OLIVEIRA, K. K. C. **Atividade antimicrobiana de basidiomicetos ocorrentes na Amazônia**. 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus – Amazonas, 2014
- ONO, S. et al. Local inflammation exacerbates cutaneous manifestations in a murine autoimmune pemphigus model. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, n. 6, p. 2026-2028, 2017.
- OSONO, T.; TO-ANUN, C.; HAGIWARA, Y.; HIROSE, D. Decomposition of wood, petiole and leaf litter by *Xylaria* species from northern Thailand. **Fungal Ecology**, v. 4, n. 1, p.210-218, 2011.

- PATEL, P. D. et al. Evaluation of anti-nociceptive activity of *Pleurotus sajorcaju* mycelium by experimental animal models. **International Journal**, v. 2, n. 2, p. 74 – 77, 2011.
- PEGLER, D. N. **Agaric flora of the Lesser Antilles**. London: Kew Bulletin, 1983. 668 p.
- PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy reviews**, v. 6, n. 11, p. 1-5, 2012.
- PROUDFIT, H.K.; ANDERSON, E.G. Morphine analgesia: blockade by raphe magnus lesions. **Brain Research**, v. 98, n. 3, p. 612-18, 1975.
- PUTZKE, J. Lista dos fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil. **Caderno de Pesquisa Série Botânica**, v. 6, n. 1, p. 1-189, 1994.
- PUTZKE, J; PUTZKE, M.T.L. **Os Reinos dos Fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2004. 606 p.
- QUEIRÓZ, D. T. et al. Dor-5º sinal vital: conhecimento de enfermeiros. **Revista de Enfermagem UFPE**, v. 9, n. 4, p. 7186-7192, 2015.
- RAFFA, R. B. et al. Discovery of 'self-synergistic' spinal/ supraspinal antinociception produced by acetaminophen (Paracetamol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 295, n. 1, p. 291–4, 2000.
- RAJA, S. N. The global burden of neuropathic pain: IASP's educational and advocacy efforts to enhance the management of neuropathic pain sufferers. **Pain management**, v. 5, n. 2, p. 69-73, 2015.
- RAJESH, A et al. A brief cause of acute inflammation: an overview. **Journal of Drug Discovery and Therapeutics**, v. 2, n. 1, p.31-35, 2014.
- RAZIQ, N. et al. Pharmacological basis for the use of *Hypericum oblong folium* as a medicinal plant in the management of pain, inflammation and pyrexia. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 16-41, 2016.
- REN, G.; ZHAO, Y-P.; YANG, L.; FU, C-X. Anti-proliferative effect of clitocine from the mushroom *Leucopaxillus giganteus* on human cervical cancer HeLa cells by inducing apoptosis. **Cancer Letters**, v. 262, n. 2, p.190-200, 2008.
- REN, Zhenzhen et al. The regulation of inflammation and oxidative status against lung injury of residue polysaccharides by *Lentinula edodes*. **International journal of biological macromolecules**, v. 106, n. 2, p. 185-192, 2018.
- REVOLLO, J. R.; CIDLOWSKI, J. A. Mechanisms generating diversity in glucocorticoid receptor signaling. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1179, n. 1, p. 167–78, 2009.
- ROBERTS, M.H.T.; REES, H. The antinociceptive effects of stimulating the pretectal nucleus of the rat. **Pain**, v. 25, n. 1, p. 83-93, 1986.
- ROBBINS, S. L. et al. **Robbins and Cotran pathologic basis of disease**. Philadelphia, PA; Saunders/Elsevier, 2010. 1450 p.

- ROCHA, A.P.C, KRAYCHETE, D.C, LEMONICA, L et al, Dor: Aspectos atuais de sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.571, n. 1, p. 94-105, 2007.
- RODGERS, R. J.; DALVI, A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.
- RODGERS, R. J.; JOHNSON, N. J. T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacology biochemistry and behavior**, v. 52, n. 2, p. 297-303, 1995.
- ROHR, M. et al. Anti-inflammatory Tetraquinane Diterpenoids from *Crinipellis* species. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 1-23, 2016.
- ROMANELLI, R. J. et al. Opioid prescribing for chronic pain in a community-based healthcare system. **The American journal of managed care**, v. 23, n. 5, p. e138-e145, 2017.
- ROSSATO, L. G. **Avaliação quimiotaxonômica de cogumelos da espécie *Psilocybe wrightii***. 2008. 42 f. Dissertação (Trabalho de conclusão em Farmácia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2008.
- RUTHES A. C., et al. Fucomannogalactan and glucan from mushroom *Amanita muscaria*: structure and inflammatory inhibition. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 761 - 769, 2013.
- RUTHES, A. C. et al. *Lactarius rufus* (1→3), (1→6)-β-D-glucans: Structure, antinociceptive and anti-inflammatory effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n.1, p. 129-136, 2013.
- RUTHES, A. C. et al. Structural characterization and protective effect against murine sepsis of fucogalactans from *Agaricus bisporus* and *Lactarius rufus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1620–1627, 2012.
- RYVARDEN L, JOHANSEN I. **A preliminary polypore flora of East Africa**. Oslo: Fungiflora, 1980. 636 p.
- RYVARDEN L. **Genera of Polypores**. Oslo: Fungiflora, 1991. 173 p.
- RYVARDEN L. **Neotropical polypores part 1**. Oslo: Fungiflora, 2004. 227 p.
- RYVARDEN L. **Neotropical polypores part 2**. Oslo: Fungiflora, 2015. 443 p.
- RYVARDEN L. **Stereoid of America**. Oslo: Fungiflora, 2010. 206 p.
- SAIKI, P. et al. The anti-inflammatory effect of *Agaricus brasiliensis* is partly due to its linoleic acid content. **Food & Function**, v. 8, n. 11, p. 4150-4158, 2017.
- SALTER, M. W. Cellular signalling pathways of spinal pain neuroplasticity as targets for analgesic development. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 5, n. 6, p. 557-567, 2005.
- SANTOS, E. R. D. dos. **Fungos**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2015. 210 p.

- SANTOS, G. S. **Diversidade e atividade antibacteriana de Basidiomicetos amazônicos** 2017. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, 2017.
- SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R.; OLIVEIRA, C. L. L. G. Medicinal plants used in Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 31, p. 707-720, 2014.
- SCHACKE, H. et al. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 96, n. 1, p. 23-43, 2002.
- SCHAEFER, C. et al. Pain severity and the economic burden of neuropathic pain in the United States: BEAT Neuropathic Pain Observational Study. **Clinic Economics and outcomes research: CEOR**, v. 6, n. 1, p. 483-496, 2014.
- SCHAIBLE, H. G; RICHTER, F. Pathophysiology of pain. Langenbecks. **Archives of Surgery**, v. 389, n. 4, p. 237-243, 2004.
- SERHAN, C. N. A search for endogenous mechanisms of anti-inflammation uncovers novel chemical mediators: missing links to resolution. **Histochemistry and cell biology**, v. 122, n. 4, p. 305-321, 2004.
- SHERWOOD, E.R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research: Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004.
- SHIMADA, T. et al. The modified light/dark transition test in mice: evaluation of classic and putative anxiolytic and anxiogenic drugs. **General Pharmacology**, v. 26, n. 1, p.:205-210, 1995.
- SIEGEL, P.; WEPSIC, J.G. Alteration of nociception by stimulation of cerebellar structures in the monkey. **Physiology & Behavior**, v. 13, n. 2, p. 189-194, 1974.
- SIKKA, Paul K.; BEAMAN, Shawn T.; STREET, James A. (Ed.). **Basic clinical anesthesia**. Springer, 2015. 711 p.
- SILVA J. M. et al. Anti-inflamatórios não-esteróides e suas propriedades gerais. **Revista Científica do ITPAC**, v.7, n. 4, p. 1-15, 2014.
- SILVA, M. M. et al. O uso crônico de anti-inflamatórios não-esteroidais e seus efeitos adversos. **Cadernos da Medicina-UNIFESO**, v. 2, n. 2, p. 90-100, 2019.
- SILVA, N. M. **Avaliação do potencial antimicrobiano, enzimático e crescimento de um isolado amazônico do fungo *Pycnoporus sanguineus***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Regionais) - Universidade do Estado do Amazona, Manaus, 2010.
- SILVEIRA, M. L. L. et al. Exopolysaccharide produced by *Pleurotus sajor-caju*: Its chemical structure and anti-inflammatory activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, n. 1, p. 90-96, 2015.
- SILVESTRE, L. N. S. et al. Atividades biológicas de agaricales (agaricomycetes): uma revisão sistemática In: CARVALHO, C. M. et al. **Ciência, Inovação e Tecnologia na Amazônia 2**. Rio Branco: Stricto Sensu, 2019. 405 p.



- SMIDERLE, F. R. et al. Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1→3),(1→6)-linked β-glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*. **European journal of pharmacology**, v. 597, n. 3, p. 86-91, 2008.
- SMIDERLE, F. R. et al. **Polissacarídeos produzidos por basidiomicetos e ascomiceto: caracterização estrutural e atividade imunomoduladora**. 2012. 159 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2012.
- SOARES, A. M. S. et al. Riqueza de fungos poliporoides (Agaricomycetes, Basidiomycota) em uma floresta ombrófila densa no Amapá, Amazônia brasileira. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 35, n.1, p.5-18, 2014.
- SOCCOL, C. R. et al. **Mushrooms: a promising source to produce nutraceutical and pharmaceutical bioproducts**. New Delhi: Asitech Publishers, 2007. 435 p.
- SOUSA, I. J. O. et al. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. **Revista uningá review**, v. 31, n. 1, p. 35-39, 2018.
- SREEKEESON, D. P.; MAHOMOODALLY, M. F. Ethnopharmacological analysis of medicinal plants and animals used in the treatment and management of pain in Mauritius. **Journal of ethnopharmacology**, v. 157, n. 1, p. 181-200, 2014.
- STOJKOVIC, D., et al. An insight into antidiabetic properties of six medicinal and edible mushrooms: Inhibition of α-amylase and α-glucosidase linked to type-2 diabetes. **South African journal of botany**, v. 120, n. 1, p. 100-103, 2019.
- SUŁKOWSKA-ZIAJA, K. et al. Wood decay mushrooms of the genus *Ganoderma* as a source of biologically active triterpenes. **Medicina Internacia Revuo-International Medicine Review**, v. 27, n. 109, p. 237-245, 2017.
- SYKES, L. et al. Anti-inflammatory prostaglandins for the prevention of preterm labour. **Reproduction**, v. 148, n. 2, p. R29-R40, 2014.
- SZADE, A. et al. Cellular and molecular mechanisms of inflammation-induced angiogenesis. **IUBMB life**, v. 67, n. 3, p. 145-159, 2015.
- TAOFIQ, O. et al. Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. **Trends in Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 193–210, 2016.
- TEIXEIRA, M. J. Fisiopatologia da nocicepção e da supressão da dor. **JBA**, v. 1, n. 4, p. 329-334, 2001.
- TEIXEIRA, M. J.; ALMEIDA, D. B.; YENG, L. T. Concept of acute neuropathic pain. The role of nervi nervorum in the distinction between acute nociceptive and neuropathic pain. **Revista Dor**, v. 17, n. 1, p. 5-10, 2016.
- TJOLSEN, A. et al. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, n. 1, p. 5-17, 1992.
- TURNER, M. D. et al. Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signaling and inflammatory diseases. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1843, n. 11, p. 2563-2582, 2014.
- UM H., et al. Antioxidative properties of crude polysaccharides from *Inonotus obliquus*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 9194–9206, 2012.

- VALASQUES G. L. et al. Extraction optimization and antinociceptive activity of (1→3)-β-d-glucan from *Rhodotorula mucilaginosa*. **Carbohydrate polymers**, v. 105, n. 1, p. 293-299, 2014.
- VARGAS-ISLA, R. et al. **Instruções de coleta de macrofungos agaricales e gasteroides**. Manaus: Editora INPA, 2014. 30 p.
- VASCONCELOS, F. H.; ARAUJO, G. C. de. Prevalência de dor crônica no Brasil: estudo descritivo. **BrJP**, v. 1, n. 2, p. 176-179, 2018.
- VASUDEWA, N. S. et al. Antinociceptive Activity of *Pleurotus ostreatus*., an Edible Mushroom, in Rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, n. 7, p. 533–540, 2007.
- WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest it self?. **Physiological reviews**, v. 88, n. 4, p. 1547-1565, 2008.
- WASSER, S. P. Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 12, n. 1, p. 1–16, 2010.
- WEBSTER, J.; WEBER, R. W. S. **Introduction to Fungi**. New York: Cambridge University Press, 2007. 509 p.
- WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenan-induced edema in hind paw of rat as an assay for anti-inflammatory drugs. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 111, n. 1, p. 544-547, 1962.
- WU, D. et al. Anti-inflammatory effect of the polysaccharides of golden needle mushroom in burned rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 1, p. 100–103, 2010.
- YAKSH, T.L.; HAMMOND, D.L. Peripheral and central substrates involved in the rostral transmission of nociceptive transmission. **Pain**, v.13, n.1, p.1-85, 1982.
- YAN, J. et al. Analyses of active antioxidant polysaccharides from four edible mushrooms. **International journal of biological macromolecules**, v. 123, n. 1, p. 945-956, 2019.
- YASIN, H. et al. Ethnopharmacological exploration of medicinal mushroom from Pakistan. **Phytomedicine**, v. 54, n. 1, p. 43-55, 2019.
- YAWANAWÁ, E. L. A. et al. Ocorrência de três espécies de palmeiras oleíferas na Terra Indígena Yawanawá, Acre, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 9, n. 1, p. 22-25, 2019.
- YOKOMIZO, T. Leukotriene B4 receptors: Novel roles in immunological regulations. **Advances in Enzyme Regulation**, v. 51, n. 1, p.59-64, 2011.
- YOKOMIZO, T. Recent progress in lipid mediators two distinct leukotriene B4 receptors, BLT1 and BLT2. **The Journal of Biochemistry**, v. 57, n. 2, p.65-71, 2014.
- ZHANG, Mei et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 1, p. 4-19, 2007.

## ANEXOS

### ANEXO A - APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



#### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ RONDÔNIA CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo, ansiolítico, antidepressivo e anticonvulsivante do extrato bruto de basidiomicetos em camundongos swiss**", registrada com o Protocolo nº **2018/11**, sob a responsabilidade de **Dr. Quintino Moura Dias Júnior**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi **APROVADO** pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da FIOCRUZ RONDÔNIA**, no dia **25/01/2019**.

Finalidade	( ) Ensino (x) Pesquisa
Vigência da autorização	01/02/2019 até 31/07/2020.
Espécie/linhagem/raça	Camundongo Heterogênico Swiss
Nº de animais	175 (Cento e Setenta e Cinco)
Peso/Idade	30-35g / 5-6 semanas
Sexo	Macho
Origem	Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB/Fiocruz).
Colaboradores:	- Laura Nadyne da Silva Silvestre - Yara de Moura Magalhães Lima - Meiriane Mendes Guterres - André de Abreu Rangel Aguirre
( ) Animais de Vida Livre (Silvestres)	
Nº da Solicitação ou Autorização SISBIO	
Atividade (s)	( ) Captura ( ) Coleta de espécimes ( ) Marcação ( ) Outras:
Espécies/Grupos Taxonômicos	
Local (is) de realização das atividades	

\_\_\_\_\_  
Coordenador(a) da CEUA-Fiocruz Rondônia

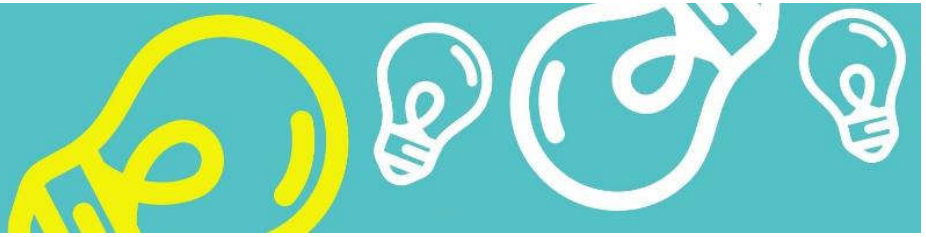
\_\_\_\_\_  
Vice- Coordenador(a) da CEUA-Fiocruz Rondônia  
Porto Velho, 25 de janeiro de 2019.

  
Carolina Bioni Garcia Teles  
Chefe da Plataforma de Biotecnologia  
Malária e Leishmanioses  
SIAPE 1991652 FIOCRUZ

Rua da Beira, 7671, BR-364 Km 3,5, CEP 76.812-245, Porto Velho, RO, Brasil.  
Telefone: +55 (69) 3219-6010 – Fax: +55 (69) 3219-6000

**ANEXO B - DIVERSIDADE DE AGARICALES (AGARICOMYCETES) NO BRASIL:  
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Publicado no Livro Ciência, Inovação e Tecnologia na Amazônia 2



## DIVERSIDADE DE AGARICALES (AGARICOMYCETES) NO BRASIL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Yara de Moura Magalhães Lima<sup>1</sup>, Laura Nadyne da Silva Silvestre<sup>1</sup>,  
Geyse Souza Santos<sup>2</sup>, Clarice Maia Carvalho<sup>1</sup>

1. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Ciência Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Rio Branco, Acre, Brasil;

2. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte, Rio Branco, Acre, Brasil;

### RESUMO

Os fungos comumente conhecidos como cogumelos, estão inclusos na ordem Agaricales e pertencem à classe Agaricomycetes, com grande valor ecológico e econômico para o planeta, visto que possuem representantes comestíveis, medicinais, alucinógenos, micorrízicos, saprófitas, parasitas, entre outros. No Brasil, país composto por vários biomas, os dados taxonômicos descritos de Agaricales ainda são escassos. Assim, o objetivo desta revisão sistemática foi analisar a diversidade e distribuição de fungos Agaricales no Brasil. Foram utilizadas as bases de dados Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Institute of Health (PUBMED), Science Direct e Google Acadêmico, utilizando os descritores: Agaricales Brazil, Agaricales; Brazil e Agaricales in Brazilian biomes. Os critérios para exclusão foram artigos duplicados, fora do objetivo da pesquisa e estudos realizados fora do Brasil. Foram selecionados 45 trabalhos, sendo descritos 284 fungos pertencentes à ordem Agaricales, distribuídos em 84 gêneros e 26 famílias. Destes, 46,6% são referentes ao bioma Mata Atlântica, 22,2% Caatinga, 13,3% Amazônia, 13,3% Pampa, 4,5% Cerrado e nenhum encontrado para Pantanal. Dentre os gêneros relatados nos biomas brasileiros, foi observado uma maior frequência dos gêneros *Agaricus*, *Stropharia*, *Amanita*, *Entoloma*, *Hypholoma*, *Psilocybe*, *Crinipellis*, *Deconica*, *Pholiota*, *Leratiomyces*, sendo estes relatados pelo menos em dois biomas distintos. O bioma Mata Atlântica apresentou maior diversidade de fungos Agaricales, sendo gênero mais descrito *Agaricus*.  
**Palavras-chave:** cogumelos, Mata Atlântica e *Agaricus*.

### ABSTRACT

The fungi commonly known as mushrooms, are included in the order Agaricales and belong to the class Agaricomycetes, with great ecological and economic value for the planet, since they have edible, medicinal, hallucinogenic, mycorrhizal, saprophytic and parasitic representatives, among others. In Brazil, a country composed of several biomes, the taxonomic data described by Agaricales are still scarce. Thus, the objective of this systematic review was to analyze the diversity and distribution of Agaricales fungi in Brazil. We used the databases Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Institute of

Health (PUBMED), Science Direct and Google academic, using the descriptors: Agaricales Brazil, Agaricales; Brazil and Agaricales in Brazilian biomes. The criteria for exclusion were duplicate articles, outside the scope of the research and studies conducted outside Brazil. A total of 45 works were selected, and 284 fungi belonging to the Agaricales order were described, distributed in 84 genera and 26 families. Of these, 46.6% are related to the Atlantic Forest biome, 22.2% Caatinga, 13.3% Amazon, 13.3% Pampa, 4.5% Cerrado and none found for Pantanal. Among the genera reported in Brazilian biomes, a higher frequency of *Agaricus*, *Stropharia*, *Amanita*, *Entoloma*, *Hypholoma*, *Psilocybe*, *Crinipellis*, *Deconica*, *Pholiota* and *Leratiomyces* genera was observed, being these reports reported in at least two different biomes. The Atlantic Forest biome showed a greater diversity of Agaricales fungi. The most commonly described genus was *Agaricus*.

**Keywords:** mushrooms, Atlantic Forest and *Agaricus*.

## 1. INTRODUÇÃO

Os fungos formam um dos principais grupos de organismos para os ecossistemas, compreendendo um componente funcional importante para a aquisição e ciclagem de nutrientes (KRASHEVSKA et al., 2015). Embora, muitos fungos sejam restritos a certos ambientes, alguns deles crescem em quase todos os *habitats* da Terra, sendo considerados organismos cosmopolitas, e apresentam grande versatilidade adaptativa (FURTADO, 2012). São capazes de habitar diversos substratos, todavia, o de maior predominância, são solos de composições variadas, normalmente com matéria orgânica em decomposição, ou madeiras e serragens (WARTCHOW, 2018).

O reino Fungi compreende organismos eucariontes, heterotróficos, unicelulares ou multicelulares, conforme sua morfologia, que fazem parte de diferentes filos. Os macrofungos pertencem a dois filos: Ascomycota e o Basidiomycota, sendo este um dos maiores do reino Fungi (STAJICH et al., 2009; PEI et al., 2019). Dentre as ordens do filo Basidiomycota, a ordem Agaricales apresenta em seu ciclo de vida uma fase sexual com produção de uma estrutura reprodutiva, o basidioma, popularmente conhecido como “cogumelo” (WARTCHOW, 2018). Os basidiomas podem apresentar diversos formatos, como dimensão, tonalidade, presença de véu ou volva (HIBBETT et al., 2014).

Fungos pertencentes à ordem Agaricales podem ser saprófitos, parasitas, patogênicos ou comestíveis (SCHMIDT-DANNERT, 2016). Estes são componentes essenciais da degradação de matérias orgânicas, fornecendo habitat e alimento para muitos organismos, desempenhando um papel crítico na função dos ecossistemas florestais (SPITELLER, 2015; SCHMIDT-DANNERT, 2016). Além disso, este grupo vem

recebendo atenção especial de pesquisadores nos últimos anos devido ao seu uso potencial biotecnológico (YASIN et al., 2019).

No Brasil, país composto por vários biomas, os estudos realizados nessa área ainda são insuficientes. Este fato decorre, principalmente, pelo baixo investimento no campo da micologia, e, também, pela escassez de especialistas nesta área (DA SILVA et al., 2019). Atualmente, estão registradas 924 espécies de Agaricales no Brasil distribuídas em 139 gêneros. Esses valores representam dados depositados em herbários, sendo aceitos pela base de dados da Flora do Brasil 2020, dessa forma, nem todos estes estão publicados em trabalhos científicos (MAIA et al., 2015).

Dada à elevada importância ecológica e econômica dos fungos, e que os dados taxonômicos para Agaricales ainda são escassos, torna-se fundamental o conhecimento das espécies ocorrentes nos biomas brasileiros para o aumento de dados sobre diversidade biológica para o Brasil e para o mundo (OLIVEIRA, 2009; DA SILVA et al., 2019), além de ser fundamental para o estabelecimento de planos de conservação e manejo da biodiversidade (SPITELLER, 2015).

Nesse sentido, o objetivo desta revisão sistemática foi analisar a diversidade e distribuição de fungos Agaricales no Brasil.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo é uma revisão sistemática, baseada em Pereira e Galvão (2014), seguindo os seguintes passos:

- a) Pergunta de pesquisa: Quais são os Agaricales ocorrentes no Brasil?
- b) Busca na literatura nas bases utilizadas: Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Institute of Health (PUBMED), Science Direct, Google Acadêmico. Descritores: Agaricales Brazil e Agaricales in Brazilian biomes.
- c) Foram incluídos no estudo, artigos nas línguas portuguesa e inglesa, publicados até maio de 2019, bem como, artigos que atendessem aos seguintes filtros: texto completo disponível, localização – Brasil. A quantidade de artigos encontrados na busca está apresentado na Tabela 1;
- d) Os critérios para exclusão foram artigos duplicados (encontrados em mais de uma base de busca), não contemplaram o objetivo da pesquisa e estudos realizados fora do Brasil;



- e) Extração dos dados: Foram selecionados 45 trabalhos, sendo vinte e um (21) da Mata Atlântica, dez (10) da Caatinga, seis (6) sobre o bioma Amazônia, seis (6) do Pampa, dois (2) do Cerrado e nenhum encontrado para Pantanal, sendo estes utilizados nos resultados do presente estudo. Além dos artigos selecionados, também foram utilizados outros trabalhos para elaboração da introdução e enriquecimento da discussão deste artigo;
- f) Síntese dos dados: Os dados foram organizados em tabelas e descritos no texto de acordo com o bioma brasileiro de ocorrência;
- g) Redação e discussão dos resultados: A descrição e discussão dos dados estão no tópico “Resultados e Discussão” que vem na sequência.

**Tabela 1.** Publicações sobre Agaricales ocorrentes no Brasil.

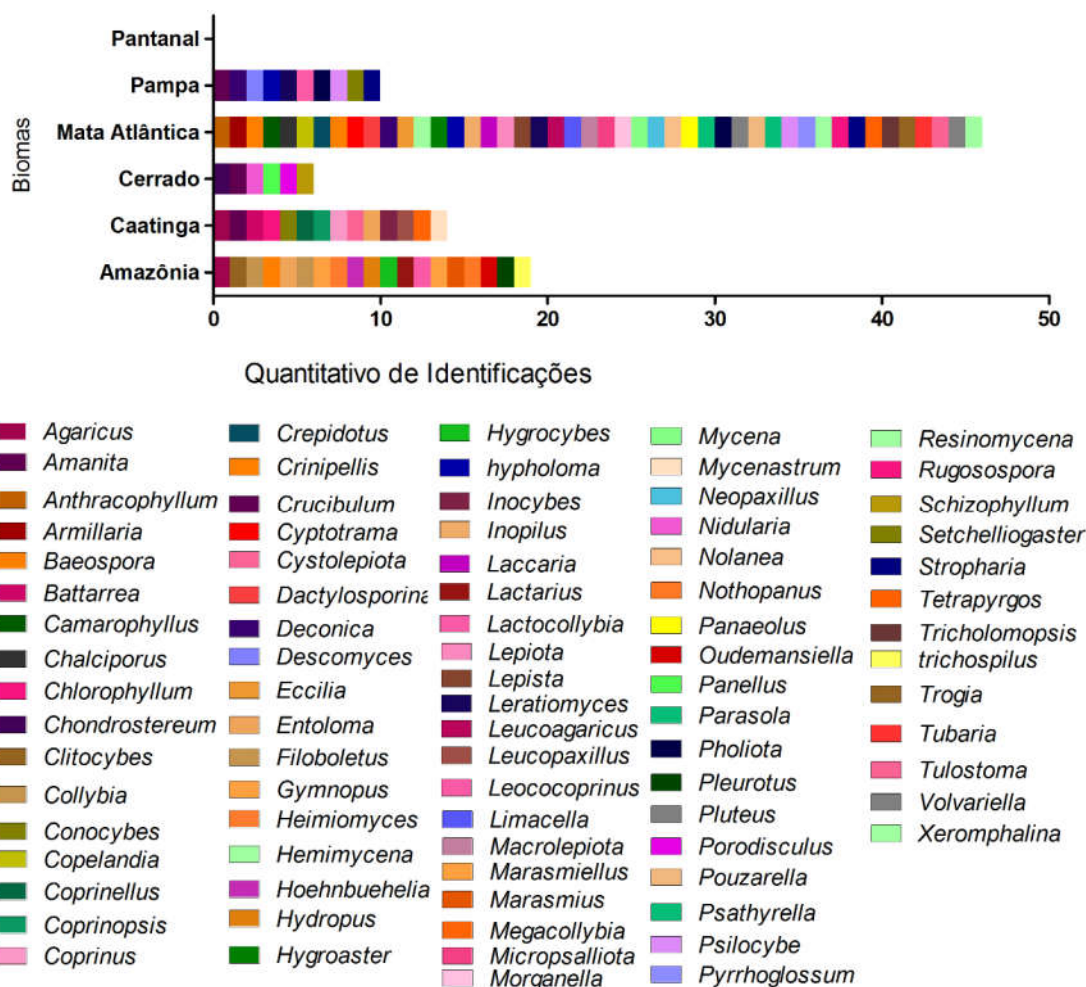
Bases	Total	Selecionados
<b>Google Acadêmico</b>	362	20
<b>Scielo</b>	23	20
<b>Pubmed</b>	38	2
<b>Science Direct</b>	203	3
<b>Total</b>	<b>626</b>	<b>45</b>

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 RESULTADOS

Para o Brasil foram observados 45 trabalhos, sendo descritos 284 fungos pertencentes a ordem Agaricales, distribuídos em 84 gêneros e 26 famílias (Figura 1). O bioma Mata Atlântica apresentou o maior quantitativos de trabalhos sobre Agaricales com 46,6%, seguido do bioma Caatinga com 22,2%, Amazônia e Pampa com 13,3% cada e Cerrado com 4,6% dos trabalhos, e para o bioma Pantanal não foi encontrado nenhum trabalho. Dentre os gêneros relatados nos biomas brasileiros, foi observada uma maior frequência dos gêneros *Agaricus* (8,1%), *Stropharia* (4,6%), *Amanita* (4,2%), *Entoloma* (3,5%), *Hypholoma* (2,8%), *Psilocybe* (2,1%), *Crinipellis* (1,4%), *Deconica* (1,4%), *Pholiota* (1,4%), *Leratiomyces* (0,7%), sendo estes relatados pelo menos em dois biomas distintos.





**Figura 1.** Diversidade de Agaricales descritos nos biomas do Brasil.

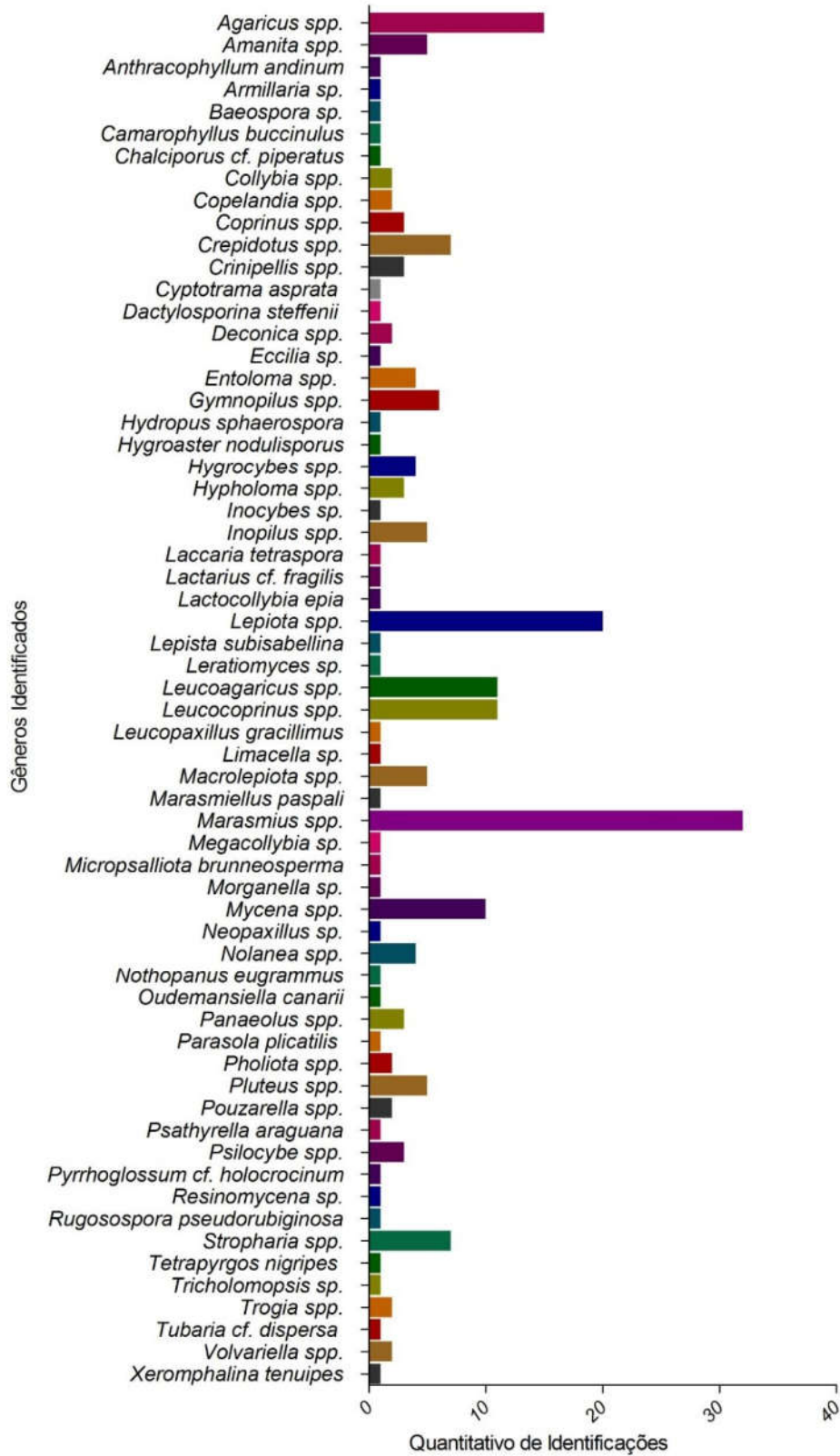
Os gêneros descritos foram apresentados em gradientes de cores específicos para cada família: Agaricaceae gradiente rosa; Amanitaceae azul; Bolbitiaceae verde/amarelo; Boletaceae preto; Cortinariaceae azul claro; Crepidotaceae azul turquesa; Entolomataceae bege; Eulophidae amarelo claro; Hydnangiaceae violeta; Hygrophoraceae verde; Hymenogastraceae roxo claro; Inocybaceae bordô; Marasmiaceae laranja; Meruliaceae roxo; Mycenaceae verde claro; Nidulariaceae lilás; Physalacriaceae vermelho; Pleurotaceae verde escuro; Pluteaceae cinza; Polyporaceae rosa choque; Psathyrellaceae verde turquesa; Russulaceae vermelho escuro; Schizophyllaceae amarelo escuro; Strophariaceae azul marinho; Tricholomataceae marrom; Tubariaceae vermelho claro.

Para o No bioma Mata Atlântica houve 21 trabalhos relatando a diversidade de Agaricales, com identificação de 215 fungos organizados em 62 gêneros, sendo os com maior ocorrência *Marasmius* (9,7%), *Lepiota* (6,5%) e *Agaricus* (4,8%), conforme Figura 2.

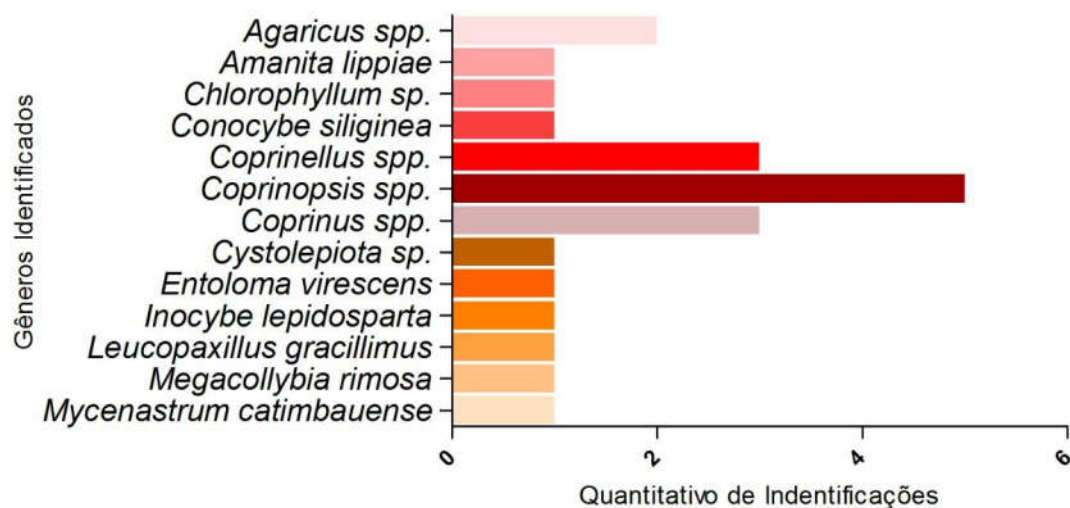
Foram relatados como primeira ocorrência 108 espécies, divididas em 13 famílias: (35%) Agaricaceae: *Agaricus* cf. *brunneostictus*, *A.* cf. *violaceosquamulosus*, *A. junquitensis*, *A. nigrescentulus*, *A. parasilvaticus*, *A. purplellus*, *A. sylvaticus*, *A. singeri*, *A. trinitatensis*; *Coprinus pseudomicaceus*; *Lepiota* cf. *marriagei*, *L.* cf. *murinocapitata*, *L.* cf. *phaeosticta*, *L.* cf. *subflavescens*, *L.* cf. *tepeitensis*, *L. epicharis*, *L. erinana*, *L. parvannulata*, *L. subalba* Kühner, *L. subamanitifformis*, *L. subclypeolaria*, *L. subisabellina*; *Macrolepiota*

*bonaerensis*, *M. cyanolamellata*, *M. mastoidea*, *M. sabulosa*; *Morganella sulcatostoma* sp.; *Rugosopora pseudorubiginosa*; *Leucoagaricus barssii*, *L. cf. cinerascens*, *L. fuliginus*, *L. rubrotinctus*, *L. wychanskyi*; *Leucocoprinus brunnescens*, *L. cf. longistriatus*, *L. sulphurellus*, *L. tenellus*, *L. venezuelanus*; (26%) Marasmiaceae: *Anthracophyllum andinum*; *Crinipellis bisulcata*, *C. cf. septotricha*, *C. eggersii*; *Hydropus sphaerospora*, *H. nodulisporus*, *H. rubroalba*; *Lactocollybia epia*; *Marasmiellus paspali*; *Marasmius aff. pseudoniveus*, *M. allocystis*, *M. bambusiformis*, *M. bellus*, *M. cf. graminum*, *M. congregatus*, *M. dennisii*, *M. ferrugineus*, *M. haematocephalus*, *M. helvolus*, *M. leoninus*, *M. musicola*, *M. niveus*, *M. phaeus*, *M. rhyssophyllus*, *M. floriceps*; *Megacollybia rimosa*; *Nothopanus eugrammus*; *Tetrapyrgos nigripes*; (5,5%) Entolomataceae: *Entoloma aripoanum*; *E. tucuchense*; *Inopilus cystidiophorus*, *I. speciosus*; *Nolanea metalis*, *N. sipariana*; *Pouzarella dysthales* var. *acystidiosa*; (4,5%) Strophariaceae: *Gymnopilus dryophilus*, *G. johnstonii*, *G. neotropicus*, *G. omphalodes*; *Stropharia coelhoi*; (4,5%) Mycenaceae: *Mycena deformis*, *M. globulispora*, *M. holoporphyra*, *M. oculisymphae*; *Resinomyceia petarensis*; (4,5%) Psathyrellaceae: *Panaeolus campanulatus*; *P. cf. fraxinophilus*, *P. pygmaea*; *Parasola plicatilis*; *Psathyrella araguana*; (4,5%) Pluteaceae: *Pluteus cubensis*, *P. harrisii*, *P. haywardii*, *P. umbrinoalbidus*; *Volvariella earlei*; (3,5%) Amanitaceae: *Amanita dulciodora*, *A. muscaria* var. *flavivolvata*, *A. muscaria* var. *muscaria*, *A. viridissima* sp.; (3,5%) Crepidotaceae: *Capelari candidus*, *Capelari* sp.; *Crepidotus apodus*, *C. flavus*; (3,5%) Tricholomataceae: *Collybia bakeri*, *C. coracicolor*; *Leucopaxillus gracillimus*; *Trogia cantharelloide*; (3%) Physalacriaceae: *Cyptotrama asprata*; *Dactylosporina steffenii*; *Oudemansiella canarii*; (1%) Cortinariaceae: *Pyrrhoglossum cf. holocrocinum* (1%) Inocybaceae: *Tubaria cf. dispersa*.

No bioma Caatinga foram relatados dez trabalhos, sendo identificados 27 fungos da ordem Agaricales, distribuídos em 14 gêneros. Os gêneros mais frequentes foram *Coprinopsis* (21,4%), *Coprinellus* (14,3%), *Coprinus* (14,3%), conforme apresentado na Figura 3. Foram relatadas como primeira ocorrência 15 novas espécies: *Agaricus stijvei*, *Amanita lippiae*, *Battarrea stevenii*, *Chlorophyllum hortense*, *Coprinellus phaeoxanthus*, *Coprinus calyptratus*, *Cystolepiota seminuda*, *Entoloma virescens*, *Inocybe lepidosparta*, *Lepiota plumbicolor*, *Leucocoprinus birnbaumii*, *Leucocoprinus fragilissimus*, *Leucopaxillus gracillimus*, *Megacollybia rimosa* e *Mycenastrum catimbauensis*.



**Figura 2.** Diversidade de Agaricales descritos no bioma Mata Atlântica – Brasil.

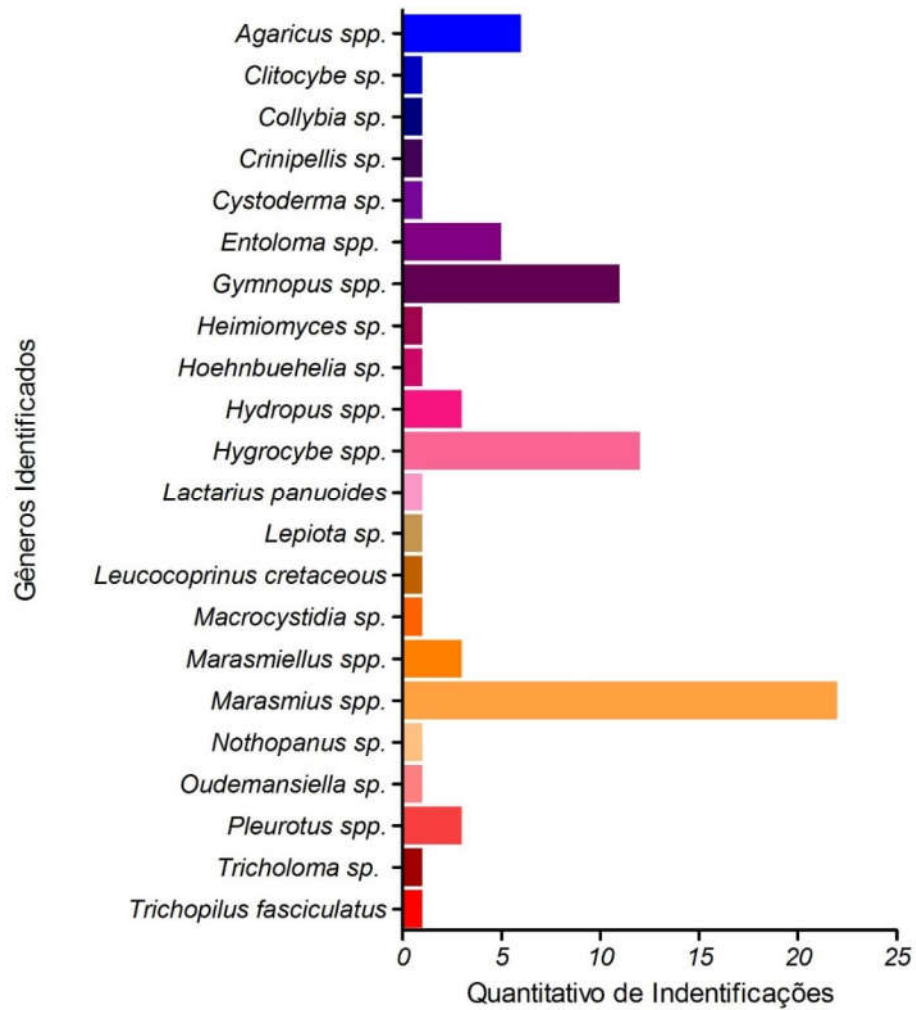


**Figura 3.** Diversidade de Agaricales descritos no bioma Caatinga – Brasil.

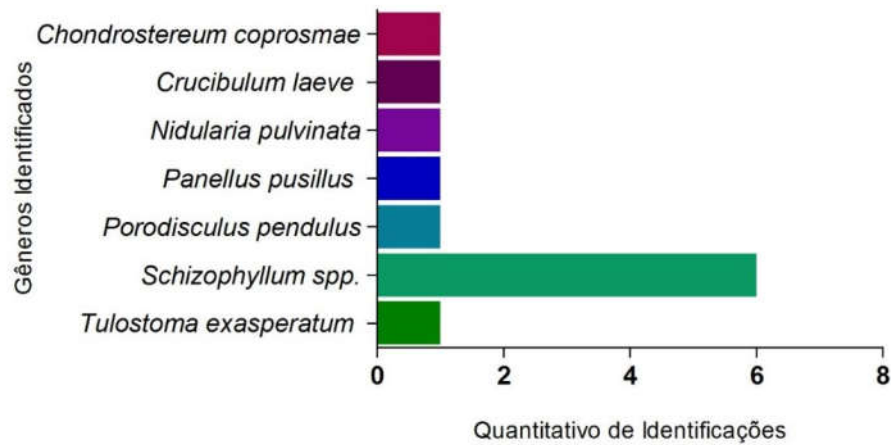
No bioma Amazônia foram relatados seis trabalhos, sendo apresentados 87 fungos, pertencentes a 22 gêneros. Os gêneros mais frequentes foram *Marasmius* (13,6%), *Hygrocybe* (10%), *Gymnopus* (9,1%) e *Agaricus* (9,1%), conforme apresentado na Figura 2. Foram relatadas como primeira ocorrência três novas espécies: *Gymnopus atlanticus*, *G. talisiae* e *Trichopilus fasciculatus*.

Para o bioma Pampa foram descritos seis trabalhos, com identificação de 30 fungos pertencentes à ordem Agaricales, organizados em 10 gêneros, sendo identificados com maior frequência *Amanita*, *Hypholoma*, *Psilocybe* e *Stropharia*, todos com 20%. As espécies descritas pela primeira vez foram: *Amanita aliena* e *Setchelliogaster tenuipes*.

No bioma Cerrado foram relatados dois trabalhos, sendo identificados 12 fungos da ordem Agaricales, distribuídos em sete gêneros. O gênero com maior frequência foi *Schizophyllum* (42,9%) e os outros gêneros tiveram apenas uma ocorrência, conforme a Figura 4.



**Figura 4.** Diversidade de Agaricales descritos no bioma Amazônia.



**Figura 5.** Diversidade de Agaricales descritos no bioma Cerrado – Brasil.



## 3.2 DISCUSSÃO

Os biomas brasileiros abrigam uma porção significativa da biodiversidade mundial, constituindo importantes centros devido aos altos níveis de riqueza de espécies (ALEIXO et al., 2010; DA SILVA et al., 2019). Nesse sentido é observado uma carência de estudos provavelmente relacionada à falta de incentivos e pesquisadores capacitados, possibilitando que tanto a distribuição quanto a riqueza dos fungos Agaricales estejam subamostradas (CARNEIRO et al., 2018). Uma vez que a ampla diversidade e espectro taxonômico exibido pelos Agaricales torna-os especialmente interessante para estudos ecológicos, bem como para biotecnologia (ROSA; CAPELARI, 2009).

Dos 45 trabalhos selecionados 13,3% pertence ao bioma Amazônia, com 87 fungos relatados. Os estudos foram realizados nos estados do Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Tocantins e Maranhão, e nenhum para o estado do Acre. Destacando novamente a importância de pesquisas locais, visto que a diversidade de fungos é extremamente rica e amplamente distribuída entre todos os biomas (SOUZA; AGUIAR, 2004; SANTA-BRÍGIDA et al., 2019). Evidências sugerem que a diversidade de fungos é maior em regiões tropicais do que em regiões temperadas (HAWKSWORTH, 2004; WARTCHOW et al., 2012). Dessa forma, a Amazônia Brasileira tem um papel importante na conservação da diversidade, consistindo na maior extensão de floresta tropical úmida, caracterizada por uma alta riqueza de espécies e altos índices de endemismo (COIMBRA et al., 2015).

No bioma da Caatinga, foram relatados 22,2% dos trabalhos no Brasil, sendo identificados 27 fungos. Os estados em que realizaram os estudos foram Ceará, Minas Gerais e Pernambuco. A Caatinga pertence a um bioma que ocorre exclusivamente na região semi-árida do nordeste brasileiro e apesar de passar por diversos fenômenos que ameaçam a riqueza local, este bioma inclui vários tipos de vegetações e unidades incluindo várias plantas endêmicas (SOUZA; MENEZES; CAMARA ARTIGAS, 2015; FERNADES; QUEIROZ, 2018). A diversidade fúngica em ecossistemas áridos e semiáridos pode ser considerada igual ou superior quando comparada à de ambientes úmidos (CRUZ et al., 2009; BARBOSA et al., 2011).

No bioma do Cerrado, foram relatados apenas 4,4% dos trabalhos realizados no Brasil, com identificação de 12 fungos pertencentes a ordem Agaricales. Os estudos foram realizados nos estados de São Paulo e Mato Grosso. O bioma Cerrado é caracterizado por grande diversidade, além de 638 espécies de fungos macro e microscópicos

(STRASSBURG et al., 2017). Todavia, cerca de 55% da sua área tem sofrido perdas pelo desmatamento, principalmente para fins agrícolas (MAIA et al., 2015).

O bioma que relatou maior diversidade foi a Mata Atlântica, abrangendo 46,7% dos trabalhos revisados, identificando uma rica diversidade de 215 fungos da ordem Agaricales. Os estudos foram realizados nos estados da Bahia, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. Corroborando com os dados levantados pela Flora do Brasil 2020 (2019), até o ano de 2019 foram aceitos 924 espécies para o Brasil, pertencentes a 138 gêneros, ao analisar o quantitativo de espécies por bioma, a Mata Atlântica apresenta uma maior diversidade (56%). Em decorrência da maior quantidade de especialistas para realização de coletas (MAIA et al., 2015).

O bioma da Pampa abrangeu 13,3% dos estudos levantados no Brasil, correspondendo a 30 fungos Agaricales. Os trabalhos foram realizados no Rio Grande do Sul, estado que abrange 63% da área do bioma. Suas diversas classes e propriedades do solo encontradas na região estão intimamente relacionadas com a biodiversidade na região (ROESCH et al., 2009). O bioma do Pantanal não apresentou trabalhos nesta análise, sendo observado que mudanças no solo afetam diretamente a comunidade de fungos (MERCANTE et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2018). Apesar do bioma Pantanal ser conhecido como uma zona úmida e responsável pelo equilíbrio do sistema ecológico de toda a região, estes são considerados como desconhecido (MERCANTE et al., 2011).

Apesar da carência de pesquisas, em algumas regiões, que venham elucidar a importante diversidade de Agaricales (SANTA-BRÍGIDA et al., 2019). Há um agravante presente em todos os biomas brasileiros, com relação as mudanças devido à intensa degradação e destruição pelas atividades antrópicas (TABARELLI et al., 2010). Prejudicando muitas espécies de fungos, importantes para a diversidade do ecossistema, e que muitas vezes não chegaram a ser identificados (OLIVEIRA et al., 2018).

## 4. CONCLUSÃO

O bioma Mata Atlântica apresentou maior diversidade, bem como maior quantidade de novos relatos de fungos Agaricales. Os gêneros que apresentaram maiores frequências de ocorrência no Brasil foram *Agaricus*, *Stropharia* e *Amanita*.

## 5. REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, M. C.; GUGLIOTTA, A. de M.; GOMES, E. *Poliporóides* (Basidiomycota) em fragmentos de mata no perímetro urbano de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 32, n.3, p. 427-440, 2009.

ALBUQUERQUE, M. P. de; PEREIRA, A. B.; CARVALHO JUNIOR, A. A. de. A família Agaricaceae Chevall. em trechos de Mata Atlântica da Reserva Biológica do Tinguá, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brasil: Gêneros *Agaricus*, *Cystolepiota* e *Lepiota*. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 497-509, 2010.

ALEIXO, A. L. P. et al. Mudanças climáticas e a biodiversidade dos biomas brasileiros: passado, presente e futuro. **Natureza e Conservação**, v. 8, n. 2, p. 194-196, 2010.

ALVES, C. R.; CORTEZ, V. G. *Morganella sulcatostoma* sp. nov. (Agaricales, Basidiomycota) from Paraná State, Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 96, n. 3-4, p. 409-417, 2013.

ALVES, M. H.; DO NASCIMENTO, C. C. *Entoloma virescens* (Sacc.) E. Horak ex Courtec., 1986 (Agaricales: Entolomataceae): The first record for the Caatinga biome, Ceará, Brazil. **Check List**, v. 8, n. 3, p. 577-580, 2012.

ARAÚJO, J. P. M.; COIMBRA, V. R. M.; WARTCHOW, F. *Leucopaxillus gracillimus* (Tricholomataceae, Basidiomycota): nuevo registro para el Nordeste de Brasil y notas sobre su distribución geográfica. **Kurtziana**, v. 36, n. 2, p. 05-09, 2011.

BARBOSA, F. R. et al. Conidial fungi from semi-arid Caatinga Biome of Brazil. Rare freshwater hyphomycetes and other new records. **Mycosphere**, v. 2, n. 4, p. 475-485, 2011.

CAPELARI, M. O gênero *Crepidotus* no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil e descrição de duas novas espécies. **Hoehnea**, v. 34, n. 1, p. 75-85, 2007.

CARNEIRO, L. V. et al. **Aspectos morfológicos de espécimes de Amanita Pers. (Amanitaceae, Basidiomycota)**. (Dissertação) Mestrado em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2018.

COIMBRA, V. R. M. et al. Studies on *Gymnopus* sect. *impudicae* (Omphalotaceae, Agaricales) from Northern Brazil: two new species and notes on *G. montagnei*. **Mycological Progress**, v. 14, n. 11, p. 110, 2015.

COIMBRA, V. R. M.; GIBERTONI, T. B.; WARTCHOW, F. *Megacollybia rimosa* (Agaricales), a new species from Brazil. **Mycoscience**, v. 54, n. 3, p. 206-209, 2013.

CORTEZ, V. G. et al. Two sequestrate cortinarioid fungi from Rio Grande do Sul, Brazil. **Hoehnea**, v. 35, n. 4, p. 513-518, 2008.

CORTEZ, V. G.; SILVEIRA, R. M. B. da. Species of *Hypholoma* (Fr.) P. Kumm. (Strophariaceae, Agaricales) in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 609-621, 2007.



CRUZ, A. C. et al. Fungos conidiais na Caatinga: espécies associadas ao folheto. **Acta Botânica Brasílica**, v. 23, n. 1, p. 999-1012, 2009.

DA SILVA, F. A. B. et al. Diversidade de cogumelos comestíveis em área de bioma pampa. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 2, p. 1-6, 2019.

DE SOUZA, H. Q.; AGUIAR, I. de J. A. Ocorrência do gênero *Marasmius* Fr.(Tricholomataceae, Agaricales) na Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 1-10, 2007.

DESJARDIN, D. E.; PERRY, B. A.; STEVANI, C. V. New luminescent mycenoid fungi (Basidiomycota, Agaricales) from São Paulo State, Brazil. **Mycologia**, v. 108, n. 6, p. 1165-1174, 2016.

DOS SANTOS SILVA-FILHO, A. G.; COELHO, G.; CORTEZ, V. G. Further notes on the morphology and distribution of *Neopaxillus echinospermus* (Agaricales, Basidiomycota) in Southern Brazil. **Check List**, v. 12, n. 1, p. 1 - 6, 2016.

DOS SANTOS SILVA-FILHO, A. G.; SEGER, C.; CORTEZ, V. G. The neurotropic genus *Copelandia* (Basidiomycota) in western Paraná State, Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidade**, v. 89, n. 1, p. 15-21, 2018.

FERREIRA, A. J.; WARTCHOW, F.; CORTEZ, V. G. *Limacella ochraceolutea* (Agaricomycetes) in the Atlantic Forest of southern Brazil. **Field Mycology**, v. 14, n. 2, p. 64-67, 2013.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 04/06/2019.

FURTADO, A N M. **Fungos Agaricales (Basidiomycota, Fungi) da mata atlântica metropolitana de João Pessoa, PB**. (Dissertação) Mestrado em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2012.

GIBERTONI, T. B.; DRECHSLER-SANTOS, E. R. Lignocellulolytic Agaricomycetes from the Brazilian Cerrado biome. **Mycotaxon**, v. 111, n. 1, p. 87- 90, 2010.

GOMES, A. R. P.; WARTCHOW, F. Notes on two coprinoid fungi (basidiomycota, agaricales) from the brazilian semiarid region. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 75, n. 3, p. 285-295, 2018.

GURGEL, R. A. F. et al. *Mycenastrum catimbauense* (Agaricales, Basidiomycota), a new puffball species from the Brazilian semi-arid region. **Studies in Fungi**, v. 2, n. 1, p. 112-118, 2017.

HAWKSWORTH, D. L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. **Studies in Mycology**, v. 50, n. 1, p. 9–18, 2004.

HIBBETT, D. S. et al. **The Mycota**. 2ª ed. Systematics and Evolution, 2014.

KARSTEDT, F.; CAPELARI, M.; STURMER, S. L. A new combination and new records of *Pouzarella* (Agaricales, Entolomataceae) from Brazil. **Mycotaxon**, v. 102, n. 1, p. 147-154, 2007.

KARSTEDT, F.; STÜRMER, S. L. Agaricales em áreas de Floresta Ombrófila Densa e plantações de Pinus no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 1036-1043, 2008.

KRASHEVSKA, V. et al. Impact of tropical lowland rainforest conversion into rubber and oil palm plantations on soil microbial communities. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, n. 6, p. 697-705, 2015.

MAIA, L. C. et al. Diversity of Brazilian Fungi. **Rodriguésia**, v. 66, n. 1, p. 1033-1045, 2015.

MELO, R. F. R. et al. *Coprophilous Agaricales* (Agaricomycetes, Basidiomycota) from Brazil. **Phytotaxa**, v. 266, n. 1, p. 1-14, 2016.

MERCANTE, M. A. et al. Geomorphology and habitat diversity in the Pantanal. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, p. 233-240, 2011.

NASCIMENTO, C. C. et al. *Amanita dulciodora* (Amanitaceae, Basidiomycota), a striking new species of Amanita section Lepidella from Northeast Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, v. 151, n. 2, p. 262-270, 2018.

NASCIMENTO, C. C.; ALVES, M. H. New records of Agaricaceae (Basidiomycota, Agaricales) from Araripe National Forest, Ceará State, Brazil. **Mycosphere**, v. 5, n. 2, p. 319-332, 2014.

OLIVEIRA, J. J. S. **O Gênero *Marasmius* (Marasmiaceae, Basidiomycota) no Parque Estadual das Dunas do Natal, Natal, RN, Brasil.** (Dissertação) Mestrado em Ciências Biológicas – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

OLIVEIRA, N. et al. Diversidade de Agaricales (Basidiomycota) em áreas de bioma pampa e plantação de *Eucalyptus* sp. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 3, p. 1-5, 2018.

PEI, G. et al. Comparative analysis of protein kinases and associated domains between Ascomycota and Basidiomycota. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, n. 1, p. 96-107, 2019.

PEREIRA, M. G.; GALVÃO, T. F. Extração, avaliação da qualidade e síntese dos dados para revisão sistemática. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 1, p. 577- 78, 2014.

PEREZ, E. F. et al. Taxonomy and phylogeny of *Macrolepiota*: two new species from Brazil. **Mycologia**, v. 110, n. 5, p. 930-940, 2018.

PUCCINELLI, C.; CAPELARI, M. *Marasmius* (Basidiomycota-Marasmiaceae) from Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brazil: section Sicci. **Hoehnea**, v. 36, n. 4, p. 637-655, 2009.

ROESCH, L. F. et al. The Brazilian Pampa: a fragile biome. **Diversity**, v. 1, n. 2, p. 182-198, 2009.

ROSA, L. H.; CAPELARI, M. Agaricales fungi from Atlantic rain forest fragments in Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 4, p. 846-851, 2009.

ROSA, L. H.; CAPELARI, M. Agaricales fungi from Atlantic rain forest fragments in Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 4, p. 846-851, 2009.

ROTHER, M. S.; SILVEIRA, R. M. B da. *Leucocoprinus Pat.*(Agaricaceae, Basidiomycota) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, RS, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 23, n. 3, p. 720-728, 2009.

SANTA-BRÍGIDA, R. et al. *Mycophagous Drosophilidae* (Diptera) guild and their hosts in the Brazilian Amazon. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 59, n. 1, p. 1-10, 2019.

SCHMIDT-DANNERT, C. Biocatalytic portfolio of Basidiomycota. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 31, p. 40-49, 2016.

SEGER, C.; SULZBACHER, M. A.; CORTEZ, V. G. *Stropharia coelhoi* (Basidiomycota): a new species from Brazil. **Darwiniana**, v. 4, n. 1, p. 132-137, 2016.

SILVA, B. D. B.; LEITE, A. G.; BASEIA, I. G. *Battarrea stevenii* (Libosch.) Fr.(Tulostomataceae), um raro fungo xerófilo: primeiro registro para o Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 1, p. 623-625, 2007.

SILVA, P. S. da; CORTEZ, V. G.; SILVEIRA, R. M. B. da. *Synopsis* of the Strophariaceae (Basidiomycota, Agaricales) from Floresta Nacional de São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul State, Brazil. **Hoehnea**, v. 39, n. 3, p. 479-487, 2012.

SOUZA, B I; MENEZES, R; CÂMARA ARTIGAS, R. Efeitos da desertificação na composição de espécies do bioma Caatinga, Paraíba/Brasil. **Investigaciones geográficas**, v. 1, n. 88, p. 45-59, 2015.

SOUZA, H. Q. de; AGUIAR, I. de J. A. Diversity of Agaricales (Basidiomycota) in the Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 43-51, 2004.

SPITELLER, P. Chemical Ecology of Fungi. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 7, p. 971-993, 2015.

STAJICH, J. E. et al. Primer-The Fungi. **Current Biology: CB**, v. 19, n. 18, p. 1-14, 2009.

STRASSBURG, B. B. N. et al. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 4, p. 1-3, 2017.

TABARELLI, M. et al. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: lessons from aging human-modified landscapes. **Biological Conservation**, v. 143, n. 10, p. 2328-2340, 2010.

VIZZINI, A. et al. *Hygrocybe rubroalba* (Hygrophoraceae, Agaricales), a new species of sect. Firmae from Brazil. **Phytotaxa**, v. 226, n. 1, p. 018-026, 2015.

WARTCHOW, F. *Amanita viridissima* (Amanitaceae, Basidiomycota), a striking new species from highlands of the semiarid region of Bahia, Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, v. 149, n. 2, p. 241-248, 2016.

WARTCHOW, F. Breve história da sistemática de Agaricaceae (Fungi) e distribuição no Brasil. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza**, v. 2, n. 2, p. 130-147, 2018.

WARTCHOW, F., et al. New records of Agaricales from Atlantic Forest fragments of Pernambuco, Northeast Brazil. **Mycotaxon**, v. 118, n. 1, p. 137-146, 2012.

WARTCHOW, F.; BRAGA-NETO, R. A second record of *Entoloma azureoviride* (Agaricales, Basidiomycota) from Brazilian Amazon. **Hoehnea**, v. 46, n. 1, p. 1-6, 2019.

WARTCHOW, F.; CORTEZ, V. G. A new species of *Amanita growing* under Eucalyptus is discovered in South Brazil. **Mycosphere**, v. 7, n. 1, p. 262-267, 2016.

WARTCHOW, F.; MAIA, L. C.; CAVALCANTI, M. A. de Q. Taxonomic studies of *Amanita muscaria* (L.) Lam (Amanitaceae, Agaricomycetes) and its infraspecific taxa in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 1, p. 31-39, 2013.

WARTCHOW, F.; PUTZKE, J.; CAVALCANTI, M. A. de Q. Agaricaceae Fr.(Agaricales, Basidiomycota) from areas of Atlantic Forest in Pernambuco, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 287-299, 2008.

WARTCHOW, F.; SÁ, M. C. e A. *Inocybe lepidosparta* (Agaricales: Basidiomycota): a new species from Pernambuco, Brazil. **New Zealand journal of botany**, v. 56, n. 4, p. 438-443, 2018.

WARTCHOW, F.; TULLOSS, R. E.; CAVALCANTI, M. A. Q. *Amanita lippiae*: a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. **Mycologia**, v. 101, n. 6, p. 864-870, 2009.

YASIN, H. et al. Ethnopharmacological exploration of medicinal mushroom from Pakistan. **Phytomedicine**, v. 54, n. 1, p. 43-55, 2019.

**ANEXO C - ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE AGARICALES  
(AGARICOMYCETES): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Publicado no Livro Ciência, Inovação e Tecnologia na Amazônia 2



## ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE AGARICALES (AGARICOMYCETES): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

**Laura Nadyne da Silva Silvestre<sup>1</sup>, Yara de Moura Magalhães Lima<sup>1</sup>, Geysse Souza Santos<sup>2</sup>, Clarice Maia Carvalho<sup>1,2</sup>**

1. Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil;
2. Programa de Pós-Graduação da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal - BIONORTE, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil;

### RESUMO

Dentre o filo Basidiomycota destaca-se a ordem Agaricales, constituída por macrofungos denominados popularmente de cogumelos, os quais possuem elevado potencial medicinal devido a produção de compostos bioativos. Assim, o presente trabalho, objetivou realizar uma revisão sistemática sobre as atividades biológicas de fungos da ordem Agaricales (Agaricomycetes). Realizou-se uma busca nas bases Scientific Electronic Library Online (SciELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), National Institute of Health (PUBMED) e Science Direct, utilizando os descritores “Agaricales” AND “Anti-Inflammatory”; Agaricales” AND “antinociceptive”; “Agaricales” AND “Antidepressive”; Agaricales” AND “Anti-Anxiety”; e “Agaricales” AND “Anticonvulsants”. Foram excluídos artigos duplicados, fora do objetivo da pesquisa, baixa qualidade metodológica e quando apresentaram resultados negativos para potencial biológico. Foram selecionados um total de 34 artigos, os quais foram organizados em um quadro de resumo descritivo e apresentadas as informações pertinentes dos trabalhos em forma de gráficos produzidos no programa estatístico GraphPad Prism 8.0. Observou-se que, China e Coreia do Sul, tem o maior número de pesquisas; as famílias Pleurotaceae e Agaricaceae e os gêneros *Pleurotus spp.* e *Agaricus spp.* são os mais frequentes; e a principal atividade biológica relata aos cogumelos é a anti-inflamatória.

**Palavras-chave:** Cogumelos, *Pleurotus* e Anti-inflamatório.

### ABSTRACT

Among the phylum Basidiomycota stands out the order Agaricales, constituted by macrofungos denominated popularly of mushrooms, which have high medicinal potential due to the production of bioactive compounds. The present work aimed to perform a systematic review on the biological activities of fungi of the order Agaricales (Agaricomycetes). A search was made on the bases Scientific Electronic Library Online (SciELO), Virtual Health Library (VHL), National Institute of Health (PUBMED) and Science Direct, using the descriptors "Agaricales" AND "Anti-Inflammatory"; Agaricales "AND

antinociceptive "; "Agaricales" AND "Antidepressive"; Agaricales "AND" Anti-Anxiety "; and "Agaricales" AND "Anticonvulsants". Excluded duplicate articles, outside the scope of the research, low methodological quality and negative results for biological potential. A total of 34 articles were selected, which were organized in a descriptive summary table and presented the pertinent information of the works in the form of graphs produced in the statistical program GraphPad Prism 8.0. It was noted that China and South Korea have the largest number of surveys; the families Pleurotaceae and Agaricaceae and the genera *Pleurotus* spp. and *Agaricus* spp. are the most frequent; and the main biological activity relates to mushrooms is the anti-inflammatory.

**Keywords:** Mushrooms, *Pleurotus* and Anti-inflammatory.

## 1. INTRODUÇÃO

O filo Basidiomycota é composto pelos macrofungos, conhecidos pelo amplo emprego na medicina tradicional. Estes fungos são capazes de sintetizar uma alta variedade de compostos bioativos, despertando a atenção dos pesquisadores e estando entre os recursos naturais mais estudados para a descoberta de novos compostos biologicamente ativos (RUTHES; SMIDERLE; IACOMINI, 2016). Das espécies de basidiomicetos, 700 apresentam propriedades medicinais, entretanto, estima-se que esse número chegue a 1800 espécies (GLAMOCLIJA, SOKOVIC, 2017; SAJON et al., 2018).

Os compostos bioativos de basidiomicetos com valor medicinal incluem principalmente metabólitos secundários, como terpenos, esteroides, antraquinonas, derivados do ácido benzóico e quinolonas, mas também de alguns metabólitos primários como ácido oxálico, peptídeos e proteínas (YASIN et al., 2019). Esses compostos são os principais responsáveis pelas atividades biológicas, como antioxidante (YAN et al., 2019), anticancerígena (ELKHATEEB et al., 2018), antimicrobiana (BACH et al., 2019), antiparasitária (ADAMS et al., 2010), antiviral (DUDKA et al., 2015), anti-inflamatória (CASTRO et al., 2014), antidiabética (STOJKOVIC et al., 2019) e ação sobre o sistema cardiovascular (GUILLAMÓN, 2010).

Dentre as ordens do filo Basidiomycota, destaca-se a ordem Agaricales que representa grande parte das espécies estudadas de basidiomicetos, conhecidos popularmente como cogumelos. As principais espécies utilizadas são *Agaricus blazei* Murril, *A. bisporus*, *A. brasiliensis*, *Clitopilus passeckerianus*, *Flammulina velutiper*, *Pleurotus ostreatus* (MENG; LIANG; LUO, 2016).



*Agaricus blazei* Murrill conhecido popularmente como cogumelo-do-sol, é uma das espécies mais estudadas do mundo, considerado medicinal, rico em substâncias bioativas, como polissacarídeos e ácidos fenólicos (LIMA et al., 2016). Já os cogumelos do gênero *Pleurotus* ocupam o segundo lugar no mercado mundial de cogumelos e são os mais populares na China, sendo o *P. ostreatus* valorizado não só pelo seu sabor, mas também pelas suas qualidades nutricionais, especialmente nas dietas vegetarianas (BELLETINI et al., 2019).

A espécie *Clitopilus passeckerianus* não é um cogumelo muito conhecido como a maioria, no entanto, se destaca por ser o único basidiomiceto a produzir um antibiótico chamado de pleuromutilina que levou à geração de derivados comerciais, que são utilizados com sucesso tanto na medicina humana como veterinária (DE MATTOS-SHIPLEY et al., 2016). Assim, baseado no potencial medicinal de basidiomicetos, este trabalho teve por objetivo realizar uma revisão sistemática sobre as atividades biológicas de fungos da ordem Agaricales (Agaricomycetes).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo trata-se de uma revisão sistemática, baseada em Galvão e Pereira (2014), seguindo os seguintes passos:

a) Elaboração da pergunta de pesquisa: Quais as principais atividades biológicas associadas a Agaricales (Agaricomycetes) descritas na literatura?

b) Busca na literatura: Foram pesquisados artigos científicos nas bases: Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), National Institute of Health (PUBMED) e Science Direct, utilizando os descritores previamente consultados no DECs (Descritores em Ciências da Saúde): “Agaricales” AND “Anti-Inflammatory”; Agaricales” AND “antinociceptive”; “Agaricales” AND “Antidepressive”; Agaricales” AND “Anti-Anxiety”; e “Agaricales” AND “Anticonvulsants”. Foram incluídos no estudo, artigos redigidos nos idiomas inglês, português e espanhol e que atendessem aos seguintes filtros: texto completo disponível e ano de publicação (2010 a junho de 2018).

c) Seleção dos artigos: Os critérios para exclusão foram artigos duplicados (encontrados em mais de uma base de busca), fora do objetivo da pesquisa, baixa



qualidade metodológica e quando apresentaram resultados negativos para potencial biológico.

d) Extração dos dados: Após a avaliação dos artigos, estes foram selecionados e utilizados nos resultados do presente estudo. Foram extraídas e organizadas em tabelas no programa Microsoft Office Excel, as seguintes informações: espécie, família, apresentação farmacológica, atividade biológica e referências. Além dos artigos selecionados, também foram utilizados outros trabalhos para elaboração da introdução e enriquecimento da discussão deste artigo.

e) Síntese dos dados: Os dados foram organizados em tabelas e gráficos (produzidos no programa estatístico GraphPad Prism 8) para apreciação geral dos resultados encontrados.

f) Redação e discussão dos resultados: A descrição e discussão dos dados, estão no tópico 3 do presente trabalho.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

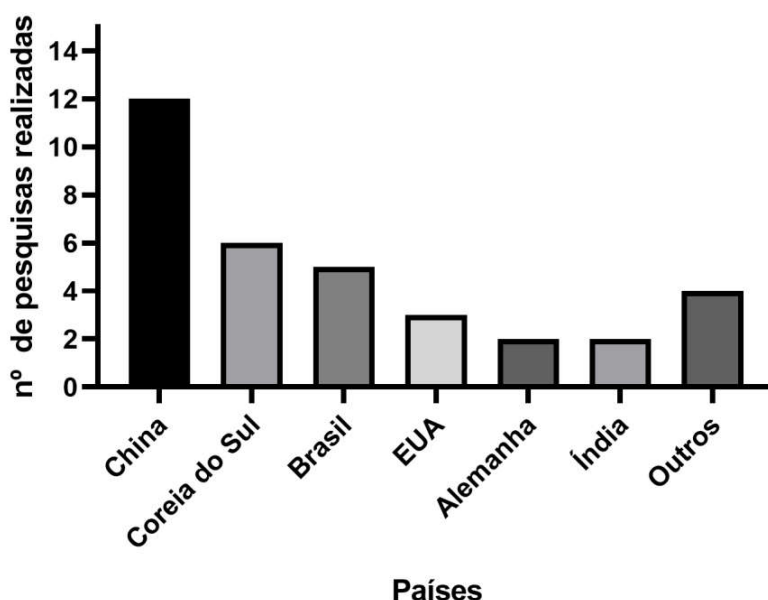
Após a avaliação dos artigos foram selecionados um total de 34 trabalhos, conforme descrito na tabela 1, os quais foram utilizados nos resultados e discussão do presente estudo.

**Tabela 1.** Artigos selecionados com atividade biológica para Agaricales utilizando descritores e bases de artigos científicos.

Descritores	SciELO	BVS	Pubmed	Science Direct	Total	Selecionados
"Agaricales" AND "Anti-Inflammatory"	0	69	241	46	356	28
"Agaricales" AND "antinociceptive"	0	2	11	6	19	4
"Agaricales" AND "Antidepressive"	0	0	17	0	17	1
"Agaricales" AND "Anti-Anxiety"	0	2	1	12	15	1
"Agaricales" AND "Anticonvulsants"	0	2	18	5	25	0
	<b>Total</b>					<b>34</b>

Analisando os dados encontrados na presente revisão, 100% dos estudos realizados com atividade biológica de Agaricales são de caráter experimental, utilizando testes em animais ou avaliação de atividades celulares, não havendo relatos de ensaios clínicos.

Constatou-se que os estudos desenvolvidos com o objetivo de avaliar a atividade biológica de Agaricales são predominantemente em países asiáticos (Figura 1), sendo os principais países China (12 trabalhos) e Coreia do Sul (6 trabalhos), totalizando aproximadamente 53% das pesquisas avaliadas. Este fato também pode ser constatado com a observação de que não foram encontrados artigos científicos na biblioteca eletrônica SciELO, caracterizada principalmente pela publicação de pesquisas latino-americanas.

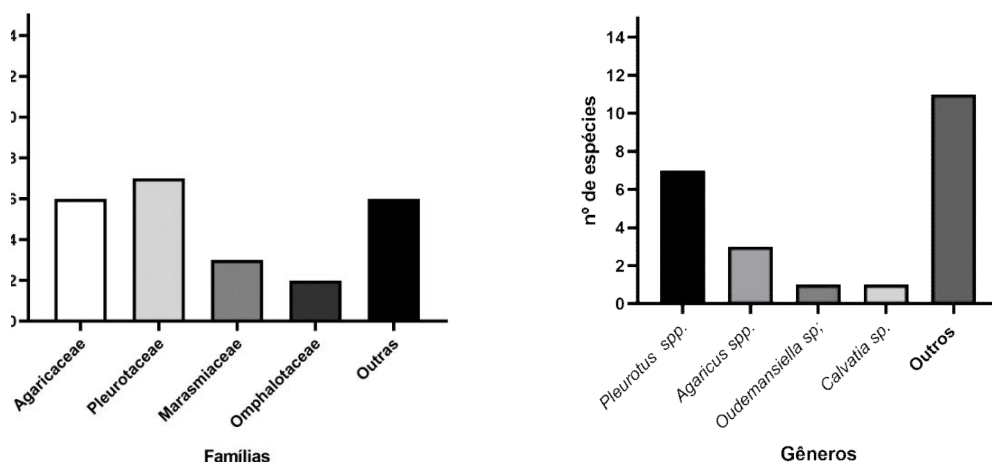


**Figura 1.** Número de pesquisas realizadas com Agaricales no Mundo.

A baixa produção científica associada aos fungos Agaricales em países ocidentais pode estar associada ao cenário mundial do consumo de cogumelos. O índice per capita chinês de ingestão de cogumelos é de 8 quilos anuais, ao comparar com a realidade brasileira, onde a média anual é de apenas 160 gramas (GOMES, 2018). Esta característica pode ser justificada pelo alto valor comercial, reflexo do potencial nutritivo e medicinal que possuem algumas espécies de cogumelos e também por influência cultural que esse consumo possui (BETT; PERONDI, 2011).

Entretanto, apesar do baixo consumo e dos escassos estudos científicos a respeito das atividades biológicas dos cogumelos, estima-se que estão presentes na Floresta Amazônica Brasileira em torno de 40.989 espécies de plantas e fungos, sendo que ambos possuem grande potencial medicinal em decorrência de suas propriedades farmacológicas (SANTOS, 2014) e que menos de 1% desta rica biodiversidade foi pesquisada integralmente (VEIGA; SCUDELLER, 2015).

Ao nível taxonômico, as principais famílias identificadas e que apresentam uma maior quantidade de espécies de Agaricales com atividades biológicas, foram Pleurotaceae, com 7 espécies (28%), e Agaricaceae com 6 espécies (25%). Ao nível de gêneros, os principais observados foram *Pleurotus* spp., com 7 espécies (33,4%) e *Agaricus* spp. com 6 espécies (13%) (Figura 2).



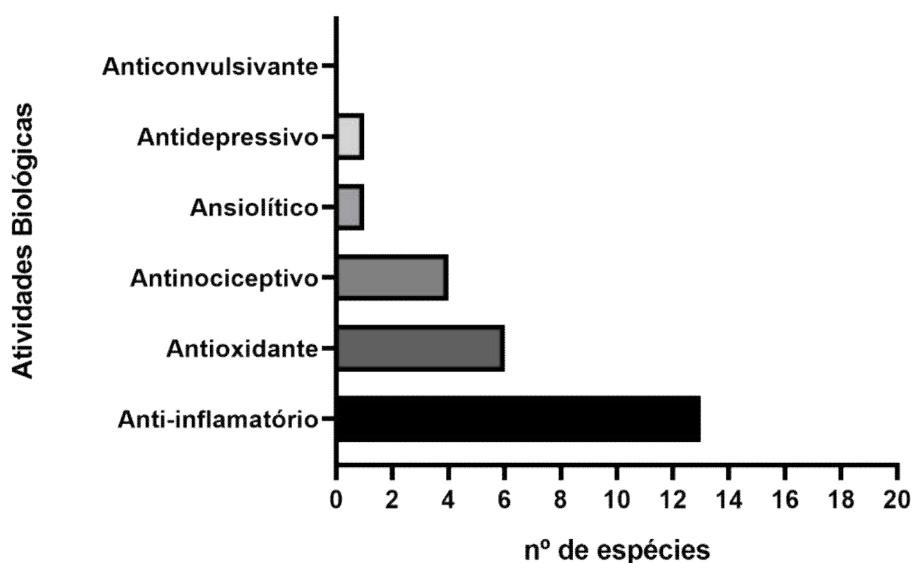
**Figura 2.** Famílias e Gêneros das espécies de Agaricales com relato de atividades biológicas.

Esta frequência de atividades biológicas em algumas famílias ou gêneros podem estar associadas a compostos similares presentes nas espécies de cogumelos, em vista que, as bioatividades dos macrofungos foram confirmadas por estudos extensivos, onde foram identificados compostos (lectinas, polissacarídeos, peptídeos e complexos polissacarídeos-proteínas) que apresentam funções efetivas no organismo (KALAC, 2012; REN et al., 2012).

A presença destes compostos foram evidenciadas por experimentos realizados com a substâncias isoladas de cogumelos Agaricales. Os polissacarídeos isolados de

*Oudemansiella radicata*, apresentaram de forma independente aos outros compostos do micélio fúngico, potencial efeito no alívio da lesão pulmonar e na prevenção do estresse oxidativo, redução nos níveis séricos de TNF- $\alpha$  atuando na resposta inflamatória (GAO et al., 2017) e efeito renal-protetor associado a diminuição dos níveis séricos de úreia e creatinina (GAO et al., 2018).

Na Figura 3, encontram-se apresentados os quantitativos de espécies com as referidas atividades biológicas: anti-inflamatório (52%), antioxidante (24%), antinociceptivo (16%), antidepressivo (8%) e anticonvulsivante (0%).



**Figura 3.** Número de Espécies de Agaricales com atividades biológicas.

Foi ressaltada uma predominância para o estudo da atividade anti-inflamatória, com um valor de 52% das ações biológicas relatadas. O processo inflamatório trata-se de uma resposta fisiológica ao dano tecidual e caracteriza-se por uma complexa cascata de eventos bioquímicos e celulares (VOLTARELLI, 1994; GAO et al., 2017), que incluem extravasamento de fluídos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998). Os macrófagos são células principais na resposta inflamatória e libera uma variedade de fatores como óxido nítrico (NO), mediadores de prostaglandina e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1b, IL-6) em resposta à ativação de estímulos, como o lipopolissacarídeo (LPS) (MA et al., 2013; SAAD et al., 2018).

As atividades anti-inflamatórias associadas aos basidiomicetos estão relacionadas diretamente com a inibição da liberação das enzimas pró-inflamatórias, contribuindo para a supressão da cascata inflamatória. Dentre os trabalhos analisados, o extrato aquoso de *Agaricus bisporus*, apresentou intensa atividade anti-inflamatória pela inibição de produção de óxido nítrico e TNF- $\alpha$  (SAAD et al., 2018) e o ácido linoleico isolado de *Agaricus brasiliensis* por intermédio da inibição do óxido nítrico e supressão de citocinas pró-inflamatórias (SAIKI et al., 2017).

No desenvolvimento metodológico, não foi incluso no campo de busca a atividade antioxidante. Entretanto, foram identificadas oito espécies da ordem Agaricales com esta atividade, a qual, em sua totalidade possui relação direta com a ação anti-inflamatória, em vista que, a inibição da liberação de fatores pró-inflamatórios reduzem o estresse oxidativo (CARVALHO; LEMÔNICA 1998, GAO et al., 2019). Os macrófagos e neutrófilos, bem como as células teciduais lesadas, liberam uma variedade de substâncias oxidantes e enzimas criando um estresse oxidativo, no qual espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio são produzidas em abundância (VOLTARELLI, 1994; CEBIN et al., 2018.).

Aliada a ação anti-inflamatória também foram encontrados as seguintes atividades biológicas: proteção pulmonar pela diminuição dos níveis séricos de PCR (GAO et al., 2019), ação neurotrófica e anti-neuroinflamatória, pelo efeito inibitório na expressão da óxido nítrico sintase indutível (iNOS) e da ciclooxigenase-2 (COX-2) (YIN et al., 2019.), redução do desenvolvimento de Sarcoma (WISBECK et al., 2017), efeito inibitório contra células de câncer de cólon humano (HU et al., 2018) e atuação na dor inflamatória (ABREU et al., 2019).

A dor inflamatória trata-se de um evento decorrente da liberação de mediadores inflamatórios, que provocam ativação e/ou sensibilização dos nociceptores. Deste forma a atuação do  $\beta$ -D-glucano isolado de *Pholiota nameko*, atua nas respostas ao alívio da dor por meio da inibição dos mediadores pró-inflamatório e diminuindo as respostas dos nociceptores (VERRI JR et al., 2006; ABREU et al., 2019).

Observou-se que as pesquisas para tratamento dos transtornos neuropsicológicos e cognitivos pelo emprego de cogumelos ou de isolados destes, ainda são escassos, apesar do reconhecimento da presença de substâncias psicoativas nestes fungos. A psilocibina é uma substância encontrada nas espécies do Gênero *Psilocybe* (Agaricomycetes) e que possui aplicações em estudos experimentais e clínicos para transtornos neuropsiquiátricos, como Transtorno Obsessivo Compulsivo e Ansiedade (ESCOBAR; ROAZZI, 2010)

Estima-se que aproximadamente 300 milhões de pessoas no mundo possuem depressão e aproximadamente 18,6 milhões de brasileiros são diagnosticados com transtornos de ansiedade. Estas doenças podem atingir pessoas de qualquer etnia, faixa etária e tendem a apresentar uma sintomatologia variável e específica para cada paciente (OPAS, 2018). Grande parte dos pacientes acometidos com transtornos mentais não apresentam boa resposta ao tratamento com os medicamentos padrões, provocando a elevação da dose terapêutica e o desenvolvimento de reações adversas, o que justifica a busca de novas ferramentas farmacológicas e elucidação a respeito dos padrões celulares e o neurocircuito das doenças neuropsicológicas (MOEZI et al., 2015; APACZ et al., 2016).

A epilepsia trata-se de um transtorno neurológico que atende aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo (OPAN, 2019), caracterizado por convulsões recorrentes devido a um excesso anormal de disparos de neurônios no cérebro (MARCHETTI et al., 2005). Três quartos das pessoas que vivem com epilepsia em países de baixa renda não recebem o tratamento do qual necessitam, o que aumenta o risco de morte prematura, provavelmente associado à falta de acesso aos serviços de saúde e medicamentos (OPAN, 2019).

#### 4. CONCLUSÃO

Em relação às atividades biológicas de Agaricales, os países asiáticos, como China e Coreia do Sul, tem o maior número de pesquisa, sendo as famílias Pleurotaceae e Agaricaceae as mais frequentes, assim como, os gêneros *Pleurotus* spp. e *Agaricus* spp. A principal atividade biológica relata aos cogumelos é a anti-inflamatória.

#### 5. REFERÊNCIAS

ABREU, H.; SIMAS, F. F.; SMIDERLE, F. R.; SOVRANI, V.; DALLAZEN, J. L.; MARIA-FERREIRA, F.; WERNER, M. F.; CORDEIRO, L. M. C.; IACOMINI, M. Gelling functional property, anti-inflammatory and antinociceptive bioactivities of  $\beta$ -D-glucan from the edible mushroom *Pholiota nameko*. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 122, p.1128-1135, 2019.

ADAMS, M.; CHRISTEN, M.; PLITZCO, I.; ZIMMERMANN, S.; BRUN, R.; KAISER, M.; HAMBURGER, M. Antiplasmodial Lanostanes from the *Ganoderma lucidum* Mushroom. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 5, p.897-900, 2010.

BELLETTINI, M. B.; FIORDA, F. A.; MAIEVES, H. A.; TEIXEIRA, G. L.; ÁVILA, S.; HORNUNG, P. S.; JUNIOR, A. M.; RIBANI, R. H. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, p. 633-646, 2016.

BETT, C. F.; PERONDI, M. A. Análise do mercado de cogumelos comestíveis e medicinais: uma prospecção de alternativa de renda para a agricultura familiar na região sudoeste do Paraná. **Synergismus scientifica UTFPR**, v. 6, n.1, p. 1-9, 2011.

CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos celulares e moleculares da dor inflamatória. Modulação periférica e avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48, n. 2, p. 137-58, 1998.

CASTRO, A. J. G; CASTRO, L. S. E. P. W; SANTOS, M. S. N; FAUSTINO, M. C. G; PINHEIRO, T. S; DORE, C. M. P; BASEIA, J. G; LEITE, E. L. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antioxidant activities of polysaccharide-rich extract from fungi *Caripia montagnei*. **Biomedicine e Nutrition Preventive**, v. 4, p. 121-129, 2014.

CHANG, C.; CHENG, J.; LEE, I.; LU, M. Purification, structural elucidation, and anti-inflammatory activity of xylosyl galactofucan from *Armillaria mellea*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 584-591, 2018.

CHEN, H.; ZHAO, Z.; LI, Z.; HUANG, Y.; ZHANG, S.; TANG, Y.; YAO, J.; CHEN, L.; ISAKA, M.; FENG, T.; LIU, J. Anti-Proliferative and Anti-Inflammatory Lanostane Triterpenoids from the Polish Edible Mushroom *Macrolepiota procera*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 12, p. 3146-3154, 2018.

DE MATTOS-SHIPLEY, K. M. J.; FORD, K. L.; ALBERTI, F.; BANKS, A. M.. BAILEY, A. M. FOSTER, G. D. The good, the bad and the tasty: the many roles of mushrooms. **Studies in Mycology**, v. 85, p. 125-157, 2016.

DUDKA, M. M; JASZEK, M; BLACHOWICZ, A; REJCZAK, T. P; MATUSZEWSKA, A; JAROSZUK, M. O; STEFANIUK, D; JANUSZ, G; SULEJ, J; SZERSZEN, M. K. Fungus *Cerrena unicolor* as an effective source of new antiviral, immunomodulatory, na anticancer compounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.79, p. 459-468, 2015.

ELKHATEEB, W. A.; ZAGHLOL, G. M.; EL-GARAWANI, I. M.; AHMED, E. F.; RATEB, M. E.; MONEIM, A. E. E. *Ganoderma applanatum* secondary metabolites induced apoptosis through different pathways: In vivo and in vitro anticancer studies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, p. 264-277, 2018.

ESCOBAR, A.; ROAZZI, A. Panorama Contemporâneo do Uso Terapêutico de Substâncias Psicodélicas: Ayahuasca e Psilocibina. **Neurobiologia**, v. 73, n. 3, p.159-172, 2010.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 1, p. 183-184, 2014.

GAO, Z.; LI, J.; SONG, X.; ZHANG, J.; WANG, X.; JING, H.; REN, Z.; LI, S.; ZHANG, C.; JIA, L. Antioxidative, anti-inflammation and lung-protective effects of mycelia selenium polysaccharides from *Oudemansiella radicata*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.104, p. 1158–1164, 2017.

GAO, Z.; LIU, X.; WANG, W.; YANG, Q.; DONG, Y.; XU, N.; ZHANG, C.; SONG, X.; REN, Z.; ZHAO, F.; ZHANG, J.; JIA, L. Characteristic anti-inflammatory and antioxidative effects of enzymatic- and acidic-hydrolysed mycelium polysaccharides by *Oudemansiella radicata* on LPS-induced lung injury. **Carbohydrate Polymers**, v.204, p. 142–151, 2019.

GOBI, V. V.; RAJASANKAR, S.; RAMKUMAR, M.; DHANALAKSHMI, C.; MANIVASAGAM, T.; THENMOZHI, A. J.; ESS, M. M.; CHIDAMBARAM, R.; KALANDAR, A. *Agaricus blazei* extract abrogates rotenone-induced dopamine depletion and motor deficits by its antioxidative and anti-inflammatory properties in Parkinsonic mice. **Nutritional Neuroscience**, v. 21, n. 9, p.657-666, 2017.

GOMES, M. **Agronegócio: Consumo e produção de cogumelos cresce no Brasil**. Disponível em: <https://www.correiobraziliense.com.br/economia/consumo-e-producao-de-cogumelos-no-brasil>. Acessado em: 22 de junho de 2019.

GUILLAMÓN, E.; LAFUENTE, A. G.; LOZANO, M.; D'ARRIGO, M.; ROSTAGNO, M. A.; VILLARES, A.; MARTÍNEZ, J. A. Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases. **Fitoterapia**, v.81, p.715-723, 2010.

GUNAWARDENA, D.; SHANMUGAM, K.; LOW, M.; BENNETT, L.; GOVINDARAGHAVAN, S.; HEAD, R.; OOI, L.; MURTHY, G.; Determination of anti-inflammatory activities of standardised preparations of plant- and mushroom-based foods. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n.1, p. 335- 343, 2013.

HU, Q.; YUAN, B.; XIAO, H.; ZHAO, L.; WU, X.; RAKARIYATHAM, K.; ZHONG, L.; HAN, Y.; KIMATU, B. M.; YANGA, W. Polyphenols-rich extract from *Pleurotus eryngii* with growth inhibitory of HCT116 colon cancer cells and anti-inflammatory function in RAW264.7 cells. **Food & Function**, v. 9, n. 3, p. 1601-1611, 2018.

KALAC, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 209-218, 2012.

KIM, T.; PARK, K.; JUNG, H. S.; KONG, W.; JEON, D.; LEE, S. H. Evaluation of Anti-atopic Dermatitis Activity of *Hypsizigus marmoreus* Extract. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 10, p. 1539–1546, 2014.

LEE, S.; LEE, D.; PARK, J. Y.; SEOK, S.; JANG, T. S.; PARK, H. B.; SHIM, S. H.; KANG, S.; KIM, K. H.; Antigastritis effects of *Armillariella tabescens* (Scop.) Sing. and the identification of its anti-inflammatory metabolites. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 3, p. 404-412, 2018.

LEE, S.; LEE, D.; PARK, J. Y.; SEOK, S.; JANG, T. S.; PARK, H. B.; SHIM, S. H.; KANG, S.; KIM, K. H.; Antigastritis effects of *Armillariella tabescens* (Scop.) Sing. and the



identification of its anti-inflammatory metabolites. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 3, p.404-412, 2018.

LIMA, C. U. J. O; GRIS, E. F.; KARNIKOWSKI, M. G. O. Antimicrobial properties of the mushroom *Agaricus blazei*—integrative review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 6, p. 780-786, 2016.

LIU, M.; YAO, W.; ZHU, Y.; LIU, H.; ZHANG, J.; JIA, L. Characterization, antioxidant and antiinflammation of mycelia selenium polysaccharides from *Hypsizygus marmoreus* SK-03. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p.566–574, 2018.

MA, L.; CHEN, H.; DONG, P.; LU, X. Anti-inflammatory and anticancer activities of extracts and compounds from the mushroom *Inonotus obliquus*. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 503-508, 2013.

MARCHETTI, R. L.; CASTRO, A. P. W.; KURCGANT, D.; EVELYN CREMONESE, E.; GALLUCCI-NETO, J. Transtornos mentais associados à epilepsia. **Revista de psiquiatria clínica**, v.32, n.3, p. 170-182, 2005.

MENG, X.; LIANG, H.; LUO, L. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities. **Carbohydrate Research**, v. 424, p. 30-41, 2016.

MINATO, K.; LAAN, L. C.; DIE, I. V.; MIZUNO, M. *Pleurotus citrinopileatus* polysaccharide stimulates anti-inflammatory properties during monocyte-to-macrophage differentiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p.705-712, 2019.

OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. **Folha informativa – transtornos mentais**. Acessado em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5652:folha-informativa-transtornos-mentais&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5652:folha-informativa-transtornos-mentais&Itemid=839). Acessado em: 10 de julho de 2019.

OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. **OMS destaca escassez de tratamento para epilepsia em países de baixa renda**. Acessado em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5972:oms-destaca-escassez-de-tratamento-para-epilepsia-em-paises-de-baixa-renda&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5972:oms-destaca-escassez-de-tratamento-para-epilepsia-em-paises-de-baixa-renda&Itemid=839). Acessado em: 10 de julho de 2019.

REN, J.; SHI, J.; HAN, C.; LIU, Z.; GUO, J. Isolation and biological activity of triglycerides of the fermented mushroom of *Coprinus comatus*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 52, p. 1-5, 2012.

REN, L.; PERERA, C.; HEMAR, Y. Antitumor activity of mushroom polysaccharides: a review. **Food & Function**, v. 3, n. 11, p. 1118-1130, 2012.

REN, Z.; LIU, W.; SONG, X.; QI, Y.; ZHANG, C.; GAO, Z.; ZHANG, J.; JIA, L. Antioxidant and anti-inflammation of enzymatic-hydrolysis residue polysaccharides by *Lentinula edodes*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p.811-822, 2018.

ROHR, M.; OLEINIKOV, K.; JUNG, M.; SANDJO, L. P.; OPATZ, T.; ERKEL, G. Anti-inflammatory Tetraquinane Diterpenoids from *Crinipellis* species. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 1-23, 2016.

RUTHES, A. C.; CARBONERO, E. R.; CÓRDOVA, M. M.; BAGGIO, C. H.; SANTOS, A. R. S.; SASSAKIA, G. L.; CIPRIANIA, T. R.; GORINA, P. A. J.; IACOMINI, M. *Lactarius rufus* (1→3), (1→6)-β-D-glucans: Structure, antinociceptive and anti-inflammatory effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n.1, p. 129-136, 2013.

RUTHES, A. C.; SMIDERLE, F. R.; IACOMINI, M. Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 358-375, 2016.

SAAD, H. M.; SIM, K. S.; TAN, Y. S. Antimelanogenesis and Anti-inflammatory Activity of Selected Culinary-Medicinal Mushrooms. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 20, n. 2, p. 141-153, 2018.

SAIKI, P.; KAWANO, Y.; GRIENSVEN, L. J. L. D. V.; MIYAZAKI, K. The anti-inflammatory effect of *Agaricus brasiliensis* is partly due to its linoleic acid content. **Food & Function**, v. 8, n. 11, p. 4150-4158, 2017.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R.; OLIVEIRA, C. L. L. G. Medicinal plants used in Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 31, p. 707-720, 2014.

SANTOS, M. S. N.; MAGALHÃES, J. E. M. M.; CASTRO, L. S. E. P. W.; PINHEIRO, T. S.; DIEGO ARAUJO SABRY, D. A.; NOBRE, L. T. D. B.; LIMA, J. P. M. S.; BASEIA, I. G.; LEITE, E. L. Effect of Glucans from *Caripia montagnei* Mushroom on TNBS-Induced Colitis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 2, p. 2368-2385, 2014.

SILVEIRA, M. L. L.; SMIDERLE, F. R.; AGOSTINI, F.; PEREIRA, E. M.; BONATTI-CHAVES, M.; WISBECK, E.; RUTHES, A. C.; SASSAKI, G. L.; CIPRIANI, T. R.; FURLAN, S. A.; IACOMINI, M. Exopolysaccharide produced by *Pleurotus sajor-caju*: Its chemical structure and anti-inflammatory activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 90-96, 2015.

SONG, J.; WANG, X.; HUANG, Y.; QU, Y.; TENG, L.; WANG, D.; MENG, Z. Antidepressant-like effects of *Marasmius androsaceus* metabolic exopolysaccharides on chronic unpredictable mild stress-induced rat model. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 4, p. 5043-5049, 2017.

STOJKOVIC, D.; SMILJKOVIS, M.; CIRIC, A.; GLAMOCLIJAJ, J.; VAN GRIENSVEN, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; SOKOVIC, M. An insight into antidiabetic properties of six medicinal and edible mushrooms: Inhibition of α-amylase and α-glucosidase linked to type-2 diabetes. **South African Journal of Botany**, v. 120, p. 100-103, 2019.

VEIGA, J. B.; SCUDELLER, V. V. Etnobotânica e medicina popular no tratamento de malária e males associados na comunidade ribeirinha Julião – baixo Rio Negro (Amazônia Central). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 41, p.737-747, 2015.

VERRI JUNIOR, W. A.; CUNHA, T. M.; PARADA, C. A.; POOLE, S.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. IL-15 mediates immune inflammatory hypernociception by triggering a sequential release of IFN-gamma, endothelin, and prostaglandin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 25, p. 9721–9725, 2006.

VOLTARELLI, J.C. Febre e inflamação. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.27, n. 1 p. 7-48, 1994.

WISBECK, E.; FACCHINI, J. M.; ALVES, E. P.; SILVEIRA, M. L. L.; GERN, R. M. M.; NINOW, J. L.; FURLAN, S. A.; A polysaccharide fraction extracted from *Pleurotus ostreatus* mycelial biomass inhibit Sarcoma 180 tumor. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 2013-2020, 2017.

YAN, J.; ZHU, L.; QU, Y.; MU, M.; ZHANG, M.; MUNEER, G.; ZHOU, Y. SUN, L. Analyses of active antioxidant polysaccharides from four edible mushrooms. **International journal of biological macromolecules**, v. 123, p. 945-956, 2019.

YANG, S.; MENG, Y.; YAN, J.; WANG, N.; XUE, Z.; ZHANG, H.; FAN, Y. Polysaccharide-Enriched Fraction from *Amillariella mellea* Fruiting Body Improves Insulin Resistance. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 1-12, 2018.

YASIN, H.; ZAHOOR, M.; YOUSAF, Z.; AFTAB, A.; SALEH, N.; RIAZ, N.; SHAMSHEE, B. Ethnopharmacological exploration of medicinal mushroom from Pakistan. **Phytomedicine**, v. 54, p. 43-55, 2019.

YIN, X.; WEI, J.; WANG, W.; GAO, Y.; STADLER, M.; KOU, R.; GAO, J. New cyathane diterpenoids with neurotrophic and anti-neuroinflammatory activity from the bird's nest fungus *Cyathus africanus*. **Fitoterapia**, v. 134, p.201-209, 2019.

ZHAO, X.; FANG, L.; LIU, D.; LAI, C.; ZHANG, Y.; ZHOU, A.; XIE, J. A glucogalactomannan isolated from *Agaricus bisporus* induces apoptosis in macrophages through the JNK/Bim/caspase 3 pathway. **Food & Function**, v. 9, n. 9, p. 4771-4780, 2018.

## ANEXO D - APROVAÇÃO PELO SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE (SIBIO)

Início Sistemas Pesquisador: Yara de Moura Magalhães Lima Perfil: Pesquisador  

Pesquisador ▾ Solicitação ▾ Relatório de atividades ▾

### Minhas Solicitações

Você pode filtrar os resultados da tabela, se necessário [Nova Solicitação](#)

Registros por página 10 ▾

Nº ▲	Título	Tipo da Solicitação	Ações
72229	-	Autorização para atividades com finalidade científica	  