

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

**LAURA NADYNE DA SILVA SILVESTRE**

**POTENCIAL ANSIOLÍTICO, ANTIDEPRESSIVO E  
ANTICONVULSIVANTE DO EXTRATO DE *Leucopaxillus sp.*  
EM CAMUNDONGOS SWISS**

RIO BRANCO, ACRE  
ABRIL DE 2020

**LAURA NADYNE DA SILVA SILVESTRE**

**POTENCIAL ANSIOLÍTICO, ANTIDEPRESSIVO E  
ANTICONVULSIVANTE 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 para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Inovação Tecnológica**.

**Orientador: Prof. Dr. Quintino Moura Dias Junior**  
**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Clarice Maia Carvalho**

RIO BRANCO, ACRE  
ABRIL DE 2020

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

**POTENCIAL ANSIOLÍTICO, ANTIDEPRESSIVO E ANTICONVULSIVANTE DO  
EXTRATO DE *Leucopaxillus sp.* EM CAMUNDONGOS SWISS**

LAURA NADYNE DA SILVA SILVESTRE

DEFESA APROVADA EM: 30 de Abril de 2020

---

Prof. Dr. Quintino Moura Dias Junior  
(Orientador – PPG/CITA E FIOCRUZ/RO)

---

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

---

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

À minha mãe e avó por me apoiarem diariamente não permitindo que eu desistisse nos momentos difíceis. Vocês são meu alicerce, porto seguro e os amores da minha vida.

Ao meu irmão por me acompanhar, apoiar e por estar sempre ao meu lado: “melhores irmãos do mundo”.

À minha família por sempre acreditar em mim e por trazer palavras de apoio no momento certo.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu Deus, por ser meu guia, suporte, apoio e minha alegria nas horas de desespero. Nos momentos em que pensei que não fosse possível, me acolheu em teus braços e disse que tudo ficaria bem. Obrigada Deus, esta Glória és tua.

À minha família, por sempre acreditar em mim, por estar ao meu lado em todos os momentos e por me incentivar na busca pelo meu sonho. Em especial, a minha avó Dasdores, minha mãe Marcela, minhas tias, tios, primas e primos. Ao meu irmão Miguel, príncipe e amor da minha vida, que tanto me ajudou ao ficar acordado nas madrugadas e com seus conhecimentos tecnológicos. Amo vocês.

Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram quando eu me senti incapaz: Ana Paula, André, Arquiney, Gabriel, Bruno e Dany, vocês são incríveis. Aos amigos que a universidade me deu e que permanecem no meu coração: Lorrana, Catharine, Matheus, Dani, Tazai, Natalia C., Natalia A., obrigada por estarem comigo.

À todos os meus amigos, que sempre estiveram comigo, nos momentos bons e ruins da vida.

Ao Prof. Quintino, meu orientador, pelos ensinamentos, contribuições, acolhida, competência, dedicação, e principalmente pelo apoio emocional nos momentos mais difíceis ao decorrer da trajetória. Serei eternamente grata.

À Prof. Clarice, minha co-orientadora, pelo empenho, dedicação confiança e entusiasmo com este trabalho, pelos ensinamentos, acolhida em seu laboratório e pelo apoio em fases difíceis. Obrigada.

Ao Prof. Renildo, meu primeiro orientador na ciência, que tão gentilmente me acolheu em seu laboratório, agradeço pelo seu apoio e ensinamentos. Com o senhor aprendi muito sobre ciência, mas também sobre humildade. Obrigada.

Aos colaboradores do Laboratório em Fisiofarmacologia, em especial a Roberta, por todo seu apoio, incentivo e conversa.

Aos meus amigos da Pós-Graduação e do Laboratório de Microbiologia.

Aos alunos e técnicos do laboratório NIMFAR (FIOCRUZ-RO), em especial Tailane, Meire e Mateus, pela acolhida, contribuição e auxílio experimental.

A Universidade Federal do Acre, em especial ao Curso Bacharelado em Enfermagem e PPG-CITA, pelas minhas formações. Ao corpo docente que se fez presente durante esta trajetória.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!  
Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu  
Deus, estará com você por onde você andar.”

**Josué 1:9**

## RESUMO

### POTENCIAL ANSIOLÍTICO, ANTIDEPRESSIVO E ANTICONVULSIVANTE DO EXTRATO DE *Leucopaxillus sp.* EM CAMUNDONGOS SWISS

Autora: Laura Nadyne da Silva Silvestre

Orientador: Quintino Moura Dias Júnior

Co-Orientador: Clarice Maia Carvalho

**INTRODUÇÃO:** Os fungos Agaricales, conhecidos popularmente por cogumelos, são caracterizados pela presença de um basidioma com himênio lamelado e apresentam ampla diversidade na região Amazônica. Os fungos e seus constituintes têm sido aplicados em diversas áreas, especialmente na indústria alimentícia e farmacêutica, devido às suas propriedades biologicamente ativas. Na medicina, evidências indicam que os fungos agaricales de diversas partes do mundo e seus constituintes químicos são potencialmente úteis no tratamento de doenças neuropsiquiátricas tais como ansiedade, depressão e convulsão. **OBJETIVO:** Desta forma, o presente estudo tem como proposta avaliar o potencial ansiolítico, antidepressivo e anticonvulsivante do extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) em modelos animais. **MATERIAL E MÉTODOS:** Fungos Agaricales foram coletados no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre (UFAC) e na Fazenda Experimental Catuaba (UFAC), ambos localizados no estado do Acre. Os fungos Agaricales coletados foram identificados através das características macroscópicas e microscópicas. Com base na caracterização foram selecionadas quatro amostras de fungos para crescerem em meio Batata-Dextrose (BD) e, em seguida, macerados e submetidos à extração em álcool etílico 96% para a produção de extratos alcoólicos. Com os dados do ensaio de citotoxicidade foi determinada a dose de cada extrato a ser testada nos modelos experimentais *in vivo* para avaliar sua propriedade ansiolítica, antidepressiva e anticonvulsivante. Para ensaios *in vivo* foram utilizados camundongos *swiss webster* (n=7). Foram empregados o teste do labirinto em cruz elevado, teste do nado forçado e teste da convulsão induzida pelo pentilenotetrazol para determinar, respectivamente, a propriedade ansiolítica, antidepressiva e anticonvulsivante dos extratos alcoólicos dos fungos. Por fim, os dados foram estatisticamente analisados através da análise multivariada de variância (One way ANOVA), no programa estatístico Graphpad Prism 6, com nível de significância fixado em 0,05. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Foram coletadas 79 morfoespécies de fungos Agaricales, dos quais 25 foram isolados e classificados nos gêneros *Oudemansiella*, *Lepiota*, *Leucocoprinus*, *Hydropus*, *Leucopaxillus*, *Calvatia*, *Macrolepiota*, *Lepiota*, *Chlorophyllum*, *Pluteus*, *Agaricus* e *Hygrocybe*. Do total coletado, foram selecionados e produzidos extratos alcoólicos dos fungos do gênero *Leucopaxillus sp.* (amostra nº 5.273), *Oudemansiella sp.* (amostra nº 5.280), e da ordem Agaricales (amostras nº 5.302, 5.314 e 5.321), os quais apresentaram rendimento respectivo de 70,9 mg, 69,65 mg, 18,46 mg, 35,7mg e 33,28 mg. No teste de citotoxicidade em células HepG2, os extratos miceliais dos fungos nº 5.280, 5.314, 5.321 e 5.302 apresentaram CC<sub>50</sub> (concentração citotóxica em 50% das células) > 500 µg/ml, enquanto que o extrato micelial do fungo nº 5.273 (*Leucopaxillus sp.*) equivale a 54,9 µg/ml. O extrato alcoólico micelial de *Leucopaxillus sp.* (EAL) não apresentou atividade ansiolítica em concentrações de 20, 100 e 200 µg/ml no teste do labirinto em cruz elevado; O EAL apresentou atividade antidepressiva em concentrações de 100 e 200 µg/ml no teste do nado forçado e anticonvulsivante na concentração de 100 µg/ml. **CONCLUSÃO:** As amostras nº 5.302, 5.314 e 5.321 apresentam baixa citotoxicidade. O EAL apresenta possível atividade antidepressiva e anticonvulsivante, mas não possui ação ansiolítica nas doses testadas, sendo o EAL um bioativo promissor para a produção de novos fármacos na área de psiquiatria e neurologia.

**Palavras-chave:** Fungos agaricales; Modelos animais; Atividade biológica; Doenças neuropsiquiátricas.

## ABSTRACT

### ANSIOLYTIC, ANTIDEPRESSIVE AND ANTICONVULSIVE POTENTIAL OF *Leucopaxillus* sp. IN SWISS MICE

Author: Laura Nadyne da Silva Silvestre

Advisor: Quintino Moura Dias Junior

Co-advisor: Clarice Maia Carvalho

**INTRODUCTION:** Agarical fungi, popularly known as mushrooms, are characterized by the presence of a basidioma with laminated hymenium and wide diversity in the Amazon region. Fungi and their components have been used in several areas, especially in the food and pharmaceutical industry, due to their active biological properties. In medicine, drugs that cause fungi from various parts of the world and their chemical constituents are used that are potentially useful in the treatment of neuropsychiatric diseases such as anxiety, depression, and seizure. **OBJECTIVE:** Thus, the present study aims to evaluate the ansiolytic, antidepressant, and anticonvulsant potential of the alcoholic extract of *Leucopaxillus* sp. (EAL) in animal models. **MATERIAL AND METHODS:** For this purpose, Agarical fungi were collected at the Zoobotanical Park of the Federal University of Acre (UFAC) and the Fazenda Experimental Catuaba (UFAC), both located in the state of Acre. The collected Agaricales fungi were identified through macroscopic and microscopic characteristics. Based on macro and microscopic characteristics, four fungi samples were selected to grow in Potato-Dextrose (BD) medium. After, the fungi sample was macerated and subjected to extraction in 96% ethyl alcohol to produce alcoholic extracts. With the data from the cytotoxicity assay, each extract's dose to be tested in the *in vivo* experimental models were determined to assess its ansiolytic, antidepressant, and anticonvulsant properties. For *in vivo* tests, swiss webster mice were used (n = 7). The elevated plus-maze, forced swim, and pentylenetetrazole-induced seizure tests were used to determine the ansiolytic, antidepressant, and anticonvulsant properties of alcoholic fungi extracts. Finally, the data were statistically analyzed through multivariate analysis of variance (One-way ANOVA), in the statistical program Graphpad Prism 6, with a significance level set at 0.05. **RESULTS AND DISCUSSION:** We collected 79 morphospecies of Agaricales fungi, of which 25 were isolated and classified in the genera *Oudemansiella*, *Lepiota*, *Leucocoprinus*, *Hydropus*, *Leucopaxillus*, *Calvatia*, *Macrolepiota*, *Lepiota*, *Chlorophyllum*, *Pluteus*, *Agaricus*, and *Hygrocybe*. From the total collected, alcoholic extracts of the fungi of the genus *Leucopaxillus* sp. were selected and produced. (sample No. 5,273), *Oudemansiella* sp. (sample n° 5,280), and of the order Agaricales (samples n° 5,302, 5,314 and 5,321), which presented respective yield of 70.9 mg, 69.65 mg, 18.46 mg, 35.7 mg, and 33.28 mg. In the cytotoxicity test on HepG2 cells, the mycelial extracts of fungi No. 5,280, 5,314, 5,321 and 5,302 showed CC50 (cytotoxic concentration in 50% of cells) > 500 µg / ml, while the mycelial extract of fungus No. 5,273 (*Leucopaxillus* sp.) equivalent to 54.9 µg / ml. The mycelial alcoholic extract of *Leucopaxillus* sp. (EAL) did not show ansiolytic activity at concentrations of 20, 100 and 200 µg / ml in the elevated plus-maze test; The EAL showed antidepressant activity in concentrations of 100 and 200 µg / ml in the forced swimming test and anticonvulsant in the concentration of 100 µg / ml. **CONCLUSION:** Samples 5.302, 5.314, and 5.321 show low cytotoxicity. EAL has possible antidepressant and anticonvulsant activity but has no ansiolytic action, being the EAL a promisor bioactive to produce new drugs in psychiatry and neurology.

**Keywords:** Agarical fungi; Animal models; Biological activity; Neuropsychiatric diseases.

## LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Principais estruturas morfológicas dos basidiomicetos _____	22
Figura 2.	Locais de coleta. _____	37
Figura 3.	Coleta de fungos agaricales. _____	38
Figura 4.	Identificação macroscópica dos cogumelos. Fungo nº5.314, ordem Agaricales, coletado no Parque Zoobotânico. _____	39
Figura 5.	Labirinto em cruz elevada sob iluminação vermelha. _____	45
Figura 6.	Teste do labirinto em cruz elevado. _____	46
Figura 7.	Teste do nado forçado. _____	47
Figura 8.	Convulsão induzida por PTZ. _____	48
Figura 9.	Fluxograma do resumo metodológico. _____	49
Figura 10.	Quantitativo de morfoespécies de fungos Basidiomicetos da ordem Agaricales coletadas na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre. _____	50
Figura 11.	Número de morfoespécies de fungos Basidiomicetos da ordem Agaricales coletado e isolado da ordem Agaricales na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre. _____	51
Figura 12.	Lista de gêneros de fungos da ordem Agaricales identificados na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre. _____	51
Figura 13.	Substrato de crescimento de fungos da ordem Agaricales coletados na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre. _____	52
Figura 14.	Características macroscópicas e microscópicas do fungo do gênero <i>Leucopaxillus sp.</i> _____	53
Figura 15.	Características macroscópicas e microscópicas do fungo do gênero <i>Oudemansiella sp.</i> _____	54
Figura 16.	Características macroscópicas e microscópicas da espécie nº 5302 (ordem Agaricales) _____	54
Figura 17.	Características macroscópicas e microscópicas da espécie nº 5.314 (ordem Agaricales) _____	55
Figura 18.	Características macroscópicas e microscópicas do fungo do gênero <i>Oudemansiella sp.</i> _____	55
Figura 19.	Produção e rendimento dos extratos alcoólicos. _____	56
Figura 20.	Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de <i>Leucopaxillus sp.</i> (EAL) no número de entradas nos braços abertos (A) e nos braços fechados (B) do Labirinto em Cruz Elevado. _____	58
Figura 21.	Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de <i>Leucopaxillus sp.</i> (EAL) no número total de entradas nos braços abertos e fechados (A) e o tempo de permanência no quadrante central (B) do Labirinto em Cruz Elevado. _____	59
Figura 22.	Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de <i>Leucopaxillus sp.</i> (EAL) no tempo de permanência nos braços abertos (A) e no tempo de permanência nos braços fechados (B) do Labirinto em Cruz Elevado. _____	60
Figura 23.	Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de <i>Leucopaxillus sp.</i> (EAL) sobre a porcentagem de entrada nos braços abertos (A) e sobre a porcentagem de tempo nos braços abertos no Labirinto em Cruz Elevado. _____	60
Figura 24.	Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de <i>Leucopaxillus sp.</i> (EAL) sobre tempo de nado (A) e de imobilidade (B) no teste do nado forçado. _____	61
Figura 25.	Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de <i>Leucopaxillus sp.</i> (EAL) sobre a convulsão clônica- tônica e mortalidade induzida por Pentilenotetrazol. _____	63

## LISTA DE ABREVIATURAS

- 5-HT – Serotonina
- ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico
- AMPc - Adenosina cíclico
- BD – Batata dextrose
- BDA – Batata dextrose ágar
- BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro
- BZDs - Benzodiazepínicos (BZDs)
- CC – Concentração Citotóxica
- CCSD – Centro de Ciências da Saúde e do Desporto
- Cl<sup>-</sup> - Cloreto
- CRH - Hormônio liberador de corticotrofina
- DA – Dopamina
- DIA – Diazepam
- DSM-5 – Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
- EAL - Extrato alcoólico de *Leucopaxillus* sp.
- EPM – Erro Padrão da Média
- FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz
- GABA - Ácido gama-aminobutírico
- HepG2 - Linhagem de Celular de Hepatocarcinoma Humano
- HPA - Hipotálamo-hipófise-adrenal
- MCPD - Matéria cinzenta periaquedutal dorsal
- MTT: 3-(4,5 dimetiliazol-2yl)-2-5-difenil-2H tetrazolato de bromo
- NE – Noradrenalina
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- PAG - Substância cinzenta periaquedutal
- PPG-CITA – Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amaxônia
- PTZ - Pentilenotetrazol
- RO – Rondônia
- SAL – Salina
- SER - Sertralina
- SNA - Sistema Nervoso Autônomo

SNC – Sistema nervoso central

SNP - Sistema Nervoso Periférico

TGG - Crises tônico-clônicas generalizadas

UFAC – Universidade Federal do Acre

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>19</b>
2.1 REINO FUNGI	19
2.2 FILO BASIDIOMYCOTA	22
2.3 ORDEM AGARICALES	23
2.4 FUNGOS <i>Leucopaxillus sp.</i>	24
2.5 DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS	25
2.5.1 Transtornos de ansiedade	25
2.5.2 Transtorno depressivo	29
2.6 TRANSTORNOS NEUROLÓGICOS	31
2.6.1 Convulsão e epilepsia	31
2.7 FUNGOS AGARICALES E DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS	33
2.7 FUNGOS AGARICALES DO GÊNERO <i>Leucopaxillus</i> E DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS	35
<b>3 OBJETIVOS</b>	<b>36</b>
3.1 OBJETIVO GERAL	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>36</b>
4.1 ÁREA DE ESTUDO	36
4.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO	37
4.3 ISOLAMENTO E PRODUÇÃO DO EXTRATO MICELIAL	39
4.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS HepG2	41
4.5 DOSES DE TRATAMENTO DO EXTRATO ALCOÓLICO DE <i>Leucopaxillus sp.</i>	41
4.6 FÁRMACOS E EXTRATOS	42
4.7 ANIMAIS	43
4.8 MODELOS EXPERIMENTAIS <i>in vivo</i>	44
4.8.1 Teste do labirinto em cruz elevado	44
4.8.2 Teste do nado forçado	46
4.8.3 Teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol	47
4.9 MÉTODO DE EUTANÁSIA	
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
4.11 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	49
<b>5 RESULTADOS</b>	<b>50</b>
5.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO	50
5.2 SELEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS	53
5.3 PRODUÇÃO E RENDIMENTO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS	56
5.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO EXTRATO ALCOÓLICO DE FUNGOS AGARICALES EM CÉLULAS HepG2	57
5.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	57
5.6 TESTE DO NADO FORÇADO	61
5.7 TESTE DA CONVULSÃO INDUZIDA POR PENTILENOTETRAZOL	62

<b>6 DISCUSSÃO</b>	<b>64</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b>	<b>74</b>
<b>8 REFERÊNCIAS</b>	<b>75</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os transtornos mentais são condições médicas crônicas que acometem muitos pacientes e causam elevado grau de comprometimento na vida destes indivíduos, atingindo pessoas de qualquer etnia, faixa etária e desencadeando uma sintomatologia variável e específica para cada paciente (ROY-BYRNE et al.,2008, NUSS, 2015). Na América, os transtornos mentais respondem por 34% das causas de incapacidade, com pouca variação aos níveis nacionais. Este elevado índice crescente demonstra impactos significativos sobre a saúde e as principais consequências sociais, de direitos humanos e econômicas em todos os países do mundo (OMS, 2019).

A saúde mental é vista como uma prioridade global de saúde e desenvolvimento econômico, com o objetivo de alcançar uma cobertura universal de saúde que inclua bem-estar físico, mental e social. Entretanto, apesar dos altos índices de acometimento populacional e da recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) em priorizar a saúde mental, o cenário nacional apresenta investimentos muito abaixo do necessário para abordagem e tratamento de transtornos mentais na saúde pública (OMS, 2018, OMS, 2019).

A ansiedade é caracterizada como um transtorno mental que afeta 260 milhões de pessoas no mundo. No Brasil, este número é de cerca de 19,4 milhões (9,3%), condicionando o Brasil à liderança mundial em ansiedade. Esta condição clínica é definida como um estado emocional frequentemente negativo, caracterizado por sentimentos de preocupação e apreensão, acompanhado por manifestações somáticas, cognitivas e comportamentais específicas. Os sintomas podem aparecer em resposta a condições ambientais, como nas fobias, ou serem específicos e difusos, como nos transtornos de ansiedade generalizada (ROY-BYRNE et al.,2008, NUSS, 2015, OMS, 2019).

A neurofisiologia dos transtornos de ansiedade é desencadeada por estímulos aversivos identificados pelo sistema sensorial e transmitida as áreas do sistema límbico, desencadeando a ativação inapropriada da amígdala e hipocampo. Tais estruturas induzem a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise anterior e cortisol pela glândula adrenal (AFONSO et al.,1997, BANNERMAN et al., 2014, SABIHI et al., 2017).

O cortisol é um hormônio esteroide que atravessa as membranas das células e age nos receptores para glicocorticoides do tipo II que estão localizados no citoplasma e no núcleo celular. No Sistema Nervoso Central (SNC), este hormônio causa alterações nos padrões do sono; acuidade dos sentidos, olfativo, gustativo, auditivo e visual; melhora a capacidade integrativa e geradora de respostas apropriadas; e inibição da secreção do CRH e ACTH (*feedback* negativo) (BUENO & GOUVEIA, 2011, ROSA, 2016).

Mudanças no padrão de secreção de cortisol são associadas a níveis anormais de ACTH, como nos casos de transtorno de ansiedade, depressão ou estresse fisiológico (febre, dor, medo, dentre outros). A elevação contínua do cortisol leva ao estresse crônico, caracterizado pela hiperglicemia, hipertensão arterial, diminuição da atividade do sistema imunológico, diminuição da osteogênese e perda muscular (MARGIS et al.,2003, BUENO & GOUVEIA, 2011, ROSA, 2016).

Os demais sinais clássicos dos quadros ansiosos são modulados a partir da ativação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), através do feixe simpático, ordenados pela liberação de adrenalina e noradrenalina, causando o aumento do ritmo e frequência cardíaca, hipertensão arterial, xerostomia e sudorese intensa. Enquanto que, a atuação do Sistema Nervoso Periférico (SNP) causa o formigamento dos membros, midríase e dispneia (MARGIS et al.,2003, GRUPE et al., 2013, GELFUSO et al., 2014, SABIHI et al., 2017).

A comunicação entre as estruturas encefálicas e a regulação do processo fisiopatológico da ansiedade decorre principalmente através da liberação de neurotransmissores. Após a ativação do sistema límbico, a serotonina (5-HT), exerce um papel ansiogênico na amígdala e ansiolítico na matéria cinzenta periaquedutal dorsal (MCPQ). O neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA), principal neurotransmissor inibitório do SNC, desempenha uma função fundamental no controle da ansiedade, decorrente da redução da atividade neuronal (AFONSO et al., 1997, GRUPE et al., 2013, GELFUSO et al., 2014).

O transtorno depressivo é a doença psiquiátrica mais comum. Globalmente, estima-se que 300 milhões de pessoas são afetadas por essa condição, ocupando o 4º lugar entre as principais causas de ônus e o 1º lugar quando considerado o tempo vivido com incapacitação ao longo da vida (11,9%) (OMS, 2019). No Brasil, este cenário é sustentado com uma pesquisa epidemiológica, a qual indica que a prevalência de depressão ao longo da vida do brasileiro está em torno de 15,5% (BRASIL, 2019). Caracteriza-se pela presença de humor deprimido ou perda de interesse em atividades prazerosas (anedonia) em conjunto com outros sintomas característicos, como: alterações no sono, diminuição da atenção, incapacidade de se concentrar, sentimento de culpa e suicidabilidade, os quais estão presentes quase todos os dias por pelo menos 2 semanas (BARR, et al., 2005, MILLER & RAISON, 2016).

Embora a fisiopatologia do estado depressivo não esteja completamente elucidada, acredita-se que inclua alterações na expressão de neurotransmissores e modificações no eixo hipotálamo-adrenal-hipófise, genes e estruturas cerebrais (BARR, et al., 2005, MILLER & RAISON, 2016).

A hipótese monoaminérgica propõe que a depressão seja consequência de uma menor disponibilidade de aminas biogênicas cerebrais (serotonina, noradrenalina e/ou dopamina). Tal proposição é reforçada a partir do mecanismo de ação dos fármacos antidepressivos, que se baseiam, principalmente, no aumento da disponibilidade desses neurotransmissores na fenda

sináptica, através da inibição de suas recaptações ou inibição da enzima responsável por suas degradações. Entretanto, tal hipótese, apesar de ser amplamente estudada e discutida nas últimas quatro décadas, não deve ser considerada uma causa isolada e absoluta para o transtorno de depressão, em vista que, não pode-se explicar questões como, as causas dos distúrbios monoaminérgicos, altas taxas de refratariedade aos fármacos antidepressivos e efeito tardio do tratamento e melhora clínica do paciente (VISMARI, 2008, MAHAR et al., 2014, DEAN et al., 2017).

A partir de tais questionamentos, surgiram outras teorias, como: da via das quinureninas do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), do glutamato, neuroimunoendócrina e a dessensibilização de receptores. Esta última, sustenta a ideia de que, o atraso no aparecimento do efeito terapêutico dos antidepressivos está relacionado a alterações no número e sensibilidade dos receptores monoaminérgicos, através de uma supersensitividade de receptor  $\beta$ -adrenérgico acoplado ao monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) (LAFER & VALLADA FILHO, 1999, GOMES & GASPAR, 2018 ).

A epilepsia é caracterizada por convulsões recorrentes e decorrentes da atividade anormal de disparos de neurônios no encéfalo, resultando em diversos sintomas, como: olhar fixo, rigidez muscular (movimentos tônicos), espasmos musculares e consciência prejudicada. Estima-se que a prevalência mundial de epilepsia ativa esteja em torno de 0,5%-1,0% da população e que cerca de 30% dos pacientes sejam refratários, ou seja, continuam a ter crises, sem remissão, apesar de tratamento adequado com medicamentos anticonvulsivantes (BRASIL, 2013, KANDRATAVICIUS et al., 2014, MOEZI et al., 2015).

Diversas evidências apontam como causa das convulsão a alteração no funcionamento de diversos neurotransmissores, incluindo a acetilcolina, ácido gama-aminobutírico (GABA) e glutamato (KANDRATAVICIUS et al., 2014, MOEZI et al., 2015). A crise convulsiva pode decorrer do desequilíbrio entre a neurotransmissão inibitória (mediada pelo GABA) e a

neurotransmissão excitatória (mediada por glutamato), o que podem ser potencialmente agravadas pela morte celular decorrentes destas crises. Esta hipótese é corroborada por evidências de que a administração de bicuculina, antagonista seletivo do GABA<sub>A</sub>, causa a interferência na inibição pós-sináptica GABAérgica, o que leva o desencadeamento de uma crise convulsiva. Além disso, crises epiléticas (crises de ausência na infância) e convulsões febris generalizadas estão associadas à presença de mutações na subunidade  $\gamma 2$  do receptor GABA<sub>A</sub> (PORTO et al., 2007, FREITAS et al., 2011, TAIWE et al., 2017).

Em um experimento utilizando modelos animais, avaliou-se crises espontâneas de ratos tratados com o agonista glutamatérgico, ácido caínico, observou-se que existe uma área de geração espontânea e evocação de oscilações rápidas no circuito córtex entorrinal-hipocampo do rato epilético. Estas áreas parecem ter grupos de neurônios altamente interconectados que possuem uma retro-alimentação inibitória de interneurônios, gerando salvas de disparos epileptiformes, levando às crises convulsivas (VAL-DA SILVA et al., 2010, FERNANDES, 2013).

Entretanto, apesar do aumento de diagnóstico de transtornos neuropsiquiátricos, grande parte dos pacientes não apresentam boa resposta ao tratamento com os medicamentos padrões, provocando a elevação da dose terapêutica e o desenvolvimento de reações adversas. Tal fato justifica a busca de novas estratégias terapêuticas, especialmente farmacológicas, para o melhor enfrentamento destas doenças. Uma importante estratégia utilizada para a descoberta de novos candidatos à fármacos tem sido a exploração da biodiversidade. No Brasil, a biodiversidade representada especialmente pelos fungos, plantas e animais é rica e compõe uma importante fonte ainda pouco explorado para a descoberta de compostos químicos biologicamente ativos. Destes, a biodiversidade de fungos continua sendo uma fonte rica e ainda muito inexplorado (APACZ, et al., 2016; MOEZI et al., 2015).

Os fungos são organismos heterotróficos (PEREIRA, 2011) eucariotos uni ou pluricelulares (MAIA; CARVALHO JÚNIOR, 2010), com células constituídas por dois núcleos, agrupados em filamentos, com presença ou ausência de septos (SILVA; COELHO, 2006). O Reino Fungi representa um grupo monofilético composto, tradicionalmente, por seis principais Filos: Neocallimastigomycota, Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota (BLACKWELL et al., 2012).

O filo Basidiomycota é composto por fungos que apresentam estruturas morfológicas constituídas por hifas formadoras do micélio e basidioma, estrutura onde ocorre a cariogamia e a meiose, atuando diretamente na formação de esporos (basidiósporos) (PESSOA, 2016). A ordem Agaricales, pertencente ao filo Basidiomycota, é composta por fungos denominados popularmente por cogumelos, caracterizados pela presença do himênio lamelado e por fungos clavarioides, afiloforoides e gasteroides (OLIVEIRA, 2014).

O gênero *Leucopaxillus* pertence a ordem Agaricales e família Tricholomataceae (MYCOBANK, 2020). Os fungos pertencentes a este gênero apresentam características macroscópicas de píleo convexo lamelado e volva robusta e branca (COIMBRA, 2013). Sabe-se que os compostos biologicamente ativos presentes no gênero apresentam potencial antioxidante (VIEIRA et al., 2013), anti-hipertensivo (GENG et al., 2015) e anticancerígena (CLERICUZIO et al., 2006). Entretanto, não foram encontrados estudos científicos em relação a atividade ansiolítica, antidepressiva e anticonvulsivante.

Há muitos anos, os cogumelos são empregados com finalidades nutricionais, medicinais e religiosas, especialmente em países orientais. No entanto, seus impactos no avanço da saúde estão sendo sustentados pelas revisões contemporâneas, associada à presença de substâncias químicas com propriedades biológicas (GLAMOCLIIJA; SOKOVIC; 2017, SAJON et al., 2018). Dentre esses compostos, foram identificados lectinas, polissacarídeos, peptídeos e

complexos polissacarídeos-proteínas que apresentam funções efetivas no organismo (REN et al., 2012; KALAC, 2012).

O *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), reconhecido como um cogumelo medicinal utilizado popularmente como antidepressivo por mais de 2000 anos, apresenta tais substâncias ativas com efeito neuroprotetor em casos de lesão na medula espinhal (EKINCI et al 2018) e resultados satisfatórios quanto a inibição do estado epiléptico (WANG, 2013). A psilocibina e psilocina são substâncias ativas encontradas principalmente nos gêneros *Psilocybe*, *Panaeolus* e *Conocybe* (ordem Agaricales). Estas, apresentam caracterização química de alcaloides indólicos da classe das triptaminas e, conseqüentemente, estrutura semelhante a serotonina. Esta aproximação química e estrutural proporciona efeitos psicomiméticos e grande potencial para o tratamento de pacientes com transtornos mentais (SANTOS et al., 2018, GARCIA, 2016).

Assim, baseado no elevado potencial biotecnológico dos fungos Agaricales do gênero *Leucopaxillus sp.* e no fato de que as síndromes e condições neurológicas, tais como transtornos da ansiedade, depressão e epilepsia são caracterizadas como doenças da sociedade moderna e encontram-se em crescimento positivo na população, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial ansiolítico, antidepressivo e anticonvulsivante do extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) em camundongos *swiss websters*.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 REINO FUNGI**

Os fungos são organismos eucariotos e podem ser unicelulares (formados por uma única célula, como por exemplo, leveduras), ou multicelulares (formados por duas ou mais células,

como por exemplo, os filamentosos) (MAIA; CARVALHO JÚNIOR, 2010). Estas células, geralmente são constituídas por dois núcleos e agrupadas em filamentos, caracterizados pela presença ou ausência de septos (SILVA; COELHO, 2006). Os seres pertencentes ao Reino Fungi são heterotróficos, obtendo nutrientes por absorção por meio do lançamento de enzimas aos substratos e absorção dos nutrientes através da parede e membrana celular (PEREIRA, 2011).

O reino Fungi é organizado com base em características peculiares, que incluem aspectos morfológicos (macroscópico, microscópico e ultramicroscópico), bem como fisiológicos (LOGUERCIO-LEITE et al., 2006). Neste sentido, o reino Fungi representa um grupo monofilético composto, tradicionalmente, por seis principais Filos: Neocallimastigomycota, Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota (BLACKWELL et al., 2012). Estes podem ser agrupados, pela presença de quitina na parede celular, pela nutrição absorptiva, glicogênio como substância de reserva e pela estrutura somática haploide ou dicariótica na maior parte do seu ciclo de vida (SANTOS, 2015).

A nutrição fúngica caracteriza-se, em sua maioria, em saprofítica ou parasitária, conforme o comportamento das espécies e a fonte da matéria orgânica que é absorvida. Os fungos Saprófitos absorvem moléculas orgânicas simples provenientes de organismos mortos, atuando na decomposição de moléculas (SILVA; COELHO, 2006). O processo de decomposição de lignina, desencadeia a liberação de dióxido de carbono para a atmosfera e devolve para o solo os compostos nitrogenados e outras substâncias, proporcionando, a sua reciclagem e utilização, direta ou indiretamente, por plantas e animais (SANTOS, 2015). Entretanto, o fato de os fungos saprofitos habitarem o solo e vegetais em decomposição favorece a formação de micoses subcutâneas em homens e animais, em sua grande maioria, indivíduos imunodeprimidos (STAHLING et al., 2019).

Os fungos parasitas obtêm matéria orgânica a partir de organismos vivos como plantas, animais ou outros fungos. Na natureza, os casos de parasitismo são importantes, na medida em que os fungos, entomopatógenos por exemplo, fazem o controle populacional de seus hospedeiros (SANTOS, 2015). Entretanto, devido ao seu método nutricional, essas espécies de fungos podem ser classificadas como patógenos para plantas ou animais. As leveduras são fungos capazes de colonizar homens e animais, frente à perda do equilíbrio parasita-hospedeiro, causando diversos quadros infecciosos com formas clínicas localizadas ou disseminadas. (ANVISA, 2013).

Durante o desenvolvimento fúngico, a fase vegetativa se apresenta como duas unidades morfológicas básicas, a leveduriforme e a hifal (PEREIRA, 2011). As células únicas, delimitadas e pequenas, são características de leveduras, enquanto as hifas são células polarizadas, na forma de tubos, que se estendem até suas extremidades. Os fungos hifais formam o micélio, caracterizado pelo conjunto de hifas, ramificadas ou não-ramificadas. Estas hifas, podem apresentar paredes transversais (septos), levando a formação de compartimentos individuais, e outras que não as apresentam (asseptadas) (LOGUERCIO-LEITE et al., 2006).

No decorrer da fase reprodutiva, o micélio forma estruturas assexuadas e/ou sexuadas que originam os esporos, principais estruturas responsáveis pela propagação dos fungos (MAIA; CARVALHO JÚNIOR, 2010), os quais exibem uma variedade de formas e são empregadas na sua classificação. Além da reprodução sexuada e/ou assexuada, os fungos podem desenvolver o fenômeno de parassexualidade, que consiste na recombinação genética na mitose (SILVA; COELHO, 2006).

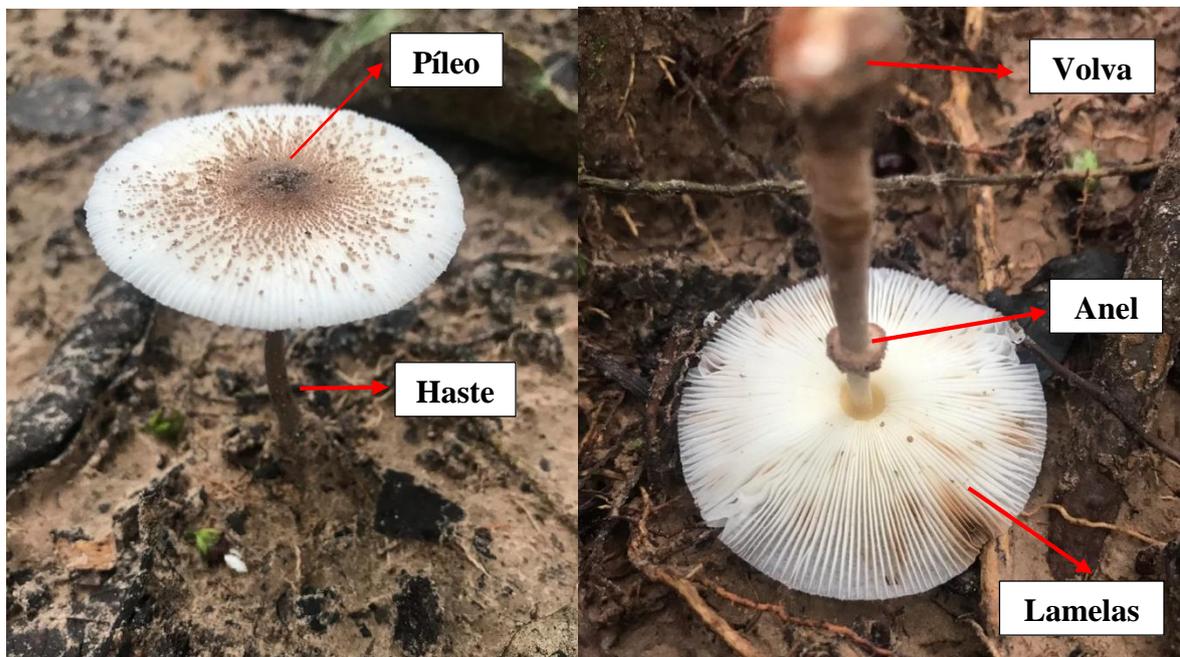
Estima-se que o reino Fungi apresente, cerca de 1,5 milhão de espécies com representantes habitando praticamente todos os ecossistemas existentes no planeta, sendo que, aproximadamente 70.000 foram descritas até o momento (SILVA; MALTA, 2016). Esta vasta diversidade fúngica apresenta grande potencial para estudos de aplicações biotecnológicas,

utilizando-os no biocontrole, secreção de metabólitos secundários, micoparasitismo, fonte de novos fármacos para a indústria farmacêutica, fonte de enzimas de interesse industrial, descrição e melhoramento de novas espécies e indústria alimentícia (ABREU et al., 2015).

## 2.2 FILO BASIDIOMYCOTA

Os fungos basidiomicetos são macrofungos com mais de 30.000 espécies, conhecidos popularmente por cogumelos, orelhas de pau, fungos gelatinosos, ferrugens ou carvões (GIMENES, 2010). São caracterizados principalmente pela presença da forma macroscópica (Figura 1), denominada basidioma, onde ocorre a produção de esporos (basidiósporos) e com a presença de hifas modificadas que originam pseudo-tecidos, os quais se diferem em píleo, estipe, lamelas, anel e volva (OLIVEIRA, 2014).

Figura 1. Principais estruturas morfológicas dos basidiomicetos.



Fonte: SILVESTRE, MAGALHÃES, 2018.

Os fungos basidiomicetos estão presentes em todas as regiões do planeta e em ambientes aquáticos e terrestres. Tratam-se de organismos essenciais para a manutenção dos ecossistemas, principalmente devido a sua atuação direta na decomposição da matéria orgânica morta. (SANTOS, 2015; ABREU et al., 2015).

Com base nas características morfológicas/anatômicas e microquímicas dos basidiomicetos, o filo Basidiomycota, comporta os fungos pertencentes a ordem Agaricales. Estas espécies, assim como muitos representantes do filo, revestem de grande importância por apresentar espécies comestíveis, medicinais, alucinógenos, micorrízicos, saprófitas e parasitas, sendo desta forma, de grande interesse do ponto de vista alimentício, etnológico, industrial e ecológico (SOUZA; AGUIAR, 2004).

### 2.3 ORDEM AGARICALES

Os fungos Agaricales são conhecidos popularmente como cogumelos e são caracterizados basicamente pela formação de um basidioma apresentando himênio lamelado, assim como o englobamento de fungos clavarioides, afiloforoides e gasteroides (COIMBRA, 2013). Durante a fase de reprodução sexuada, encontra-se presente o basidioma contendo basidiósporos, que, após a sua dispersão permite a permeabilidade da espécie. Após a dispersão dos basidiosporos, os basidiomas acabam apodrecendo ou sendo comidos por insetos, enquanto o organismo em si é formado pelo micélio vegetativo, que coloniza e explora o substrato (SOUZA; AGUIAR, 2004).

Tais fungos possuem diversas aplicabilidades, dentre estas, destacam-se o setor farmacêutico. O uso de Agaricales para o tratamento de doenças, trata-se de um técnica milenar, presente principalmente nos países asiáticos, causando impacto profundo nas relações humanas (FREITAS, 2013). Na medicina moderna, diversas pesquisas têm sido realizadas na busca por

novos tratamentos e fármacos capazes de combater doenças que, por muito tempo, afligem a humanidade. Entretanto, os fungos são as maiores e mais inexploradas fonte de recursos farmacêuticos, sendo os agaricales uma ilimitada fonte de polisacarídeos com atividades biológicas (COIMBRA, 2013).

Em 1991, através de um estudo científico foram identificados 136 gêneros e 1.011 espécies de agaricoides no mundo (OLIVEIRA, 2014). Em 2019, estão registrados no Programa Flora do Brasil, 138 gêneros e 924 espécies para essa ordem, das quais apenas 133 foram registrados na região amazônica (FLORA DO BRASIL, 2019). Neste sentido, nota-se que, a ordem Agaricales é extensa e diversificada, apesar de poucos indivíduos terem sido identificados na Amazônia, criando a possibilidade de sua maior exploração nesta região, especialmente com relação à suas propriedades biológicas (OLIVEIRA, 2014).

#### 2.4 FUNGOS *Leucopaxillus* sp.

O gênero *Leucopaxillus* pertence ao filo Basidiomycota, classe Agaricomycetes, ordem Agaricales e família Tricholomataceae (MYCOBANK, 2020). Em geral, os fungos pertencentes a este gênero, evidenciam características macroscópicas de píleo convexo, lamelado, vistoso e compacto, hastes e volva robustas e brancas. Microscopicamente, os basidiósporos podem ser elipsoides e esporos amiloides. Em sua maioria, as espécies do gênero *Leucopaxillus* apresentam crescimento disperso, gregário ou em grupos, em materiais orgânicos em decomposição (COIMBRA, 2013).

Sabe-se que existem 39 espécies registradas para o gênero *Leucopaxillus*. A espécie comestível *Leucopaxillus candidus* (Bres.) é recorrente entre agosto e novembro, na América do Sul, do Norte e na Europa. O basidioma deste cogumelo apresenta tamanho médio a grande (8 a 20 cm), com píleo convexo a plano, com a margem curvada e, em geral, com ranhura na

borda. A coloração do basidioma em geral é esbranquiçado ou creme pálido, a haste é curta, firme, robusta e branca (VIEIRA et al., 2016).

## 2.5 DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

### 2.5.1 Transtornos de ansiedade

A ansiedade consiste em uma resposta fisiológica e adaptativa do organismo ao meio e as situações em que vive, caracterizada por componentes psicológicos, sociais e fisiológicos que podem afetar o indivíduo em qualquer fase de seu desenvolvimento (GOMES, 2016). Entretanto, esta condição passa a ser considerada patológica, definindo-se como transtornos de ansiedade, quando caracterizada por estados desagradáveis de inquietação, tensão e apreensão, com tendência à cronicidade e, consequências para a vida diária dos indivíduos (GOYATÁ et al., 2016).

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), os transtornos da ansiedade podem ser classificados em Fobias, tais como: a fobia específica (apreensão, ansiedade ou esquiva de objetos ou situações circunscritas); fobia social (apreensão, ansiedade ou esquiva de interações e situações sociais que envolvem a possibilidade de avaliação); agorafobia (apreensão e ansiedade a acerca de duas ou mais das seguintes situações: usar transporte público; estar em espaços abertos; estar em lugares fechados; ficar em uma fila ou estar no meio de uma multidão; ou estar fora de casa sozinho em outras situações); transtorno de pânico (ataques de pânico inesperados recorrentes, encontra-se persistentemente apreensivo ou preocupado com novos ataques de pânico); transtorno de ansiedade generalizada (ansiedade e preocupação persistentes e excessivas acerca de vários domínios); transtorno de ansiedade induzido por substância/medicamentos; e transtorno de ansiedade devido a outra condição médica (DSM-5, 2014, ARAUJO; LOTUFO-NETO, 2000).

Os transtornos de ansiedade são um dos principais problemas de saúde mental dos brasileiros, principalmente entre a faixa etária situada entre 15 e 54 anos (MONTIEL et al., 2014). As manifestações de ansiedade apresentam início súbito, rico em sintomas físicos e com duração limitada no tempo. Os sintomas típicos são: sensação de sufocamento, de morte iminente, taquicardia, tontura, sudorese, tremores, sensação de perda do controle, alterações gastrointestinais, aumento da pressão sanguínea e de batimentos cardíacos, aumento da atividade motora com agitação e rigidez muscular e alterações respiratórias (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA, 2008; MONTIEL et al., 2014), indicativos da ativação geral do sistema autonômico.

A ansiedade é desencadeada por estímulos aversivos, induzindo uma resposta inadequada ao estresse, regulada pelo sistema nervoso, especialmente pela ativação inapropriada da amígdala, hipocampo e outras áreas do sistema límbico. O circuito geral do sistema límbico é composto pelo tálamo, hipotálamo, hipocampo, septo e complexo amigdalóide, substância cinzenta periaquedutal (PAG), locus coeruleus, núcleo dorsal da rafe, área tegmental ventral, núcleo tegmental dorsal, núcleo de Gudden e o córtex pré-frontal. Estas estruturas encefálicas são responsáveis pela análise de circunstâncias, comparação com experiências anteriores e promoção de reações de luta ou fuga. A comunicação entre essas estruturas é mediada por neurotransmissores e desencadeada pela manipulação de neuropeptídeos, hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), colecistoquinina, monoaminas, esteroides, como cortisol e aminoácidos L-glutamato, ácido  $\gamma$ -aminobutírico ácido (GABA) e glicina (CASTILLO et al., 2000; GELFUSO, et al., 2014; GOMES et al., 2016).

Durante uma situação de estresse, a amígdala e o hipocampo regulam os neurônios hipotalâmicos a secretar o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), o qual atua na hipófise anterior liberando e desencadeando o aumento na corrente sanguínea do hormônio

adrenocorticotrófico (ACTH) e induzindo a liberação do cortisol pela glândula adrenal (AFONSO et al.,1997; BANNERMAN et al., 2014; SABIHI et al., 2017).

O Cortisol atua como uma molécula de sinalização à agentes estressantes do sistema nervoso central (SNC). Como resultado, estruturas encefálicas preparam o organismo para lutar ou fugir, dividindo-se em duas etapas: curto prazo e longo prazo. As respostas de curto prazo levam à ativação do sistema simpático e liberação de adrenalina que aumenta a frequência cardíaca, nível de alerta e alterações na percepção. O estágio de longo prazo inclui a ativação do HPA, resultando em mobilização do fluxo sanguíneo e energia para os músculos, inibição da imunologia, alterações metabólicas, alteração nos padrões de sono, do humor e redução do limiar para crises convulsivas (GRUPE et al., 2013; GELFUSO et al., 2014; SABIHI et al., 2017).

A amígdala possui o papel de avaliar o estímulo aversivo e instruir estruturas executivas quanto ao tipo de reação de defesa a ser programado, acionando a matéria cinzenta periaquedutal dorsal (MCPD) em casos de perigo iminente. Estas ações, são reguladas principalmente pela serotonina (5-HT), neurotransmissor essencial no processo de ansiedade, e exerce um papel ansiogênico na amígdala e ansiolítico na MCPD. Os estímulos estressores alteram rapidamente a liberação e/ou captação de noradrenalina, serotonina e dopamina, os quais irão desencadear respostas em neurônios e estrutura encefálicas específicas. A elevação da noradrenalina na amígdala irá desenvolver a taquicardia e no hipocampo melhora a memória e o armazenamento. A liberação de dopamina no córtex pré-frontal, por sua vez, correlaciona-se com estados de hipervigilância. A 5-HT atua em diversas estruturas encefálicas e é indicada como um possível agente ansiogênico (AFONSO et al.,1997; SILVA-FILHO, SILVA, 2013; GRUPE et al., 2013; GELFUSO et al., 2014).

O neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA), o principal neurotransmissor inibitório do SNC, está presente em quase todas as regiões do cérebro, embora sua concentração

varie conforme a região, e desempenha papel fundamental no controle da ansiedade. Seu efeito ansiolítico decorre principalmente da redução da atividade neuronal no sistema límbico, inclusive na amígdala e no hipocampo. O GABA, ao ativar seu receptor  $GABA_A$  (receptor acoplado a canal iônico seletivo para o cloreto) causa a mudança de conformação e abertura dos canais de cloreto, causando o influxo de  $Cl^-$  e hiperpolarização da membrana do neurônio pós-sináptico, o que acarreta em redução da geração de impulsos nervosos (SABIHI et al., 2017; KASARAGOD, SCHINDELIN, 2019).

Possíveis disfunções no sistema dopaminérgico podem predispor a um quadro de fobia social. Identificou-se que há uma diminuição dos sítios de receptação de dopamina em pacientes com este diagnóstico em relação aos controles negativos, resultando em um baixo transporte de dopamina, devido à redução no número de sinapses ou dos sítios de receptação de dopamina por neurônio. Tal evidência também pode ser avaliada em experimentos animais, onde observa-se o aumento da procura por novidade, do comportamento exploratório e da agressividade em animais, ao relacionar com o aumento da transmissão dopaminérgica (KAUER-SANTANNA et al., 2002; ESPERIDIÃO-ANTÔNIO et al., 2007).

As principais estratégias de manejo dos transtornos de ansiedade são o uso de fármacos ansiolíticos por médio e longo prazo e/ou a psicoterapia cognitivo-comportamental. A terapia cognitivo-comportamental consiste em provocar uma mudança na percepção e raciocínio sobre o ambiente e especificamente sobre a causa da ansiedade e mudanças no comportamento ansioso (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA, 2008; CASTILLO et al., 2000).

Dentre os fármacos, os benzodiazepínicos (BZDs) estão entre os mais prescritos no mundo como ansiolítico e hipnótico, assim como miorrelaxante e anticonvulsivante. Os BZDs atuam como modeladores alostéricos positivos do receptor  $GABA_A$  aumentando a capacidade do neurotransmissor GABA de promover o influxo de cloreto e conseqüentemente hiperpolarizando os neurônios, diminuindo a frequência dos potenciais de ação e produzindo

depressão geral da atividade elétrica cerebral (ANDREATIN et al., 2001; SOARES et al., 2017). Além disso, neurônios GABAérgicos inibem a liberação de 5-HT pelos neurônios núcleos dorsais de Rafe, reduzindo a ativação de complexo amigdalóide, diminuindo a ansiedade e inibindo processos de memória emocional (GELFUSO et al., 2014)

### 2.5.2 Transtorno depressivo

A depressão é uma psicopatologia caracterizada por humor deprimido ou falta de motivação, perda de interesse ou prazer (anedonia), cansaço ou fadiga, alteração no peso corporal, prejuízo no sono, agitação ou retardo psicomotor, sentimento de inutilidade ou culpa, baixa capacidade de concentração ou tomada de decisão e/ou ideação suicida (CARDOSO, 2011). Estas manifestações clínicas, também podem estar acompanhadas de alterações somáticas e cognitivas que afetam significativamente as funções biológicas do indivíduo (DSM-5, 2014).

A prevalência de depressão ao longo da vida é estimada entre 10 e 15%, com mais de 350 milhões de pessoas afetadas atualmente. Esta ampla abrangência, pode estar associada aos diversos fatores de gênese, sendo estes, genéticos, neurobiológicos e ambientais (READ et al., 2017). O transtorno depressivo maior, apresenta uma prevalência global de aproximadamente 16% ao longo da vida, e é caracterizado por episódios distintos de pelo menos duas semanas de duração, identificando-se alterações nítidas no afeto, na cognição e em funções neurovegetativas. O transtorno depressivo persistente, trata-se de uma forma persistente de depressão, perpetuando por pelo menos dois anos em adultos e um ano em crianças (DSM-5, 2014, DEAN; KESHAVAN, 2017).

A fisiopatologia da depressão não foi totalmente elucidada e implica vários mecanismos, os quais não estão presentes em todos os pacientes, o que explica a variabilidade

de respostas dos indivíduos aos tratamentos específicos. Dentre os substratos neurais envolvidos na fisiopatologia da depressão destacam-se os sistemas serotoninérgicos, noradrenérgicos, dopaminérgicos e glutamatérgicos. Além disso, a fisiopatologia da depressão também pode envolver processos inflamatório, anormalidades no eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HPA), alterações vasculares e diminuição da neurogênese e neuroplasticidade (KESHAVAN, 2017).

Dentre as hipóteses da fisiopatologia da depressão, a mais aceita é de que a depressão está associada à alteração dos níveis de uma ou mais das monoaminas, incluindo 5-HT, noradrenalina (NE) e dopamina (DA). Esta possível via fisiopatológica é evidenciada pelo metabolismo reduzido da serotonina em pacientes diagnosticados com depressão, assim como pelo fato de que antidepressivos tricíclicos, inibidores da recaptção de serotonina e inibidores da recaptção de serotonina-noradrenalina aumentam os níveis de serotonina no cérebro e desencadeiam uma melhora no quadro clínico dos pacientes (MAHAR et al., 2014; YEUAN et al., 2015; DEAN et al., 2017).

Assim, sugere-se que para que ocorra efeito terapêutico dos antidepressivos são necessários níveis elevados de serotonina, assim como, de NE e dopamina em decorrência das suas inter-relações e atuações nas concentrações umas das outras. A dopamina apresenta efeito inibitório na liberação de NE no *locus coeruleus*, enquanto a NE tem um efeito excitatório e inibitório sobre a dopamina liberada na área tegmental ventral, enquanto a NE e a dopamina aumentam a liberação de serotonina do núcleo dorsal da Rafe. Nota-se que, os neurotransmissores monoamínicos não operam isoladamente, mas estão integralmente interconectados (BASTOS et al., 2011; LEE et al., 2013; KRZAK et al., 2017).

No entanto, esta hipótese falha em explicar por que os fármacos antidepressivos são efetivos apenas com o uso sustentado desses fármacos por períodos superiores a 4 semanas., fato que sustenta a hipótese da dessensibilização de receptores. Tal hipótese baseia-se nos

mecanismos autoreguladores que afetam os neurônios monoaminérgicos pré-sinápticos, local em que os antidepressivos causam a dessensibilização do receptor  $\beta$ -adrenérgico acoplado ao monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). O uso inicial de um fármaco antidepressivo clássico causa um aumento na concentração de neurotransmissores na fenda sináptica e inibição por retroalimentação da descarga neuronal através dos autorreceptores, causando uma estimulação inibitória e redução da descarga neuronal. Entretanto, o uso crônico destes fármacos induzem a uma regulação dos autorreceptores inibitórios, levando a um aumento da neurotransmissão e de AMPc, indicando o aumento da sinalização do segundo mensageiro através das vias da 5HT e/ou NE (MAHAR et al., 2014; YUAN et al., 2015; DEAN et al., 2017; KRZAK et al., 2017).

## 2.6 TRANSTORNOS NEUROLÓGICOS

### 2.6.1 Convulsão e epilepsia

A convulsão trata-se de uma contração involuntária dos músculos, associada a movimentos desordenados e perda da consciência. Esta condição se desenvolve devido ao aumento excessivo da atividade elétrica em determinadas áreas encefálicas, desencadeadas por situações como, hemorragia, intoxicação por produtos químicos, falta de oxigenação no cérebro, efeitos colaterais provocados por medicamentos, crises febris, ou doenças como tétano, meningite e epilepsia (BVS, 2004; THOMAS, 2010; MARIANI, 2013).

A epilepsia é uma doença encefálica crônica de etiologias variáveis e caracterizada pela recorrência de crises convulsivas não provocadas, as quais podem apresentar consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais, prejudicando diretamente a qualidade de vida do indivíduo afetado. Esta condição caracteriza-se por alterações transitórias das atividades neuronais e podem se manifestar através de crises convulsivas ou crise de ausência (BRASIL, 2013a; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EPILEPSIA, 2017).

As crises convulsivas, são o tipo mais comum, apresentando uma prevalência mundial em torno de 0,5-1,0% da população. São desencadeados a partir de um excesso anormal de disparos de neurônios no encéfalo resultando em diversos sintomas, como: olhar fixo, rigidez muscular (movimentos tônicos), espasmos musculares e consciência prejudicada (KANDRATAVICIUS et al., 2014; MOEZI et al., 2015; BRASIL, 2018).

As epilepsias também são classificadas em generalizadas e focais. Nas crises generalizadas ocorrem o envolvimento de ambos os hemisférios simultaneamente, desencadeando alteração da consciência e manifestações motoras bilaterais (crises de ausência, crises mioclônicas e crises tônico-clônicas generalizadas [TCG] são seus principais exemplos). Nas epilepsias focais, as crises epiléticas iniciam em uma área específica do encéfalo, proporcionando uma variabilidade de manifestações clínicas, conforme o local de início e da velocidade de propagação da descarga. Entretanto, quando uma crise focal se propaga para todo o córtex cerebral, pode terminar numa crise TCG (BRASIL, 2013b, YACUBIAN; KOCHEN, 2014).

Perturbações no ciclo glutamato-glutamina do cérebro, aumento dos níveis extracelulares de glutamato, perda de glutamina sintetase e alterações na glutaminase e glutamato desidrogenase, são frequentemente encontradas em pacientes com epilepsia. Portanto, manipulações de componentes discretos do ciclo glutamato-glutamina podem representar novas abordagens para o tratamento da doença, em vista que, alguns pacientes não apresentam resposta terapêutica (EID et al., 2016).

Supõe-se, em geral, que as convulsões resultam de um desequilíbrio da sinalização excitatória e inibitória. Nos neurônios, a sinalização inibitória é amplamente alcançada através do neurotransmissor GABA que atua nos receptores ionotrópicos GABA<sub>A</sub>, caracterizados como canais iônicos condutores de cloretos heteropentaméricos, compostos por 5 subunidades: duas  $\alpha$ , duas  $\beta$  e uma  $\gamma$ . GABA é o principal neurotransmissor inibitório no córtex cerebral, onde

desempenha um papel fundamental no controle da excitabilidade neuronal, processamento de informações, plasticidade neuronal e sincronização de rede. Agregando-se os fatos, acredita-se que uma possível diminuição da concentração e metabolismo do GABA podem desempenhar um papel importante na origem e disseminação da atividade convulsiva na epilepsia (KIRIMLIOGLU et al., 2015; HAMMOND et al., 2016; AMIN et al., 2017).

O objetivo do tratamento farmacológico da epilepsia é propiciar a melhor qualidade de vida para o paciente, por meio de um controle das crises convulsivas, com o emprego de baixas doses terapêuticas e, conseqüentemente, menor grau de manifestação de reações adversas (BRASIL, 2013b). Dentre os fármacos para cessar a crise convulsiva, os benzodiazepínicos são os de primeira escolha, como o diazepam endovenoso na dose de 0,2 a 0,3 mg/kg/dose ou, na falta de acesso venoso, o midazolam, na dose de 0,2 a 0,7 mg/kg, que pode ser administrado por via intramuscular, retal ou intranasal (SIQUEIRA, 2010).

Estas classes de fármacos atuam como modeladores alostéricos positivos do receptor GABA<sub>A</sub>, incrementando a capacidade do neurotransmissor GABA de aumentar o influxo de cloreto e conseqüente hiperpolarização de neurônios (ANDREATIN et al., 2001; SOARES et al., 2017). Assim, os benzodiazepínicos agem facilitando a ação sináptica do neurotransmissor inibitório GABA, aumentando a frequência com que os canais de cloreto são abertos, causando a neurotransmissão inibitória crescente e conseqüentemente a redução da excitabilidade neuronal (VAJDA et al., 2014).

## 2.7 FUNGOS AGARICALES E DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

Os fungos agaricoides são reconhecidos como alimentos funcionais e como fontes para o desenvolvimento de medicamentos e nutracêuticos devido à grande diversidade de biomoléculas com propriedades nutricionais e medicinais (OLIVEIRA, 2014). São constituídos

por carboidratos, fibras, proteínas, aminoácidos essenciais, minerais, algumas vitaminas como riboflavina, niacina e folato, além de baixos teores de lipídeos (PAULI, 2010). Estas substâncias frequentemente sofrem variações quantitativas e qualitativas inter e intraespécie de acordo com o tipo de cogumelo, composição do meio de cultura, período de colheita e preparação dos substratos (SEABRA, 2015).

O potencial farmacêutico dos agaricoides está associada a produção de enzimas, proteínas, polissacarídeos, terpenos, esteroides, antraquinonas, ácido benzoico, quinolonas, ácido oxálico e peptídeos. Dentre estes, destacam-se os polissacarídeos, os quais, proporcionam o funcionamento adequado dos órgãos metabólicos como o fígado, pâncreas e outros órgãos endócrinos, assegurando o funcionamento metabólico saudável (OGBOLE et al., 2019; WANG et al., 2019; YASIN et al., 2019; KALETA et al., 2019)

Estas substâncias bioativas estão associadas as atividades biológicas, sendo estas, atividade anti-inflamatória (GAO et al., 2017), efeito renal-protetor (GAO et al., 2018), efeitos antioxidantes (GAO et al., 2019), atividade antimelanogênica (SAAD et al., 2018), imunorregulador (ZHAO et al., 2018), ação antinociceptiva (RUTHES et al., 2013), atividade neurotrófica e anti-neuroinflamatória (YIN et al., 2019), atividade ansiolítica (ZHANG et al., 2015) e ação anticancerígena (HU et al., 2018).

Psilocibina e psilocina são substância ativas produzidas por diversas espécies de cogumelos Agaricales, especialmente dos gêneros *Psilocybe*, *Panaeolus* e *Conocybe*, as quais foram isoladas pela primeira vez em 1958 a partir do cogumelo mexicano *Psilocybe*. São classificados como alcaloides indólicos da classe das triptaminas e, de estrutura semelhante a serotonina (GARCIA, 2016; FERREIRA et al., 2018).

A psilocibina, identificada como um éster de ácido fosfórico de 4-hidroxi-dimetiltriptamia, ao ser ingerida desfosforoliza rapidamente pela fosfatase alcalina, formando a psilocina, substância mais psicoativa (GARCIA, 2016). Os efeitos psicomiméticos

observados após o consumo desta substância derivam da estimulação dos receptores centrais. Os efeitos biológicos são caracterizados por uma fase de excitação psíquica que precede manifestações autonômicas (taquicardia, midríase, salivação, pressão arterial elevada, hiperglicemia, piloereção e hipertemia) (MANDRILE et al., 1984). Evidências experimentais sugeriram que tais substâncias apresentam grande potencial para o tratamento de pacientes com depressão grave (GARCIA, 2016; FORTÓ, 2018).

O extrato de *Agaricus brasiliensis* (Ordem Agaricales) apresentou efeito ansiolítico em ratos com isquemia cerebral induzida por oclusão da artéria cerebral média e supõe-se que o mecanismo de atuação pode ser o aumento dos níveis de monoamina no cérebro e dos níveis plasmáticos de corticosterona e diminuição do estresse oxidativo (ZHANG et al., 2015). Os exopolissacarídeos obtidos durante a fermentação submersa de *Marasmius androsaceus* (Ordem Agaricales) apresentam efeitos antidepressivos e sugerem que o sistema de neurotransmissores monoamínicos está envolvido (SONG et al., 2017).

## 2.8 FUNGOS AGARICALES DO GÊNERO *Leucopaxillus* E DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

Os fungos do gênero *Leucoaxillus* são constituídos majoritariamente por carboidratos e proteínas, baixo teor de lipídios e substâncias bioativas (enzimas, terpenos, esteroides, antraquinonas, dentre outras), os quais são variáveis em diferentes espécies. Atualmente, não foram encontradas evidências que sustentem que os fungos Agaricales do gênero *Leucopaxillus* apresentem eficácia no tratamento de doenças neuropsiquiátricas. Em contrapartida, não pode-se inferir que tal resultado seja dependente do potencial de atividade, mas sim, associado aos baixos índices de pesquisa com o gênero (VIEIRA et al., 2016; OGBOLE et al., 2019).

Entretanto, sabe-se que estes compostos biologicamente ativos apresentam potencial antioxidante (VIEIRA et al., 2013), anti-hipertensivo (GENG et al., 2015) e anticancerígeno (CLERICUZIO et al., 2006).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial ansiolítico, antidepressivo e anticonvulsivante do extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) em camundongos swiss.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar e identificar fungos Agaricales amazônicos;
- Produzir o extrato alcoólico micelial de fungos Agaricales amazônicos;
- Analisar a citotoxicidade dos extratos alcoólicos miceliais sobre células HepG2;
- Investigar o efeito de extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* sobre a resposta comportamental no teste do labirinto em cruz elevado;
- Estudar o efeito de extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* sobre a resposta comportamental no teste do nado forçado;
- Conhecer o efeito de extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* sobre a convulsão induzida por pentilenotetrazol.

### 4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram realizadas no Parque Zoobotânico ( $9^{\circ}57'8''S$  -  $67^{\circ}52'25''W$ ) localizado na Universidade Federal do Acre (UFAC), em Rio Branco e na Fazenda Experimental Catuaba - UFAC ( $10^{\circ} 04' 27.99''S$ - $067^{\circ} 37' 00.00''W$ ), situada no município de Senador Guiomard, ambos pertencentes ao estado do Acre (Figura 2). Trata-se de remanescentes de um fragmento florestal urbano e uma área de conservação para o desenvolvimento de pesquisas.

Figura 2. Locais de coleta. A: Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre. B: Fazenda Experimental Catuaba – UFAC.



Fonte: Google Maps

#### 4.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO

A coleta de fungos Agaricales (previamente autorizado pelo SISBIO sob o número de solicitação 7229) foi realizada de acordo com Gimenes (2010), no período da manhã, entre os meses de outubro de 2018 a abril de 2019. Os cogumelos foram coletados em trilhas pré-existentes do Parque Zoobotânico e na Fazenda Experimental Catuaba. Inicialmente, os fungos foram registrados com câmera fotográfica e, em seguida, coletados com auxílio de bisturi e acondicionados em caixas organizadoras (figura 3). As anotações de campo foram realizadas em um livro de protocolo associadas as suas informação de números do acervo, dados de campo e características do substrato.

Foram coletadas as espécimes que obedecessem aos critérios de inclusão: fungos frescos, maduros e não encontrados em coletas anteriores; como critérios de exclusão: fungos que não pertenciam a ordem Agaricales, basídios envelhecidos, mal estado de conservação ou imaturos.

Figura 3. Coleta de fungos Agaricales.



Legenda. A: Fotografia realizada dos Fungos agaricales em seu substrato durante a coleta no Parque Zoobotânico da UFAC. B: Fungos agaricales coletados e armazenados em caixas.  
Fonte: Autoria própria.

Os exemplares de fungos coletados foram numerados e encaminhados ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Acre, onde foram confeccionadas exsicatas, através da desidratação do material em estufa a 45 °C durante 24 - 48 horas.

Para a identificação dos fungos, foram empregados os métodos clássicos de avaliação Macroscópica e Microscópica, conforme Vargas-Isla e colaboradores (2014) (Figura 4). Na identificação macroscópica foram observadas as estruturas Píleo (forma, coloração, consistência, superfície, margem, diâmetro); Lamelas (fixação ao estipe, coloração, distância); e Estipe (forma, superfície, presença ou não de anel, volva, rizomorfa, micélio na base e

comprimento) (LARGENT, 1986; MUELLER et al. 2004). Para a identificação microscópica, foram feitos cortes a mão livre dos basidiomas e colocados entre lâmina e lamínula com hidróxido de potássio a 3%. Após a montagem das lâminas foi observada a reação amiloide ou dextrinoide das hifas, basidiósporos e outras microestruturas (LARGENT, 1977; RYVARDEN, 1991; GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998; GIMENES, 2010).

Figura 4. Identificação macroscópica dos cogumelos. Fungo nº5.314, ordem Agaricales, coletado no Parque Zoobotânico.



Fonte: Autoria própria.

Para identificação taxinômica foram utilizadas bibliografias específicas com chaves de identificação (RYVARDEN; JOHANSEN, 1980; GILBERTSON; RYVARDEN, 1986; GILBERTSON; RYVARDEN, 1987; RYVARDEN, 1991, 2004, 2010, 2015; NUNEZ; RYVARDEN, 1995; PEGLER, 1983, 1997) e banco de dados Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) e Mycobank (<http://www.mycobank.org/>).

#### 4.3 ISOLAMENTO E PRODUÇÃO DO EXTRATO MICELIAL

Para o isolamento dos fungos, fragmentos do basidioma foram retirados, desinfetados superficialmente em hipoclorito 10% por 2 minutos e em água destilada. Após a desinfecção superficial, os fragmentos de aproximadamente 5 mm<sup>2</sup> foram transferidos para placa de Petri contendo meios Batata Dextrose Ágar/BDA (200g de batata, 20g de Dextrose, 15g de Ágar e 1000 ml de água destilada), Aveia (200g de batata, 20g de Dextrose, 15g de Ágar e 1000 ml de água destilada), Serragem (20g de serragem de cedro, 20g de farelo de trigo, 2g de carbonato de cálcio, 20g de Ágar e 1000ml de água destilada), Arroz (30g farelo de arroz, 15g de Ágar e 1000ml de água destilada); ou Malte (30g extrato de malte, 15g de Ágar e 1000ml de água destilada). Ressalta-se que, em cada meio foram acrescentados 100 µg mL<sup>-1</sup> de cloranfenicol e 100 µg mL<sup>-1</sup> de benomil, a fim de evitar o crescimento de bactérias (ALFENAS et al., 2007). As amostras foram incubadas a 28°C, em estufa BOD, por sete dias para crescimento das colônias.

Os fungos coletados e que apresentavam critérios de seleção (possíveis de isolamento e maior e/ou mais rápido crescimento micelial) foram isolados e, em seguida, purificados em placas de petri contendo 20g de meio BDA. Após completo crescimento foram transferidos para frascos de Erlenmeyer, contendo 200ml de meio Batata-Dextrose (BD) e incubados sem agitação, a 28°C em BOD, no escuro, por 14 dias. Após esse período, o conteúdo do Erlenmeyer foi filtrado em papel filtro, e o micélio foi seco em estufa, triturado e submetido a extração por maceração com etanol 96% por 24 h, sendo esta etapa repetida três vezes (ATHAYDE, 2011). Posteriormente, as amostras foram filtradas e secas a 37°C, calculados os rendimentos dos extratos, e estes ressuspensos em metanol associado ao banho-maria.

O rendimento médio do extrato foi calculado utilizando a seguinte fórmula: rendimento (%) = peso do extrato (g) / peso do meio de cultivo (g) x 100 (FARMACOPÉIA BRASILEIRA 2010).

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS HepG2

A determinação *in vitro* da citotoxicidade do extrato de fungos Agaricales, realizada na Fundação Oswaldo Cruz Rondônia – Porto Velho, empregou a linhagem celular HepG2, uma linhagem celular de hepatoblastoma humano. O ensaio constituiu em avaliar a viabilidade celular após incubação com diferentes concentrações do extrato (7,8125; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250; 500 µg/ml) e determinada através do método colorimétrico do MTT (3-[(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio]), o qual baseia-se na redução do sal tetrazolato pela enzima hidrogenase succínica presente na mitocôndria das células, as quais adquirem uma coloração violácea que é medida por espectrofotometria (OLIVEIRA, 2010).

Para tal, após o período de incubação foi adicionado em cada poço, 20 µL de MTT a uma concentração de 5 mg/mL-1 em PBS (p/v) e as placas incubadas por quatro horas em estufa à 37 °C. Ao final desse período, o sobrenadante de cada poço foi desprezado e 100 µL de DMSO (Sigma-Aldrich) foi adicionado a cada poço.

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> foi possível estimar a dose de tratamento com os extratos.

#### 4.5 DOSES DE TRATAMENTO DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Leucopaxillus sp.*

Após a identificação macroscópica, microscópica, produção e rendimento do extrato e teste de citotoxicidade, o fungo 5.273 do gênero *Leucopaxillus* foi escolhido para a realização dos testes comportamentais.

As doses de tratamento do extrato alcoólico de *Leucopaxillus* sp. (EAL) foram estabelecidas a partir da determinação da concentração citotóxica em 50% das células HepG2 (CC<sub>50</sub>). Desta forma, as concentrações do EAL empregados para a avaliação da atividade ansiolítica, antidepressiva e anticoncussivante foram de 20, 100 e 200 µg/ml, equivalente a aproximadamente 0.5, 2 e 4 vezes a CC<sub>50</sub>, respectivamente. Portanto, determinou-se como dose de trabalho 0,33 mg/Kg (20 µg/ml), 1,60 mg/Kg (100 µg/ml) e 3,30 mg/Kg (200 µg/ml).

#### 4.6 FÁRMACOS E EXTRATOS

A seguir, estão descritos os fármacos e extratos utilizados na presente pesquisa:

- Diazepam (União Química): solução de diazepam na dose de 0,06 mg/30g de peso corporal (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 na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal.
- Cloridrato de Sertralina: solução de sertralina na dose de 10 mg/Kg (PORSOLT et al., 1977). A solução foi prepara a partir da reconstituição e diluição do comprimido de 50 mg de sertralina em solução fisiológica 0,9 % e administrada por via oral na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal.
- Pentilenotetrazol (PTZ): Solução de PTZ nas doses de 80 mg/kg, reconstituído em solução fisiológica 0,9 % e administrada por via intraperitoneal na relação de 0,5 ml de solução/30g de peso corporal.

- Extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.*: foi empregado nas doses de 0,33 mg/Kg (20 µg/ml), 1,60 mg/Kg (100 µg/ml) e 3,30 mg/Kg (200 µg/ml). 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.

#### 4.7 ANIMAIS

O presente estudo utilizou camundongos da linhagem swiss webster machos adultos pesando entre 30-35g (aproximadamente 7-8 semanas de idade), fornecidos pelo Biotério de Criação do escritório técnico Fiocruz Rondônia. Os animais foram mantidos em gaiolas próprias, com temperatura controlada a  $22 \pm 2$  °C, em um ciclo claro/escuro de 12 h (luzes acesas às 7 h), e tratados com água e ração *ad libitum*.

Os camundongos foram divididos em grupos de 7 indivíduos, baseado na fórmula para cálculo do n amostral,  $n = 1 + [2C * (s/d)^2]$ , de acordo Eng (2003), onde C é dependente dos valores escolhidos para a força ou poder do teste ( $1-\beta$ : chance de encontrar uma diferença existente) e nível de significância ( $\alpha$ : a chance de considerar dois grupos diferentes quando eles não o são). Considerando  $p < 0,05$ , o valor de  $\alpha$  foi de 0,05 é o desvio padrão aceitável de acordo com a projeção (baixo desvio padrão) e d foi a diferença esperada entre os grupos. Foram assegurados a ausência de fatores que possam interferir na resposta comportamental tais como flutuações da temperatura ambiente, de ruídos e diferentes horários de experimentação (TJØLSEN et al., 1992).

Todos os modelos experimentais *in vivo* usados no presente estudo foram conduzidos de acordo com as orientações éticas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, seguindo a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais Para Fins Científicos e Didáticos - DBCA dos Princípios éticos de experimentação animal. A

presente pesquisa encontra-se autorizada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fundação Oswaldo Cruz/Rondônia, sob nº 2018/11 (ANEXO I).

#### 4.8 MODELOS EXPERIMENTAIS *in vivo*

##### 4.8.1 Teste do labirinto em cruz elevado

O teste labirinto em cruz elevada foi realizado de acordo com o método proposto por Boerngen-Lacerda e Souza-Formigoni (2000). Trata-se de um experimento empregado para o estudo da neurobiologia da ansiedade que permite avaliação de drogas com atividade ansiolítica ou ansiogênicas (HALLER & ALICKLI, 2012), baseado na aversão natural de camundongos para áreas abertas e elevadas, bem como em seu comportamento exploratório espontâneo natural em novos ambientes (KOMADA et al., 2008).

Para a realização do teste, foi utilizado um aparato feito de madeira, elevado a 50 cm do solo, constituído de dois braços opostos sem paredes (braços abertos) medindo 50x10 cm e dois braços opostos com paredes (Braços fechados) de 40 cm de altura, sob iluminação sob iluminação com lâmpada vermelha de 60W disposta à 120 cm do aparato.

Os assoalhos dos braços abertos e fechados possuem igualmente a mesma medida e estão dispostas perpendicularmente umas às outras, delimitando uma área central com 10 cm<sup>2</sup> (Figura 5).

Figura 5. Labirinto em cruz elevada sob iluminação vermelha.



Fonte: A autoria própria.

Para a realização do presente teste, os camundongos foram colocados na sala de experimento por, pelo menos, 1 semana em condição, sob iluminação com lâmpada vermelha e ciclo claro-escuro invertido. Os animais foram tratados por via oral com 3 diferentes doses do EAL (20, 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$ ). Como grupos de controle experimental foi empregado o tratamento com salina (volume correspondente ao empregado no grupo tratado) e outro grupo controle formado por animais tratados com diazepam (0,06 mg/kg). Após 1 hora da administração, os animais foram posicionados na região central de frente para um dos braços abertos e observado durante 5 minutos e filmados para análise posterior (Figura 6).

As seguintes medidas comportamentais clássicas foram consideradas para análise: (1) número de entradas nos braços abertos; (2) número de entradas nos braços fechados; (3) número total de entradas; (4) tempo de permanência nos braços abertos; (5) tempo de permanência nos braços fechados; e (6) tempo de permanência no centro do LCE. Uma entrada em um dos braços do labirinto foi considerada somente quando as quatro patas do animal atravessavam o limite daquele braço. Foram consideradas ainda a (7) porcentagem de entradas nos braços abertos e a (8) porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do LCE, calculadas conforme as

seguintes fórmulas: % Entradas nos Braços Abertos = Entradas nos Braços Abertos / (Entradas nos Braços Abertos + Entradas nos Braços Fechados) x 100; % Tempo nos Braços Abertos = Tempo nos Braços Abertos / (Tempo nos Braços Abertos + Tempo nos Braços Fechados) x 100.

Figura 6. Teste do labirinto em cruz elevado.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.8.2 Teste do nado forçado

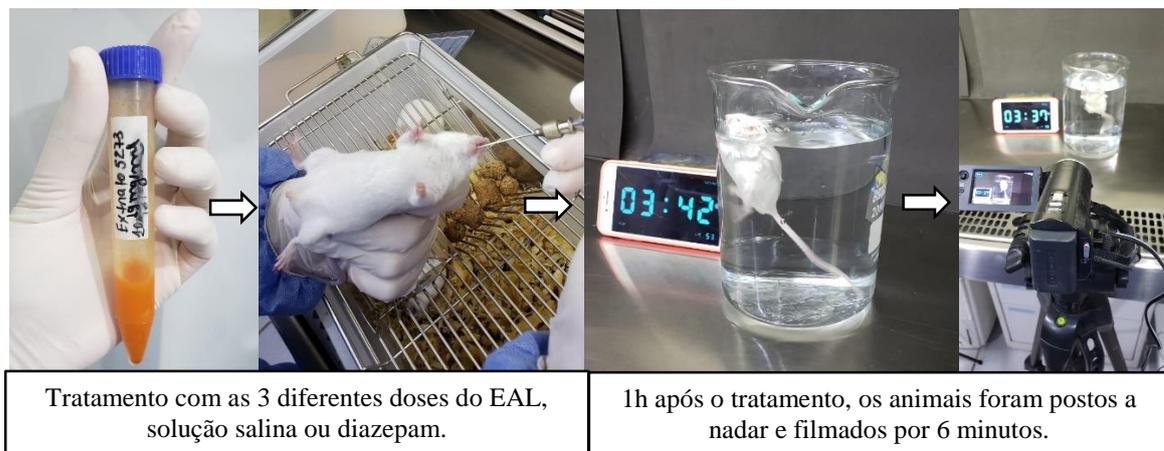
O teste do nado forçado foi realizado de acordo com Porsolt e colaboradores (1977) e é um dos principais testes comportamentais em roedores empregados na busca de novos fármacos com atividade antidepressiva. O modelo consiste em submeter os camundongos ao nado em um recipiente plástico transparente de 2 L preenchido com 13 cm de água (1600 ml) em temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), com profundidade suficiente para que o camundongo não seja capaz de tocar o fundo do recipiente com a cauda.

Foi avaliado o efeito da administração oral subcrônica do EAL sobre a duração total de comportamento de imobilidade e nado em camundongos submetidos ao teste. Esta administração sub crônica consistiu em 3 administrações consecutivas nos tempos 23.5, 5 e 1

hora antes do início do teste. Como grupo controle positivo de inibição da imobilidade e aumento do nado, foi administrado subcronicamente a sertralina (10 mg/Kg), um fármaco da classe dos antidepressivos inibidores seletivos da recepção de serotonina.

Após os tratamentos os camundongos foram colocados, individualmente, para nadar durante 6 minutos, onde foi registrado o número de turnos de imobilidade e a sua duração, em segundos, exibidos pelo animal durante a sessão. A imobilidade é definida como a cessação de todos os movimentos do camundongo, exceto aqueles necessários para manter-se flutuando, tal como remar levemente com uma pata. Todas as sessões de nado foram filmadas e gravadas em mídia eletrônica para posterior análise (Figura 7).

Figura 7. Teste do nado forçado.



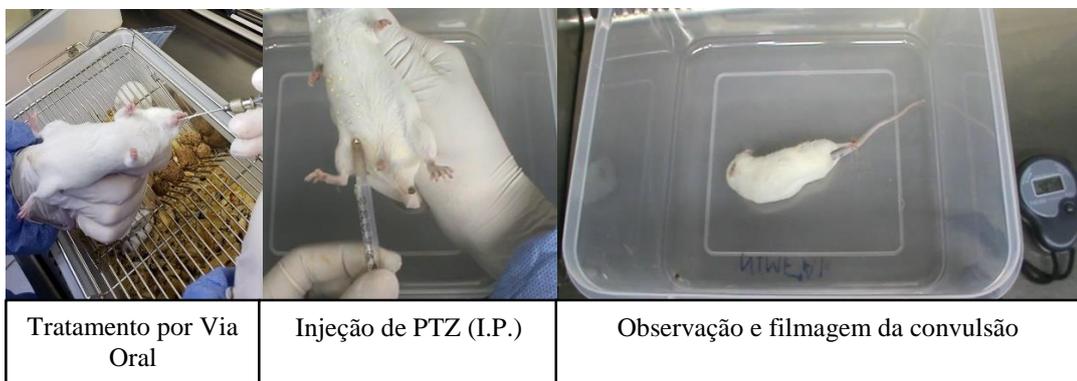
Fonte: A autoria própria.

#### 4.8.3 Teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol

A convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ) é um quadro clínico observado na crise de ausência e as drogas empregadas no tratamento desse tipo de epilepsia também suprimem as convulsões desencadeadas nesse modelo (MARESCAUX et al., 1984). No dia do experimento os animais foram tratados por via oral com 3 diferentes doses do EAL e como grupo controle, foi empregado o tratamento com salina (volume correspondente ao utilizado no

grupo tratado) e grupo controle positivo constituído por animais tratados com diazepam (0,06 mg/kg). Após 1 hora da administração dos tratamentos, os animais receberam uma única injeção intraperitoneal de PTZ (80 mg/Kg). A latência para a primeira convulsão, a latência de morte e a porcentagem de morte após a administração de PTZ foram os parâmetros avaliados no experimento (Figura 8).

Figura 8. Convulsão induzida por PTZ.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.9 MÉTODO DE EUTANÁSIA

No final dos experimentos, os animais foram eutanaziados por overdose anestésica com ketamina (500 mg/Kg) + xilasina (50 mg/Kg) e posteriormente adequadamente descartados.

#### 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

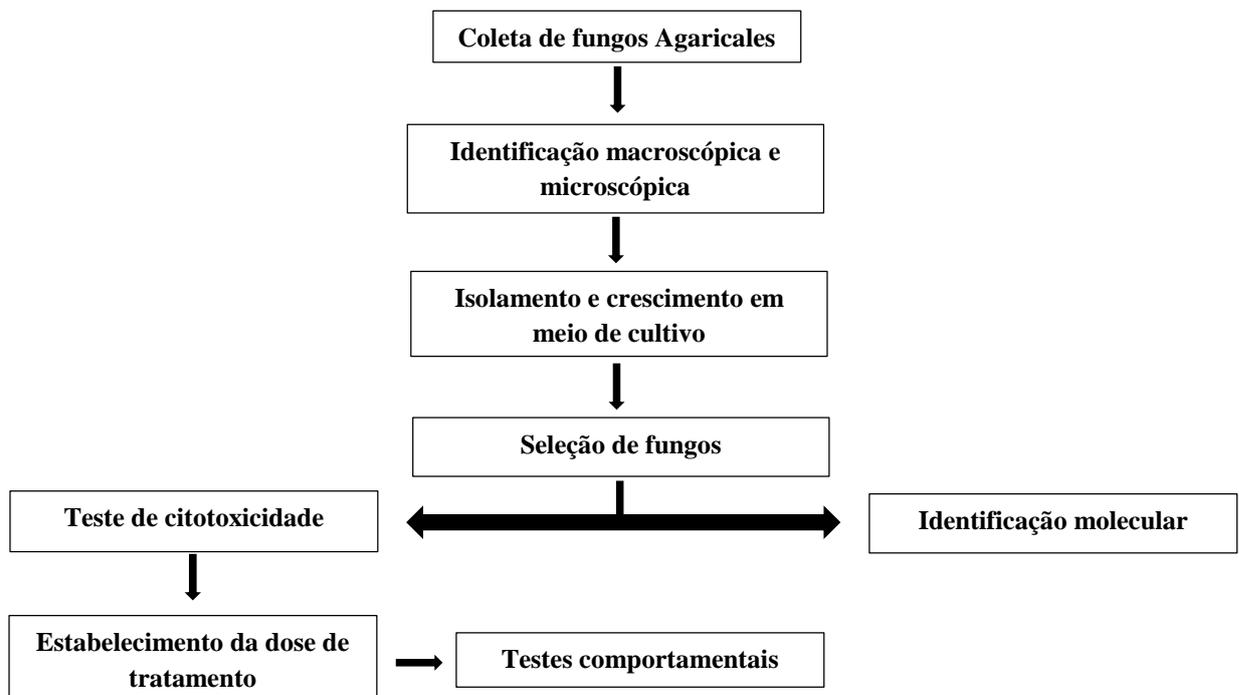
Considerando a homogeneidade e normalidade dos dados, a influência dos diversos tratamentos sobre as variáveis estudadas, em função do tempo, foi estatisticamente analisada através de análise multivariada de variância de dois fatores (One way ANOVA), quando for o caso, para comparar os grupos. Os fatores analisados foram tratamento, tempo e a interação tratamento x tempo. Nos casos em que houve diferença estatisticamente significativa entre os

tratamentos ou interação significativa tratamento x tempo, foi realizado teste post hoc de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico Graphpad Prism 6, e o nível de significância foi fixado em 0,05.

#### 4.11 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

A figura 09, representa o resumo metodológico, empregado neste estudo.

Figura 9. Fluxograma do resumo metodológico.



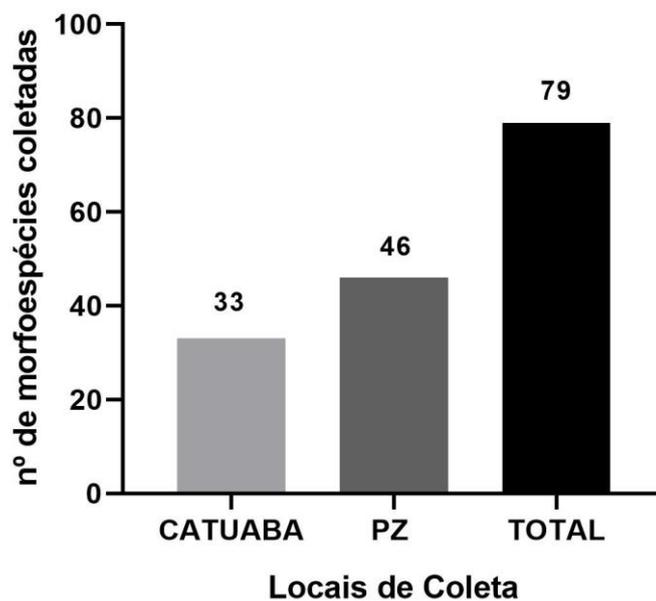
Fonte: Autoria própria

## 5 RESULTADOS

### 5.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO

Foram coletadas 79 morfoespécies da ordem Agaricales, das quais 46 foram coletadas no Parque Zoobotânico/UFAC ( $\cong 58,22\%$ ) e 33 na Fazenda Experimental Catuaba ( $\cong 41,77\%$ ) (Figura 10).

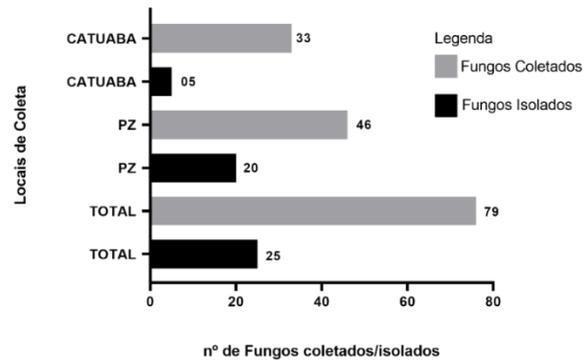
Figura 10. Quantitativo de morfoespécies de fungos Basidiomicetos da ordem Agaricales coletadas na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre.



CATUABA = Fazenda experimental Catuaba; PZ UFAC = Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre; TOTAL = soma de todos os fungos coletados. Os números representados acima das colunas indicam o número de espécimes coletado em cada local de coleta.

Dos 79 fungos Agaricales coletados foi possível o isolamento (crescimento em meio de cultura) de apenas 25 morfoespécies ( $\cong 31,64\%$ ), dos quais 5 ( $\cong 6,32\%$ ) foram coletadas na Fazenda Catuaba e 20 ( $\cong 25,31\%$ ) no Parque Zoobotânico (Figura 11).

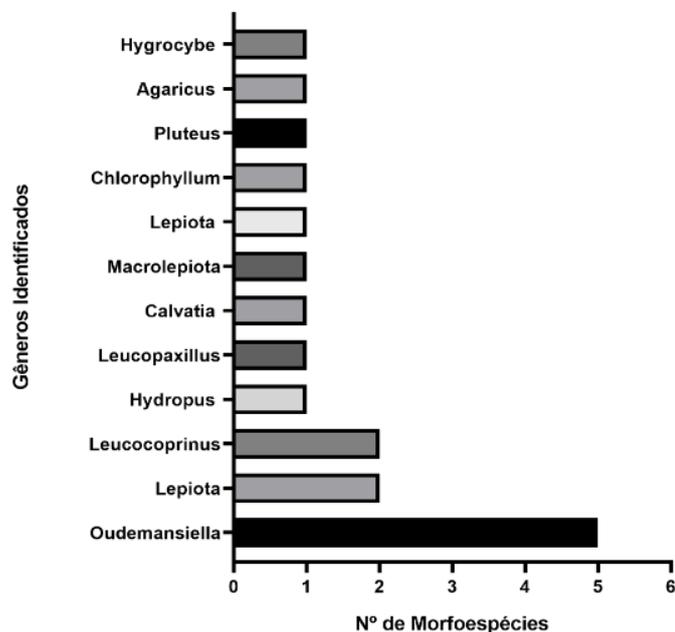
Figura 11. Número de morfoespécies de fungos Basidiomicetos da ordem Agaricales coletado e isolado da ordem Agaricales na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre.



CATUABA = Fazenda experimental Catuaba; PZ = Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre; TOTAL = soma de todos os fungos coletados. Os números representados ao lado das colunas indicam o número de espécimes coletado em cada local de coleta.

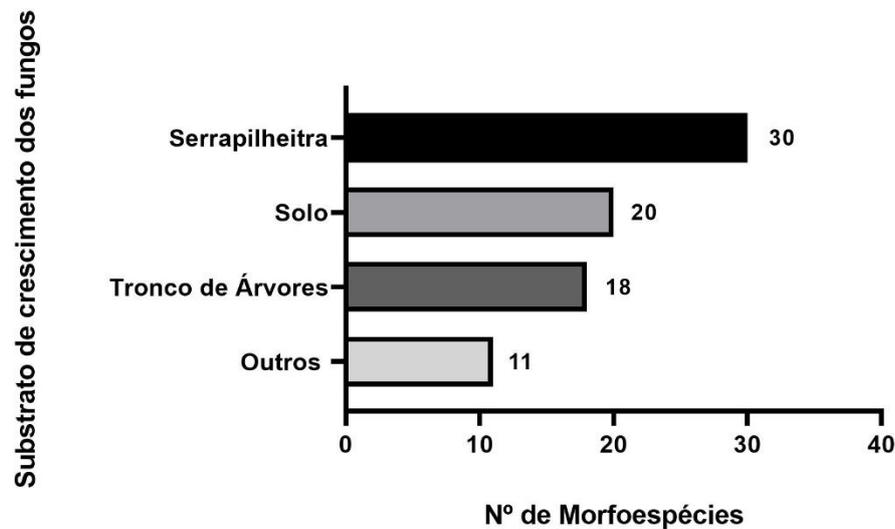
Além disso, dos 79 fungos coletados e 25 isolados, foram identificadas 18 morfoespécies ( $\cong 22,78\%$ ) ao nível de 12 gêneros (*Oudemansiella*, *Lepiota*, *Leucocoprinus*, *Hydropus*, *Leucopaxillus*, *Calvatia*, *Macrolepiota*, *Lepiota*, *Chlorophyllum*, *Pluteus*, *Agaricus* e *Hygrocybe*). Nota-se que ocorreu a dominância dos gêneros *Oudemansiella* (5 morfoespécies), *Leucocoprinus* (02 morfoespécies) e *Lepiota* (02 morfoespécies) (Figura 12).

Figura 12. Lista de gêneros de fungos da ordem Agaricales identificados na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre.



Para auxílio na identificação e avaliação das características fúngicas avaliou-se o substrato de crescimento fúngico. Foram coletados 30 fungos ( $\cong 37,97\%$ ) em serapilheira, 20 ( $\cong 25,31\%$ ) em solo, 18 ( $\cong 22,78\%$ ) em troncos de árvores e 11 ( $\cong 13,94\%$ ) em demais substratos (galhos de árvores, ouriço, sementes e serragem) (figura 13).

Figura 13. Substrato de crescimento de fungos da ordem Agaricales coletados na Fazenda Experimental Catuaba e no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre.



Os números representados ao lado das colunas indicam o número de espécimes coletado em cada local de coleta.

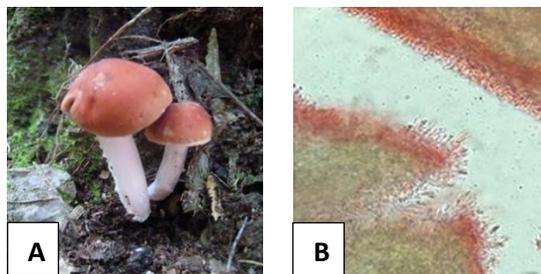
Dos 30 fungos que cresceram em serapilheira, 22 foram coletados no PZ ( $\cong 73,3\%$ ) e 8 na fazenda Catuaba ( $\cong 26,6\%$ ); dos 20 fungos que cresceram no solo, 10 foram coletados no PZ (50%) e 10 (50%) na fazenda Catuaba; dos 18 fungos que cresceram no tronco de árvores, 10 foram coletados no PZ ( $\cong 55,5\%$ ) e 08 na fazenda Catuaba ( $\cong 44,4\%$ ); dos 11 fungos que cresceram em outros substratos, 03 foram coletados no PZ ( $\cong 27,2\%$ ) e 08 na fazenda Catuaba ( $\cong 72,8\%$ ).

## 5.2 SELEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

Das 79 morfoespécies de fungos agaricales coletados foram selecionadas 5 espécies que apresentavam os critérios adotados, descrito no item 4.4 (possíveis de isolamento e maior e/ou mais rápido crescimento micelial). Assim, após a identificação fúngica, foram selecionados para os testes de citotoxicidade os fungos nº 5.273 (*Leucopaxillus* sp.), 5.280 (*Oudemansiella* sp.), 5.302 (Ordem Agaricales), 5.314 (Ordem Agaricales) e 5.321 (Ordem Agaricales).

A espécie *Leucopaxillus* sp. (nº5273) apresenta tamanho de 4,5 – 6,5 cm, o píleo tem coloração marrom alaranjado (COD. 8C), consistência carnosa, superfície lisa e forma campanulado, as lamelas são brancas (1A), de inserção adnatas e forma regular, e o estipe de coloração branca (COD. 1A) e posição central com superfície fibrilosa. Os basídios são bisporado, os basidiósporos subelisoide a elipsoide e a microestrutura estéril com queilocistídios clavados e fusóides (figura 14).

Figura 14. Características macroscópicas e microscópicas do fungo do gênero *Leucopaxillus* sp.



A= Características macroscópica. B= Características microscópicas (objetiva de 40x). Fonte: SILVESTRE, MAGALHÃES (2019).

A espécie *Oudemansiella* sp. (nº5280) apresenta tamanho de 11,5 cm, o píleo tem coloração marrom amarelado (COD. 8E) e esbranquiçado (COD. 1A) no centro, superfície radialmente fibrilosa e forma plana a umbonada, as lamelas são brancas (1A), de inserção livre e forma regular, e o estipe de coloração cinza alaranjado (COD. 2B), posição central com superfície pubescente. Os basídios são bisporado, os basidiósporos equinados e a microestrutura estéril com queilocistídios de forma utrifforme com grânulos (figura 15).

Figura 15. Características macroscópicas e microscópicas do fungo do gênero *Oudemansiella* sp.



A=Características macroscópica (visão superior); B=Características macroscópica (visão inferior); C=Características microscópicas (objetiva de 40x). Fonte: SILVESTRE, MAGALHÃES (2019)

A espécie nº 5302 (ordem Agaricales) apresenta tamanho de 5 a 6 cm, o píleo tem coloração vermelho opaco (COD. 3C), estrias rosadas a esbranquiçadas (COD. 2A), superfície radialmente fibrilosa e forma aplanada, as lamelas possuem coloração concolor ao píleo, inserção decurrente com forma intervenosa, e o estipe concolor ao píleo e posição central com superfície lisa. Não foi possível observar estruturas reprodutivas basídios, basidiósporos e microestruturas estéreis (Figura 16).

Figura 16. Características macroscópicas e microscópicas da espécie nº 5302 (ordem Agaricales)

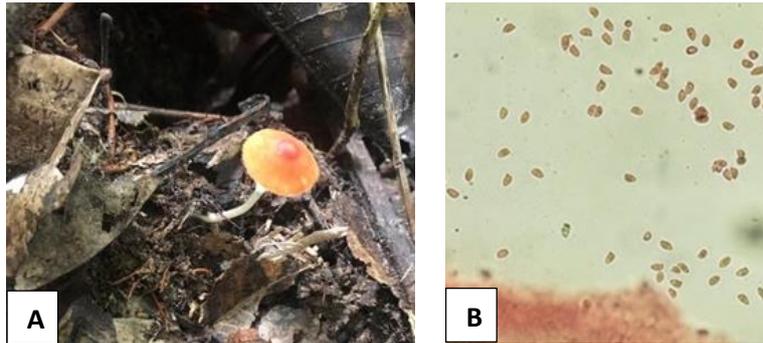


A=Características macroscópica (visão superior); B=Características macroscópica (visão inferior). Fonte: SILVESTRE, MAGALHÃES (2019).

A espécie 5.314 (Ordem Agaricales) apresenta tamanho de 5,5 cm, o píleo tem coloração vermelha alaranjada (COD. 8A), superfície lisa e forma campanulado, as lamelas são brancas (1A), de inserção livre e forma regular, e o estipe coloração branca, em posição central com

presença de anel com borda dupla e superfície lisa. Os basídios são bisporados, basidiósporos subelisoide a elipsoide e microestrutura estéril com queilocistídios clavados e fusóides, superfície pilear com cistídios e hifas (figura 17).

Figura 17. Características macroscópicas e microscópicas da espécie nº 5.314 (ordem Agaricales)



A= Características macroscópica. B= Características microscópicas (objetiva de 40x). Fonte: SILVESTRE, MAGALHÃES (2019)

A espécie 5.321 (Ordem Agaricales) apresenta tamanho de 1 a 2 cm, o píleo tem coloração marrom avermelhado (COD. 8D), superfície radialmente fibrilosa e forma convexa, as lamelas possuem coloração concolor ao píleo, inserção livre e estreita com forma regular, e o estipe é concolor ao píleo e posição central com superfície lisa a fibrilosa. Os basídios são bisporados, basidiósporos subelisoide a elipsoide, microestrutura estéril com queilocistídios clavados e fusóides e superfície pilear com cistídios e hifas (figura 18).

Figura 18. Características macroscópicas e microscópicas do fungo do gênero *Oudemansiella* sp.

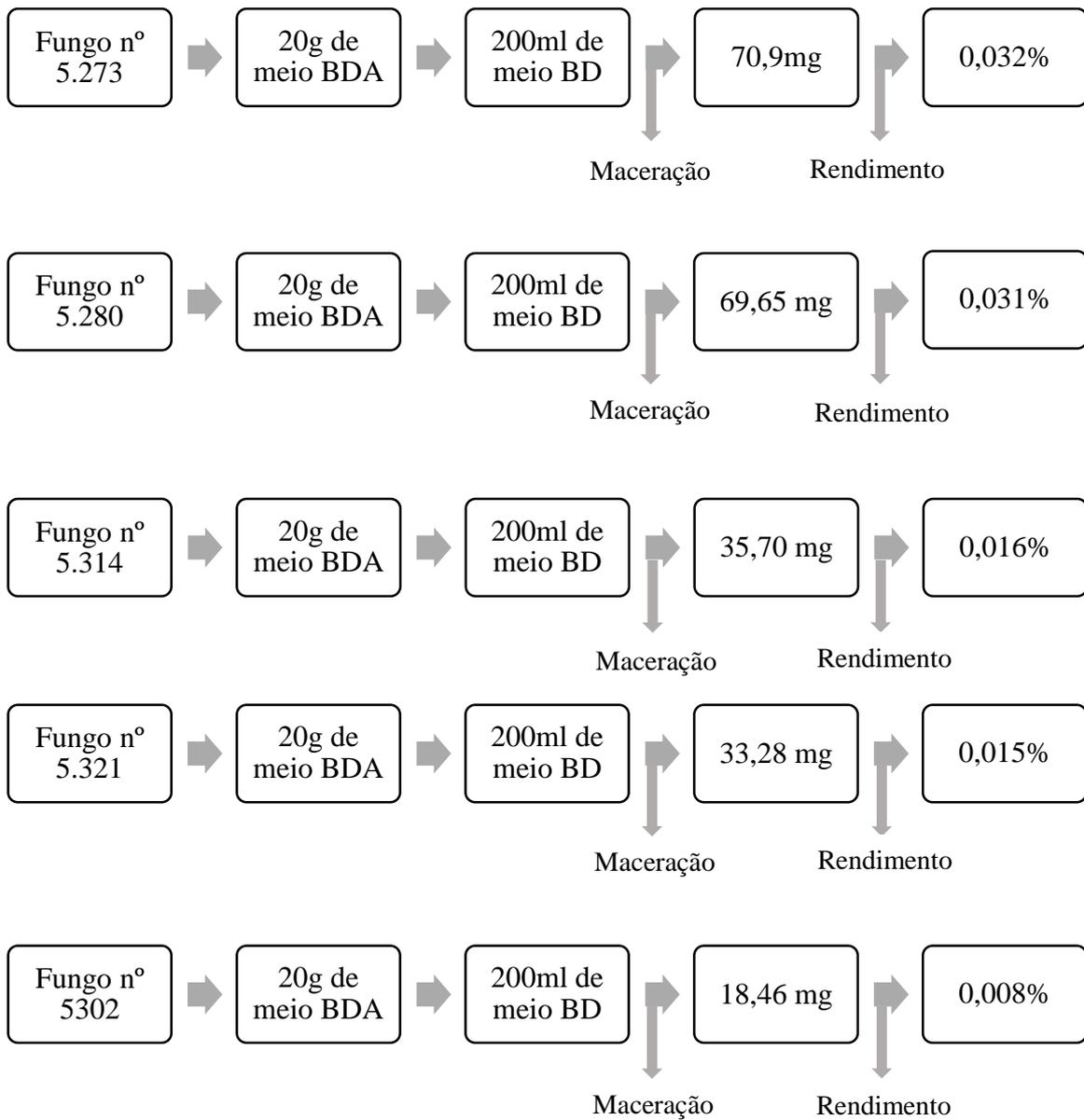


A=Características macroscópica (visão superior); B=Características macroscópica (visão inferior); C=Características microscópicas (objetiva de 40x). Fonte: SILVESTRE, MAGALHÃES (2019)

### 5.3 PRODUÇÃO E RENDIMENTO DOS EXTRATOS ALCOÓLICOS

O processo de obtenção dos extratos e rendimento dos extratos alcóolicos de Agaricales estão representados na figura 19.

**Figura 19.** Produção e rendimento dos extratos alcóolicos.



Fonte: Autoria própria.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO EXTRATO ALCOÓLICO DE FUNGOS AGARICALES EM CÉLULAS HepG2

O teste de citotoxicidade em células HepG2 mostrou que os extratos alcoólicos do micélio dos fungos nº 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 nº 5.273 (*Leucopaxillus sp.*) apresentou  $CC_{50}$  de 54,9  $\mu\text{g/ml}$ . Apesar da  $CC_{50}$  mais baixa, o fungo nº 5.273 (*Leucopaxillus sp.*) teve melhor caracterização macroscópica e microscópica, sendo selecionado o extrato deste para realização da análise molecular e avaliação nos testes comportamentais.

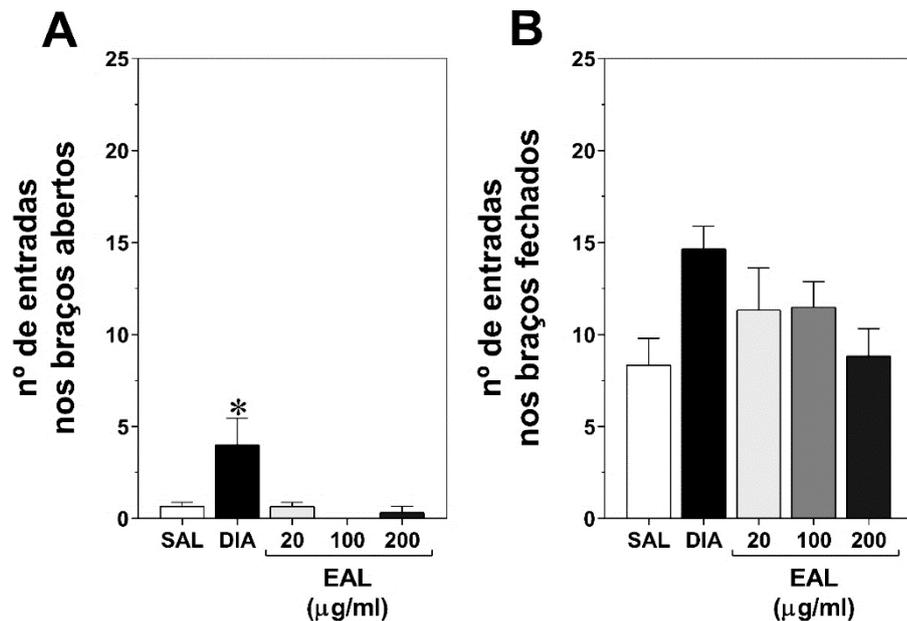
A partir da  $CC_{50}$  determinou-se para os ensaios *in vivo* as doses de trabalho em 0,33 mg/Kg (20  $\mu\text{g/ml}$ ), 1,60 mg/Kg (100  $\mu\text{g/ml}$ ) e 3,30 mg/Kg (200  $\mu\text{g/ml}$ ). As doses de 20, 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$  correspondem a ~0.5, 2 e 4 vezes a  $CC_{50}$ , respectivamente.

#### 5.5 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

No presente estudo avaliou-se a administração oral de extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) altera as respostas comportamentais no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) indicativos de efeito ansiolítico. Inicialmente, foi demonstrado que a administração intraperitoneal com diazepam aumentou significativamente o número de entradas nos braços abertos (Figura 20B), mas não nos fechados (Figura 20B), quando comparado ao grupo tratado com salina. Já o tratamento com EAL não alterou significativamente o número de entrada nos braços abertos e nos braços fechados, em nenhuma das doses testadas, quando comparado ao grupo salina (Figura 20). Os dados da figura 20A se diferiram significativamente quanto ao tratamento ( $F_{4, 25} = 5,667$ ;  $p = 0,0022$ ). Os dados da figura 20B não se diferiram significativamente com relação ao tratamento ( $F_{4, 25} = 2,484$ ;  $p = 0,0695$ ).

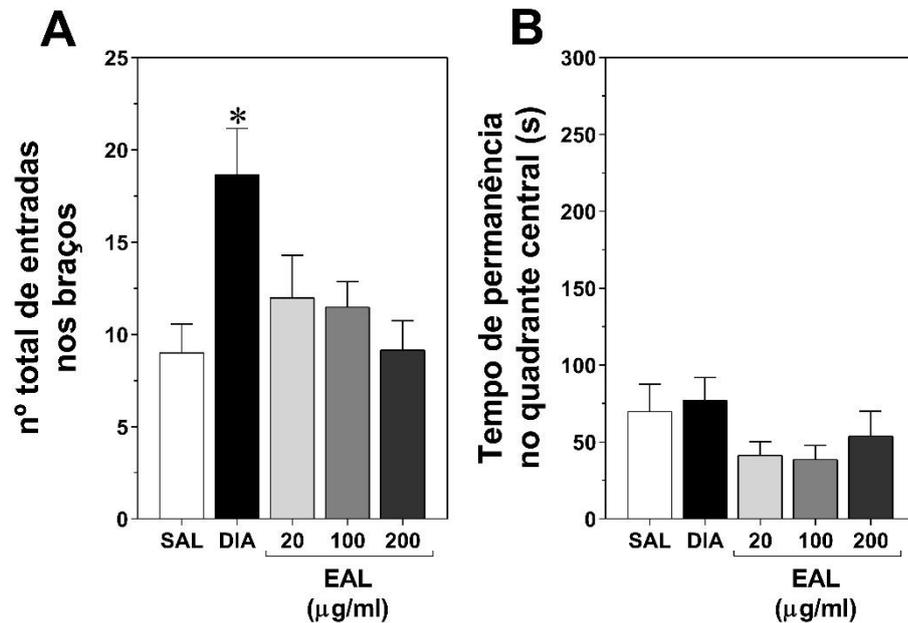
Os resultados também mostram que o diazepam aumentou significativamente o número de entradas totais nos braços (Figura 21A), mas não alterou significativamente o tempo de permanência no quadrante central, quando comparado ao grupo tratado com salina (Figura 21B). Já o tratamento com EAL não alterou significativamente o número de entradas totais nos braços e o tempo de permanência no quadrante central, em nenhuma das doses testadas, quando comparado ao grupo salina (Figura 20). Os dados da figura 21A se diferiram significativamente quanto ao tratamento ( $F_{4, 25} = 4,209$ ;  $p = 0,0097$ ). Os dados da figura 21B não se diferiram significativamente com relação ao tratamento ( $F_{4, 25} = 1,549$ ;  $p = 0,2187$ ).

Figura 20. Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) no número de entradas nos braços abertos (A) e nos braços fechados (B) do Labirinto em Cruz Elevado.



SAL = Grupo tratado com solução salina 0,9%; DIA = Grupo tratado com solução Diazepam (2 mg/Kg). Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM. Cada coluna representa um grupo experimental contendo dados de 6 animais. \* = significativamente diferente do grupo Salina. A significância estatística foi fixada em 0,05.

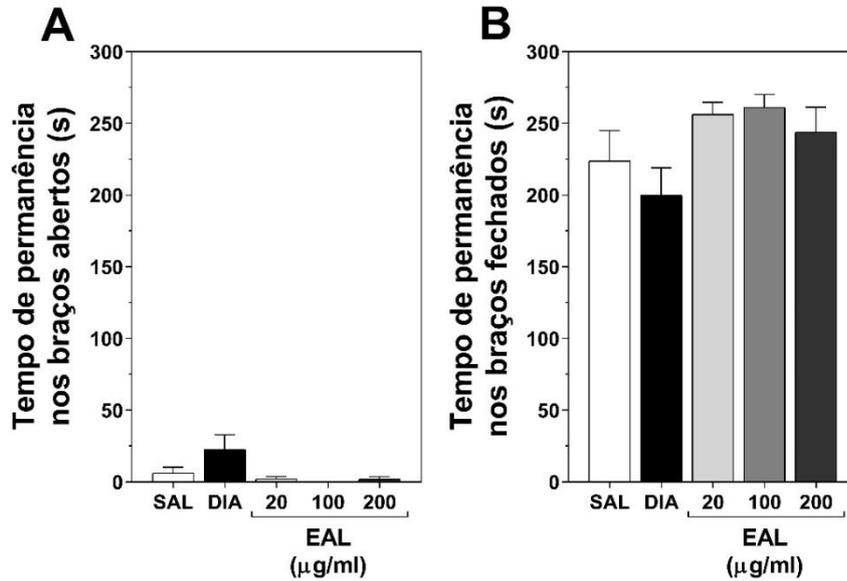
Figura 21. Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) no número total de entradas nos braços abertos e fechados (A) e o tempo de permanência no quadrante central (B) do Labirinto em Cruz Elevado.



SAL = Grupo tratado com solução salina 0,9%; DIA = Grupo tratado com solução Diazepam (2 mg/Kg). Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM. Em cada grupo experimental foram utilizados 6 animais. \* = significativamente diferente do grupo Salina. A significância estatística foi fixada em 0,05.

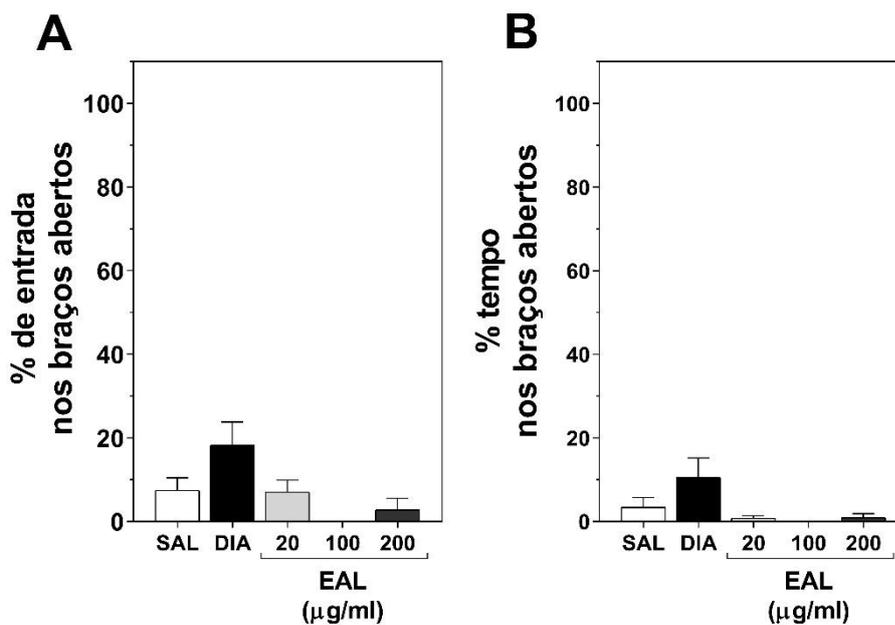
O tratamento com diazepam ou com o EAL, em todas as doses testadas, não alterou significativamente o tempo de permanência dos animais nos braços abertos (Figura 22A) ou fechados (Figura 22B), e não alteraram a porcentagem de permanência nos braços abertos (Figura 23A) ou a porcentagem de entrada nos braços abertos (Figura 23B), quando comparados ao grupo salina. Os dados da figura 22A, 23A e 23B se diferiram significativa quanto ao tratamento ( $F_{4, 25} = 3,479, 4,220, 3,313$ , respectivamente;  $p = 0,0217, 0,0095, 0,0262$ , respectivamente). Os dados da figura 21B não se diferiram significativamente com relação ao tratamento ( $F_{4, 25} = 2,549$ ;  $p = 0,0642$ ).

Figura 22. Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) no tempo de permanência nos braços abertos (A) e no tempo de permanência nos braços fechados (B) do Labirinto em Cruz Elevado.



SAL = Salina; DIA = Diazepam (2 mg/Kg). Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM. Em cada grupo experimental foram utilizados 6 animais.

Figura 23. Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) sobre a porcentagem de entrada nos braços abertos (A) e sobre a porcentagem de tempo nos braços abertos no Labirinto em Cruz Elevado.

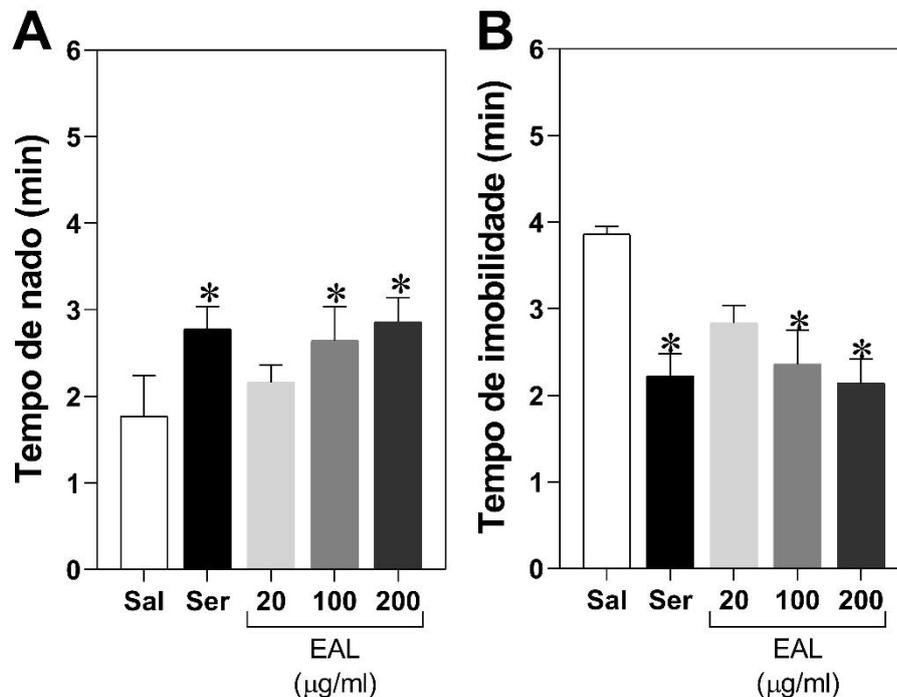


SAL = Salina; DIA = Diazepam (2 mg/Kg). Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM. Em cada grupo experimental foram utilizados 6 animais.

## 5.6 TESTE DO NADO FORÇADO

O presente estudo avaliou se EAL apresenta propriedade antidepressiva empregando o teste do nado forçado. Inicialmente, os resultados mostram que o tratamento subcrônico dos animais com sertralina significativamente aumentou o tempo de nado (Figura 24A) e reduziu o tempo de imobilidade (Figura 24B). De modo semelhante, foi demonstrado que o EAL significativamente aumentou o tempo de nado (Figura 24A) e reduziu o tempo de imobilidade (figura 24B). Os dados da figura 24A se diferiram significativamente com relação ao tratamento nas doses de 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$  ( $F_{4, 25} = 7,197$ ;  $p = 0,0005$ ). Os dados da figura 24B se diferiram nas doses de 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$  significativamente com relação ao tratamento ( $F_{4, 25} = 7,283$ ;  $p = 0,0005$ ).

Figura 24. Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) sobre tempo de nado (A) e de imobilidade (B) no teste do nado forçado.



SAL = Grupo tratado com solução salina 0,9%; SER = Grupo tratado com solução Sertralina (10 mg/Kg). Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM. Cada coluna representa um grupo experimental contendo dados de 6 animais. \* = significativamente diferente do grupo Salina. A significância estatística foi fixada em 0,05.

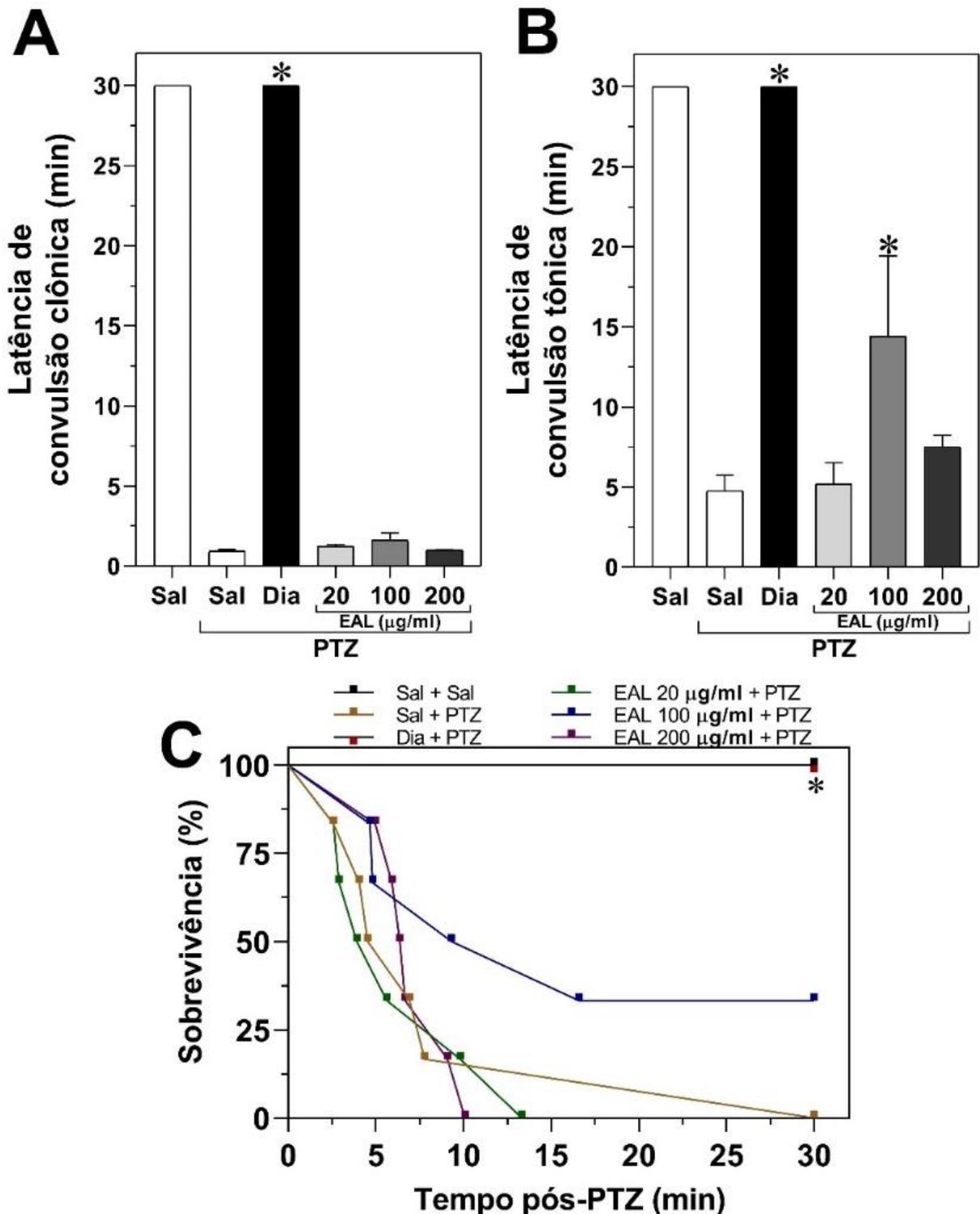
## 5.7 TESTE DA CONVULSÃO INDUZIDA POR PENTILENOTETRAZOL

Para avaliar se o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) apresenta propriedade anticonvulsivante, o presente estudo empregou o modelo de convulsão clônico-tônico induzido por injeção intraperitoneal de pentilenotetrazol (PTZ). Animais tratados com salina e PTZ manifestaram tipicamente a convulsão clônica seguida de convulsão tônica e morte (Figura 25). Os resultados mostram que o pré-tratamento com diazepam, tratamento controle, bloqueou completamente a manifestação da convulsão clônica (Figura 25A) e tônica (Figura 25B), e preveniu a mortalidade dos animais em 100 % (Figura 25C). Os resultados com diazepam são semelhantes aos resultados obtidos em animais controles tratados com Salina e não tratados com PTZ.

Também foi mostrado que o tratamento oral com EAL não alterou significativamente a latência de manifestação da convulsão clônica, em nenhuma das doses testadas, quando comparado ao grupo Salina e tratado com PTZ (Figura 25A). Também foi observado que o tratamento oral com EAL na dose de 100 µg/ml, mas não nas doses de 20 e 200 µg/ml, aumentou significativamente a latência de manifestação da convulsão tônica (Figura 25B) e preveniu a mortalidade de 37,5 % dos animais tratados com PTZ, quando comparado ao grupo controle negativo (Figura 25C).

Os dados da figura 25A se diferiram significativamente com relação aos tratamentos ( $F_{5, 30} = 5947$ ;  $p < 0,0001$ ). Os dados da figura 25B se diferiram significativamente com relação ao tratamento ( $F_{5, 26} = 22,69$ ;  $p < 0,0001$ ). Os dados da figura 25C se diferiram significativamente com relação aos tratamentos ( $\chi^2 = 31,07$ ; grau de liberdade = 5;  $p < 0,0001$ ).

Figura 25. Efeito do tratamento oral com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* (EAL) sobre a convulsão clônica- tônica e mortalidade induzida por Pentilenotetrazol.



Latência de manifestação da convulsão da clônica (A) e tônica (B). Efeito do tratamento do EAL sobre a % de sobrevivência até 30 minutos após administração Pentilenotetrazol (C). Sal = Salina; Dia = Diazepam (2 mg/Kg; ip); PTZ = pentilenotetrazol (80 mg/Kg; ip). Os dados foram representados como média  $\pm$  EPM. Cada coluna ou curva representa um grupo experimental contendo dados de 6 animais. \* = significativamente diferente do grupo Sal + PTZ. A significância estatística foi fixada em 0,05.

## 6 DISCUSSÃO

A partir das coletas de fungos realizadas no presente estudo foi possível identificar 12 gêneros de basidiomicetos da ordem Agaricales, dentre eles *Oudemansiella*, *Lepiota*, *Leucocoprinus*, *Hydropus*, *Leucopaxillus*, *Calvatia*, *Macrolepiota*, *Lepiota*, *Chlorophyllum*, *Pluteus*, *Agaricus* e *Hygrocybe*. Destes, foi possível verificar a predominância dos gêneros *Oudemansiella*, *Leucocoprinus* e *Lepiota* nos locais de coleta. Tais resultados complementam os primeiros relatos, feitos em 1992, a respeito da micobiota macroscópica do estado do Acre, nos quais foram identificados *Agaricus* sp., *Lepiota citrinella*, *Filoboletus gracilis*, *Marasmius* sp., *Mycena* sp., *Pleurotus* sp., e o gênero *Mycena* (BONONI et al., 1992).

Em levantamentos prévios realizado no Parque Zoobotânico da UFAC foi demonstrado a presença de fungos das ordens Agaricales, Auriculariales, Hymenochaetales, Polyporales (GOMES-SILVA; GIBERTONI, 2009), Dacrymycetales e Geastrales (SANTOS, 2017). Em um levantamento realizado em 2017 no mesmo local, constatou-se uma predominância de basidiomicetos da ordem Agaricales, especialmente dos gêneros *Agaricus*, *Leucoagaricus*, *Leucocoprinus*, *Macrolepiota*, *Marasmiaceae*, *Gerronema*, *Gymnopus*, *Marasmiellus*, *Marasmius*, *Tetrapyrgus*, *Trogia*, *Psathyrellaceae*, *Psathyrella*, *Schizophylaceae* e *Schizophyllum* (SANTOS, 2017).

No presente estudo, dos 12 gêneros identificados durante a coleta, foram relatados apenas 4 gêneros em estudos anteriores, indicando uma ampla biodiversidade de fungos agaricales ainda pouco explorada. A ordem Agaricales está distribuída em 413 gêneros e mais de 13 mil espécies conhecidas (COIMBRA et al., 2013). Entretanto, sabe-se que estes números são ainda maiores, tendo em vista que, no Brasil abriga-se uma das biotas mais ricas do mundo, onde 99,6% deles se desconhece sua composição química (VEIGA; SCUDELLER, 2015). Neste sentido, a descoberta de novos táxons ou registro de novas espécies também pode

contribuir para a aplicação biotecnológica de seus constituintes químicos, especialmente como solução de problemas que afligem a sociedade (COIMBRA et al., 2013).

Durante as coletas dos fungos observou-se que o crescimento fúngico predominou em substratos como a serapilheira, o solo e tronco de árvores. O crescimento no solo e na serapilheira podem estar relacionado ao mecanismo nutricional e o comportamento saprofítico dos fungos basidiomicetos, os quais absorvem moléculas orgânicas simples oriundas de organismos mortos (SANTOS, 2015). O crescimento em troncos de árvores está associada a espécies de cogumelos que produzem enzimas lignilolíticas extracelulares como a lenhina peroxidase, a manganês peroxidase e a lacase, as quais estão envolvidas na degradação da lenhina, conferindo, aos cogumelos, a capacidade de crescerem em troncos de árvores vivas ou mortas (SIMÕES, 2015).

Durante a coleta, observou-se também o crescimento em galhos de árvores, ouriços, sementes e serragem, os quais, estão relacionados ao carácter saprofítico e lignolítico. Percebe-se que os cogumelos possuem habilidade para se desenvolver em variados substratos, dos quais obtêm polissacarídeos, lignina, glicose, manose, frutose, óleos e ácidos orgânicos como fontes de carbono e energia. Entretanto, reconhece-se a especificidade e/ou preferência de cada basidiomiceto por um determinado substrato, fato observado nas espécies coletadas e isoladas no presente estudo (FIGUEIRO, 2009).

Após as coletas, utilizou-se da caracterização macroscópica, microscópica, locais de crescimento e bases de literatura para selecionar os fungos a serem avaliados nos testes de citotoxicidade e testes comportamentais. Nesse sentido, o maior e mais rápido crescimento micelial e a possibilidade de isolamento em meios de cultura compõe algumas das principais características que serviram de critério para a seleção dos fungos. Com base nesses fatores, selecionou-se os espécimes nº 5.273 (*Leucopaxillus* sp.), 5.280 (*Oudemansiella* sp.), 5.302 (Ordem Agaricales), 5.314 (Ordem Agaricales) e 5.321 (Ordem Agaricales). (GARCIA, 2016).

Os extratos alcoólicos do micélio dos fungos selecionados foram submetidos ao teste de citotoxicidade em células de hepatoblastoma humano (HepG2). Todos os extratos dos fungos nº 5.280 (*Oudemansiella sp.*), nº 5.314 (Ordem agaricales), nº 5.321 (Ordem agaricales) e nº 5.302 (Ordem agaricales) apresentaram  $CC_{50}$  acima de 500  $\mu\text{g/ml}$ . Já o extrato alcoólico micelial do fungo nº 5.273 (*Leucopaxillus sp.*) apresentou  $CC_{50}$  de 54,9  $\mu\text{g/ml}$ . Portanto, os resultados mostraram que o extrato de *Leucopaxillus sp.* foi o que apresentou a maior toxicidade em células HepG2 dentre os extratos de fungos testados. Tais resultados indicam que o extrato de *Leucopaxillus sp.* pode indicar maior diversidade e/ou concentração química entre os fungos testados, mas tal informação precisa ser comprovada por ensaios adicionais.

Evidências científicas mostram que o cogumelo *Oudemansiella canarii* apresenta elevada citotoxicidade em macrófagos peritoneais ( $CC_{50} = 5,77 \pm 0,67 \text{ mg / ml}$ ). O extrato metanólico de *Leucopaxillus candidus* apresentou baixa toxicidade na cultura primária de fígado PLP2, em vista que a concentração que inibe o crescimento celular em 50% da amostra ( $CI_{50}$ ) encontra-se, provavelmente, superior a 400  $\mu\text{g/mL}$  (maior concentração testada) (VIEIRA et al., 2016). Para explicar as discrepâncias entre estes resultados prévios e os nossos resultados de citotoxicidade são necessários ensaios futuros de identificação das espécies avaliadas de *Oudemansiella* e *Leucopaxillus* avaliados bem como realizar a caracterização de seu constituintes químicos.

Os principais constituintes químicos do fungo *Oudemansiella canarii* são polissacarídeos, peptídeos, glicoproteínas, fenólicos, lipídios e enzimas hidrolíticas e oxidativa (CONTATO et al., 2020). Os fungos do gênero *Leucopaxillus* são ricos em fenóis, flavonoides, carboidratos e proteínas. *Leucopaxillus candidus* é uma espécie com elevado valor nutricional devido ao alto teor de proteínas e carboidratos, mas baixos níveis de gordura e com prevalência de ácidos graxos poli-insaturados. Além destes, sua composição é marcada pela presença de

ácidos oxálicos, fumárico, p-hidroxibenzóico e cinâmico (BARROS et al., 2007; VIEIRA et al., 2016)

*Leucopaxillus giganteus* também apresentam em sua constituição o ácido oxálico, ácido cis-aconítico, ácido cítrico e fumárico (RIBEIRO et al., 2008). Neste sentido, os resultados do presente estudo podem decorrer, pelo menos em parte, de componentes químicos comuns ao gênero *Leucopaxillus*. No entanto, é necessário determinar a constituição química do extrato alcoólico além de realizar a identificação de espécie *Leucopaxillus* empregado no estudo.

Com base na constituição química, os cogumelos podem ser classificados em comestíveis, os quais são desprovidos de constituintes químicos nocivos, ou classificados como tóxicos, quando apresentam em sua constituição química micotoxinas potencialmente danosas ao organismo humano. Dentre as micotoxinas de cogumelos, é possível destacar as amatoxinas, falotoxinas, giromitrina-monometilhidrazina, orelanina, muscarina, ácido ibotênico, muscimol, coprina, psilocibina e psilocina (PESSOA, 2013; GARCIA, 2016). Nesse sentido, as diferentes toxicidades obtidas com os fungos testados no presente estudo podem estar associadas à presença e a concentração de micotoxinas em sua composição química.

A partir dos resultados preliminares de rendimento na obtenção do extrato e da citotoxicidade, o extrato micelial de *Leucopaxillus sp.* foi escolhido para os ensaios experimentais *in vivo*. Inicialmente, para determinar possíveis propriedades ansiolíticas e sedativas do efeito do extrato micelial de *Leucopaxillus sp.* empregou-se o teste do labirinto em cruz. O teste labirinto em cruz elevado trata-se de um modelo baseado no estudo de comportamento não condicionado ou espontâneo e em padrões exploratórios, cuja premissa básica é a de que a novidade ambiental evoca simultaneamente medo e curiosidade (RODGERS et al., 1997).

Em geral, ratos ou camundongos mostram consistentemente altos níveis de exploração/preferência pelos braços fechados e evitam os braços abertos devido ao fato de

gerarem níveis mais altos de medo. Os impulsos exploratórios levam os roedores a se aproximarem do novo ambiente, aumentam ações de exploração e de entradas em braços abertos, indicativo de baixa ansiedade. Os impulsos de medo, por outro lado, levam aos comportamentos de evitar esse novo ambiente e de exploração centrada principalmente nos braços fechados (FILGUEIRAS, 2011).

No presente estudo o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* não alterou significativamente os principais parâmetros indicativos de atividade ansiolítica e exploratória tais como nº de entrada e permanência nos braços abertos, nº total de entrada nos braços, permanência no quadrante central, quando comparado ao grupo controle salina. Assim, nas doses utilizadas é improvável que o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* tenha atividade ansiolítica. Neste sentido, a ausência de efeito ansiolítico poderia ser explicada pela dose utilizada, a qual, poderia ser baixa e não conter componentes ansiolíticos suficientes para manifestar o efeito.

Esta pesquisa é a primeira a avaliar as propriedades ansiolíticas de extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* no teste do labirinto em cruz elevado. De toda forma, a atividade ansiolítica tem sido observada em outros gêneros de fungos Agaricales, tais como os fungos do gênero *Agaricus sp.* Neste sentido, demonstrou-se que ratos tratados por 30 dias com extrato de *Agaricus brasiliensis* tiveram menor neurodegeneração associada à isquemia cerebral e exibiram menor taxa de comportamentos associados à ansiedade no teste de labirinto elevado e no teste de interação social (ZHANG et al., 2015).

Em contrapartida, o fármaco benzodiazepínico diazepam, empregado como controle positivo de fármaco ansiolítico, aumentou significativamente o principal parâmetro que mede propriedade ansiolítica (nº de entrada nos braços abertos) e de aumento da atividade locomotora/exploratória (nº total de entrada nos braços). Tais resultados confirmam a propriedade ansiolítica de fármacos benzodiazepínicos, como o diazepam.

Fármacos ansiolíticos, tal como o benzodiazepínico diazepam, aumentam o nível exploratório nos campos abertos (RODGERS et al., 1997). Os fármacos benzodiazepínicos têm como alvo os receptores GABA<sub>A</sub> que, quando ativados, aumentam a neurotransmissão GABAérgica. O aumento da neurotransmissão GABAérgica está associada ao efeito neuronal hiperpolarizante, o que explica o efeito anticonvulsivante, neuroprotetor, ansiolítico e sedativo dos benzodiazepínicos (GELFUSO et al., 2014).

Avaliou-se o efeito do tratamento subcrônico com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* sobre o tempo de nado e de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos. O teste do nado forçado foi empregado nesta pesquisa por se tratar de um método simples e pela sua ampla utilização em estudos pré-clínicos de desenvolvimento de fármacos antidepressivos (LEITE et al., 2005; OLIVEIRA, 2019). O teste do nado forçado é um modelo de estresses inescapável onde o animal experimental é colocado sob observação em recipiente contendo água. Nestas condições o animal elabora comportamentos alternados de atividade locomotora (nado vigoroso e tentativa de escalada pela parede do recipiente) e imobilidade, onde o animal executa movimentos suficientes apenas manter-se emerso na água (SILVEIRA et al., 2018).

A imobilidade, portanto, significa um comportamento de desamparo e/ou desistência de reagir contra a situação inescapável imposta no modelo. De qualquer forma, cabe ressaltar que o teste do nado forçado não induz quadro depressivo e sim uma condição de conflito comportamental que compartilha as mesmas bases neurofisiológicas e neuroquímicas da depressão. Assim, fármacos capazes de aumentar o tempo de nado e, conseqüentemente, reduzir o tempo de imobilidade, pode indicar propriedades antidepressivas em humanos (CARVALHO, 2017; OLIVEIRA 2019).

O extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* aumentou o tempo de nado e reduziu o tempo de imobilidade no teste do nado forçado nas concentrações de 100 e 200µg/ml. Os resultados com o extrato foram similares aos observados com a sertralina, usada como controle positivo

neste teste. Estes resultados indicam que extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* apresenta propriedade antidepressiva.

O estudo confirma evidências prévias do efeito de redução do tempo de imobilidade induzido pelo tratamento crônico com sertralina no teste do nado forçado (KAYGISIZ et al., 2014). A sertralina pertence a classe de antidepressivos inibidores seletivos da receptação de serotonina (ISRS) com ampla aplicação na prática clínica. A atividade biológica dos ISRS ocorre agudamente pelo aumento dos níveis de serotonina nas fendas sinápticas e cronicamente através da dessensibilização de autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>. É a dessensibilização de autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>, especialmente em áreas como o córtex pré-frontal do encéfalo, o principal mecanismo farmacológico para o efeito antidepressivo dos ISRS (TELLES-CORREIA et al., 2007; KAYGISIZ et al., 2014). É possível que o mecanismo de dessensibilização de autorreceptores observados com os antidepressivos ISRS expliquem, pelo menos em parte, o mecanismo do efeito antidepressivo do extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.*

Apesar de não haver estudos prévios com extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* existem estudos mostrando que fungos de outras espécies da ordem Agaricales apresentam atividade antidepressiva. Neste sentido, ratos tratados por 4 semanas com exopolissacarídeos decorrentes da fermentação submersa de *Marasmius androsaceus* apresentaram menor resposta comportamental em modelo de depressão induzida por estresse leve imprevisível e crônico, indicando um possível efeito antidepressivo. Evidências sugerem que a ação antidepressiva do extrato de *Marasmius androsaceus* está associado ao aumento significativo nos níveis de noradrenalina, dopamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) e ácido 5-hidroxiindolacético no soro e no hipotálamo (SONG et al., 2017).

Estudos mostram que o tratamento com L-ergotioneína ou com extrato do fungo *Pleurotus cornucopiae var. citrinopileatus*, conhecido por ser rico em L-ergotioneína em sua

composição, diminui significativamente o tempo de imobilidade no teste do nado forçado e do teste de suspensão da cauda (NAKAMICH et al., 2016). Evidências mostram que o fungo *Leucopaxillus giganteus* e diversos outros cogumelos comestíveis apresentam L-ergotioneina em sua composição (ITO et al., 2011). Por fim, o conjunto de dados científicos indicam possíveis mecanismo que explicariam como o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp.* produz efeito antidepressivo. No entanto, somente com a completa identificação da espécie de *Leucopaxillus* bem como da análise de sua composição química permitirá verificar o envolvimento dos principais sistemas neuronais (serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico) bem como de componentes químicos específicos, tais como L-ergotioneina, no efeito antidepressivo do extrato de fungo empregado nesta pesquisa.

O presente estudo também avaliou se o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp* apresenta propriedade anticonvulsivante em modelo experimental de convulsão induzido por injeção intraperitoneal de pentilenotetrazol (PTZ). O PTZ é um fármaco da classe do antagonista de receptor GABA<sub>A</sub> amplamente empregado para induzir convulsão experimental. A capacidade do PTZ de induzir convulsão deve-se à sua ação inibitória sobre a neurotransmissão GABAérgica, resultando em hiperatividade neuronal disseminada no sistema nervoso central. A convulsão gerada pelo PTZ é do tipo clônica-tônica generalizada (TCG), sendo sua latência e duração dependente da concentração empregada, via e frequência de administração (NKAMGUIE et al., 2017, SHIMADA et al.,2018).

As convulsões do tipo TCGs são caracterizadas por perda abrupta da consciência, contração clônicas seguidas por contrações tônicas dos quatro membros, apneia, liberação esfínteriana, sialorreia e mordedura de língua, com duração de aproximadamente um minuto. A fase clônica é identificada com espasmos musculares violentos e generalizados, em que persiste a cianose e pode haver perda de esfínteres. A fase tônica se caracteriza através da perda de consciência e da postura, extensão das costas, pescoço e pernas, flexão dos antebraços,

desvio ocular cefálico, respiração ruidosa e cianose. (YAKUBIAN, 2014; TELESSAUDE, 2016).

O tratamento intraperitoneal com Diazepam aboliu completamente o desenvolvimento da convulsão clônica, convulsão tônica e previniu a mortalidade de 100% dos camundongos tratados com PTZ. Já o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp*, nas doses testadas, não alterou a latência de convulsão clônica quando comparado ao grupo salina tratado com PTZ. Por outro lado, o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp* na dose 100 µg/ml, mas não nas demais doses, aumentou significativamente a latência para o desenvolvimento da convulsão tônica e reduziu significativamente a mortalidade dos animais.

Os resultados que mostram a propriedade anticonvulsivante do extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp*. são inéditos e corroboram com resultados prévios com outros fungos basidiomicetos da classe Agaricomycetes. Assim, verificou-se que a administração do fungo *Hericium erinaceus* em concentração de 60 a 120 mg/kg apresentou uma possível atenuação na morte neuronal do hipocampo, 7 dias após a indução de convulsão clônico-tônico (JANG et al., 2019).

Em virtude da diversidade de mecanismos pelos quais os fármacos podem produzir efeitos anticonvulsivantes não é possível determinar o mecanismo anticonvulsivante do extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp*. De qualquer forma, não é descartado que o extrato alcoólico de *Leucopaxillus sp* contenha constituintes químicos que produzam efeitos anticonvulsivantes semelhantes ao do fármaco benzodiazepínico, como o diazepam. Os benzodiazepínicos causam efeito anticonvulsivante através da modulação alostérica positiva de receptor GABA<sub>A</sub> ativados pelo neurotransmissor GABA, levando a hiperpolarização e consequente redução da hiperexcitabilidade neuronal durante a convulsão (NKANTCHOUA et al., 2017; YACUBIAN et al., 2014).

Por fim, o conjunto de resultados do presente estudo mostram que o extrato micelial de *Leucopaxillus sp.* apresenta propriedades antidepressivas, anticonvulsivantes, mas não apresenta propriedades ansiolíticas, nas condições experimentais avaliadas. No entanto, o estudo ainda deixa questões importantes que precisam ser respondidas tais como a espécie do fungo avaliado bem como os constituintes químicos envolvidos nos efeitos biológicos observados. Neste sentido, os resultados abrem possibilidade para a realização de estudos futuros que possam contribuir com o aprofundamento do conhecimento científico e tecnológico, uma vez que novos produtos podem ser desenvolvidos a partir dele.

## 7 CONCLUSÕES

- Isolou-se e identificou-se 25 fungos dos gêneros *Oudemansiella*, *Lepiota*, *Leucocoprinus*, *Hydropus*, *Leucopaxillus*, *Calvatia*, *Macrolepiota*, *Lepiota*, *Chlorophyllum*, *Pluteus*, *Agaricus* e *Hygrocybe*;
- Produziu-se o extratos alcoólicos miceliais dos fungos nº 5.273 (*Leucopaxillus* sp.), 5.280 (*Oudemansiella* sp.), 5.302 (Ordem Agaricales), 5.314 (Ordem Agaricales) e 5.321 (Ordem Agaricales);
- A  $CC_{50}$  dos extratos miceliais dos fungos nº 5.280, 5.314, 5.321 e 5.302 como sendo > 500 µg/ml e do extrato micelial do fungo nº 5.273 (*Leucopaxillus* sp.) como sendo 54,9 µg/ml;
- O extrato alcoólico micelial de *Leucopaxillus* sp. não apresenta atividade ansiolítica em todas as concentrações testadas;
- O extrato alcoólico micelial de *Leucopaxillus* sp. apresenta atividade antidepressiva nas concentrações de 100 e 200 µg/ml;
- O extrato alcoólico micelial de (*Leucopaxillus* sp.) apresenta atividade anticonvulsivante apenas na concentração de 100 µg/ml.

## 8 REFERÊNCIAS

- ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. S.; PAMPHILE, J. A. Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas. **Revista UNINGÁ Review**, v.21, n.1, p.55-59, 2015.
- AFONSO, A.; REINAS, C.; ROBERTO, E.; CAMPOS, E.; ENRIQUE, E.; ANDRADE, H.; VIEGAS, R.; SANTOS, S.; RESENDE, V. C. A loucura e o controle das emoções. **Revista de Psicofisiologia**, v.1, n.1, p.1-34, 1997.
- ALFENAS, A. C. et al. **Isolamento de fungos fitopatogênicos. Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 90 p.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. DSM-IV. **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. Porto Alegre: ARTMED, 2014, 5ed, 992p.
- ANDREATINIA, R.; BOERNGEN-LACERDA, R.; ZORZETTO-FILHO, D. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Rev Bras Psiquiatr.**, v. 23, n.4, p.233-242, 2001.
- APACZ, A.; OBNISKA, J.; WIKLIK-POUDEL, B.; RYBKA, S.; SALAT, K.; FILIPEK, B. Anticonvulsant and antinociceptive activity of new amides derived from 3-phenyl-2,5-dioxopyrrolidine-1-yl-acetic acid in mice. **European Journal Of Pharmacology**, v. 781, p.239-249, jun. 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA. **Transtornos de Ansiedade: Diagnóstico e Tratamento**. 2008. 15p. Projeto Diretrizes - Associação Médica Brasileira, Conselho Federal de Medicina, 2008.
- BANNERMAN, D. M.; SPRENGEL, R.; SANDERSON, D. J.; MCHUGH, S. B.; RAWLINS, N, P.; MONYER, H.; SEEBURG, P. H. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. **Nature Reviews**, v.15, p. 181-192, 2014.
- BARR, M.; SINGH, I.; ROSE, N. The pharmacogenomics of depression: mapping the social and ethical impact. **Journal Of Public Mental Health**, v. 4, n. 3, p.33-41, 2005.
- BONONI, V. L.; Fungos macroscópicos de Rio Branco, Acre, Brasil. *Hoehnea*, v.19, p.31-37, 1992.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Avaliação e conduta da epilepsia na atenção básica e na urgência e emergência** – Brasília: Ministério da Saúde, 2018.
- BUENO, J. R.; GOUVÊA, C. M. C. P.; Cortisol e exercício: efeitos, secreção e metabolismo. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v.5, n.29, p.435-445, 2011.
- CARDOSO, L. R. D. Psicoterapias comportamentais no tratamento da depressão. **Psicol. Argum.**, v. 29, n.67, p.479-489, 2011.

CARVALHO, M. S.; **Avaliação comportamental de ratas em diferentes fases do ciclo estral por meio do teste do nado forçado e campo aberto**. 2017. 39f. Monografia (Curso de Biomedicina) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal 2017.

CASTILLO, A. R. G. L.; RECONDO, R.; ASBAHR, F. R.; MANFRO, G. G. Transtornos de ansiedade. **Rev. Bras. Psiquiatr.** v.22, n.2, p. 20-23, 2000.

CLERICUZIO, M.; MELLA, M.; VITA-FINZI, P.; ZEMA, M.; VIDARI, G. Cucurbitane Triterpenoids from *Leucopaxillus gentianeus*. **J. Nat. Prod.** p.67, n.11, p.1823-1828, 2004.

COIMBRA, V. R. M. **Fungos Agaricóides (Agaricales, Basidiomycota) da reserva biológica Saltinho, Pernambuco: Diversidade e aspectos moleculares**. 2013. 80f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

CONTATO, A. G.; BRUGNARI, T.; SIBIN, A. P. A.; BUZZO, A. J. R.; SÁ-NAKANISHI, A. B.; BRACHT, L.; BERSANI-AMADO, C. A.; PERALTA, R. M.; SOUZA, C. G. M. Biochemical Properties and Effects on Mitochondrial Respiration of Aqueous Extracts of Basidiomycete Mushrooms. **Biophys**, v.78, p.111–119, 2020.

CUNHA, C. R. M. et al. 4-Nerolidylcatechol and its synthetic analogues: Antioxidant activity and toxicity evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 371-378, 2013.

DEAN, J.; KESHAVAN, M. The neurobiology of depression: An integrated view, **Asian J Psychiatr.** v. 27, p.101-111, 2017

EID, T.; GRUENBAUM S. E.; DHAHER, R.; LEE, T. W.; ZHOU, Y.; DANBOLT, N. C. The Glutamate–Glutamine Cycle in Epilepsy. **Adv Neurobiol.** v.143, p.351-400, 2016.

EKINCI, A.; HÜSEYİN O.; BILGIÇ, B. B.; EKINCI, C.; DEVECI, S.; DEVECI, E. Neuroprotective Effects of *Ganoderma lucidum* on Spinal Cord Injury. **Int. J. Morphol Temuco**, v. 36, n. 1, p. 175-179, 2018.

FERNANDES, M. J. S. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. **Estud. av.** vol.27, n.77, p.85-96, 2013.

FERREIRA, W. J.; SANTOS, A. E.; DUARTE, A. Produtos naturais alucinógenos: aspectos históricos, químicos e farmacológicos. **Revista Acadêmica Conecta FASF**, v.3, n.1, p.1-20, 2018.

FIGUEIRÓ, G. G. **Influência do substrato no cultivo e na composição química do cogumelo *Pleurotus florida***. 2009, 65f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia - UNESP – Campus de Ilha Solteira. Ilha Solteira, 2009.

FILGUEIRAS, G. B. Distinção dos papéis exercidos pela visão e pelo tato na aversão aos braços abertos do labirinto em cruz elevado. 2011. 62f. Dissertação (Mestrado em Análise do Comportamento) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. **Agaricales**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12>>. Acesso em: 28 ago. 2019.

FORTÓ, T. A. **Nuevos enfoques en el tratamiento de la depresión mayor resistente: propuesta de estudio piloto de tratamiento con Psilocibina**. 2018. 31p. TCC (Graduação em Medicina) - Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Medicina, Barcelona, 2018.

FREITAS, A. C. P. M. **Cogumelos e seus efeitos terapêuticos**. 2013. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

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.

GAO, Z.; ZHANG, C.; TIAN, C.; REN, Z.; SONG, X.; WANG, X.; XU, N.; JING, H.; LI, S.; WEIRU LIU, W.; ZHANG, J.; JIA, L. Characterization, antioxidation, anti-inflammation and renoprotection effects of selenized mycelia polysaccharides from *Oudemansiella radicata*. **Carbohydrate Polymers**, v.181, n. [s.i], p. 1224–1234, 2018.

GARCÍA, L. S. Síndrome alucinógeno, indoles alucinógenos. **Revista Catalana de Micologia**, v. 37, n. [s.i.], p.75-85, 2016.

GARCIA, S. SÍNDROME ALUCINÓGENO, INDOLES ALUCINÓGENOS. **Revista Catalana de Micologia**, v. 37, p.75-85, 2016.

GELFUSO, E. A.; ROSA, D. S.; FACHIN, A. L.; MORTAR, M. R.; CUNHA, A. O. S.; BELEBONI, R. O. B. Anxiety: A Systematic Review of Neurobiology, Traditional Pharmaceuticals and Novel Alternatives from Medicinal Plants. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v.13, p.150-165, 2014.

GENG, X.; TIAN, G.; ZHANG, W.; ZHAO, Y.; ZHAO, L.; RYU, M.; WANG, H.; NG, T. B. 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, p.10141-10153, 2015.

GIMENES, L. J. **Fungos Basidiomicetos: Técnicas de coleta, isolamento e subsídios para processos biotecnológicos**. 2010. 19p. Curso de Capacitação de monitores e educadores (Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica, São Paulo, 2010.

GLAMOCLJA, J.; SOKOVIC, M. Fungi a source with huge potential for “mushroom pharmaceuticals”. **Lekovite Sirovine**, n. 37, p.50-56, 2017.

GOMES, J. P.; GASPAR, D. M. A origem da depressão: Teorias sobre o desconhecido. **IV SIMPÓSIO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS MÉDICAS**, 2018.

GOMES-SILVA, A. C. G.; GIBERTONI, T. B. Checklist of the aphylllophoraceous fungi (Agaricomycetes) of the Brazilian Amazonia. **Mycotaxon**, v.108, p.319-322, p. 2009.

GOYATÁ, S. L. T.; AVELINO, C. C. V.; SANTOS, S. V. M.; SOUZA, J. R., GURGEL, M. D. S. L.; TERRA, F. S. Effects from acupuncture in treating anxiety: integrative review. **Ver. Bras. Enferm.**, v. 69, n.3, p.564-571, 2016.

GRUPE, D. W.; NITSCHKE, J. B. Uncertainty and anticipation in anxiety: an integrated neurobiological and psychological perspective. **Nature Reviews Neuroscience**. v.14, p.1-14, 2013.

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.

HALLER, J.; ALICKI, M. Current animal models of anxiety, anxiety disorders, and anxiolytic drugs. **Curr Opin Psychiatry**. v.25, n.1, p.59-64, 2012.

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.

ITO, T.; KATO, M.; TSUCHIDA, H.; HARADA, E.; NIWA, T.; OSAWA, T. Ergothioneine as an Anti-Oxidative/Anti-Inflammatory Component in Several Edible Mushrooms. **Food Sci. Technol. Res.**, v.17, n.2, p.103–110, 2011.

JANG, H. J.; KIM, J. E.; JEONG, K. H.; LIM, S. C.; KIM, S. Y.; CHO, K. O. The Neuroprotective Effect of *Hericium erinaceus* Extracts in Mouse Hippocampus after Pilocarpine-Induced Status Epilepticus. **Int J Mol Sci**. v.20, n.4, 2019.

KALETA, B.; GÓRSKI, A.; ZAGOŹDŹON, R.; CIEŚLAK, M.; KAŹMIERCZAK-BARAŃSKA, J.; NAWROT, B.; TURŁO, J. Selenium-containing polysaccharides from *Lentinula edodes* - Biological activity. **Carbohydrate Polymers**, v.223, n.115078, p. 1-8, 2019.

KANDRATAVICIUS, L.; BALISTA, P. A.; LOPES-AGUIAR, C.; RUGGIERO, R. N.; UMEOKA, E. H.; GARCIA-CAIRASCO, N.; BUENO-JUNIOR, L. S.; LEITE, J. P. Animal models of epilepsy: use and limitations. **Neuropsychiatr Dis Treat.**, v. 10. p. 1693–1705, 2014.

KAYGISIZ, B.; ÖZATIK, F.; EROL, K. Interaction of Sertraline and Nimodipine on Some Behavioural Tests in Rats. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v.23, n.2, p.169-175,2014.

KIRIMLIOĞLU, G. Y.; YAZAN, Y.; EROL, K.; ÇENGELLI ÜNEL, Ç. Gamma-aminobutyric acid loaded halloysite nanotubes and in vitro-in vivo evaluation for brain delivery. **Int J Pharm.** v. 30, n.495, p.816-826. 2015.

LAFER, B.; VALLADA-FILHO, H. P. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Rev. Bras. Psiquiatr.** vol.21, n.1, p.12-17, 1999.

LARGENT, D. et al. **How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features.** Eureka, CA: Mad River Press Inc., 1977. 148 p.

LISIEUX, G. L. L.; FERNANDES, M. G. M.; NÓBREGA, M. M. L. Ansiedade da hospitalização em crianças: análise conceitual. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.69, n.5, p. 940-945, 2016.

LOGUERCIO-LEITE, C.; GROPOSO, C.; DRESCHLER-SANTOS, E. R.; FIGUEIREDO, N. CF.; GODINHO, P. S.; ABRÃO, R. L. A particularidade de ser um fungo: Constituintes celulares. **Biotemas**, v.19, n.2, p.17-27, 2006.

MAHAR, I.; BAMBICO, F. R.; MECHAWAR, N.; NOBREGA, J. N. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. **Neurosci Biobehav Rev.** v.38, p.173-192, 2014.

MAIA, L. C.; CARVALHO JUNIOR, A. A. Introdução: os fungos do Brasil. In: FORZZA, R. C., et al (org.). **INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO: Catálogo de plantas e fungos do Brasil.** Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 43-48.

MANDRILE, E. L.; PFIRTER, G. M. B. NAJERA, M. T. Principios Activos Naturales con Acción Alucinógena: Psilocina y Psilocibina. Su presencia en ciertos géneros de Basidiomicetes. **Acta Farm. Bonaerense**, v.2, n.2, p.105-117, 1983.

MARESCAUX, C.; MICHELETTI, G.; VERGNES, M.; DEPAULIS, A. RUMBACH, L.; WARTER, J. M. A model of chronic spontaneous petite mal-like seizures in the rat: comparison with pentylentetrazole-induced seizures. **Epilepsia.** v.25, p.326–331, 1984.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; OLIVEIRA SILVEIRA, R. O. **Relação entre estressores, estresse e ansiedade**, v.25, n.1, p.65-74, 2003.

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 1, p.22-34, 2016.

MOEZI, L.; PIRSALAMI, F.; INALOO, S. Constipation enhances the propensity to seizure in pentylentetrazole-induced seizure models of mice. **Epilepsy Behav.**, v. 44, p200-206, 2015.

MONTIEL, J. M.; BARTHOLOMEU, D.; MACHADO, A. A.; PESSOTTO, F. Caracterização dos sintomas de ansiedade em pacientes com transtorno de pânico. **Boletim Academia Paulista de Psicologia**, v. 34, n. 86, p. 171-185, 2014.

MUELLER, G.M.; SCHMIT, J. P. Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? **Biodivers Conserv**, v. 16, n. 1, p. 1–5, 2007.

MUZZI, M. R. S. **Taxonomia de criptógmas fungos: Filo Basidiomycota**. 2013. 32P. - Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

MYCOBANK. Mycobank Database: Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. *Leucopaxillus*. Disponível em: <http://www.mycobank.org/BioloMICSDetails.aspx?Rec=56840>. Acessado em: 20 de abril de 2020.

NAKAMICHI, N.; NAKAYAMA, K.; ISHIMOTO, T.; MASUO, Y.; WAKAYAMA, T.; SEKIGUCHI, H.; SUTOH, K.; USUMI, K.; ISEKI, S.; KATO, Y. Food-derived hydrophilic antioxidant ergothioneine is distributed to the brain and exerts antidepressant effect in mice. **Brain Behav.** v.6, n.6, p.1-10, 2016.

NKANTCHOUA, N. G. C.; NJAPDOUNKE, K. J. S.; FIFEN, J. J.; TAIWE, S. G.; OJONG, L. J.; KANDEDA, K. A.; NGO, B. E. Anticonvulsant effects of *Senna spectabilis* on seizures induced by chemicals and maximal electroshock. **Journal of Ethnopharmacology.** v.212, p.18-28, 2017.

NUSS, P. Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation. **Neuropsychiatr Dis Treat.** v.11, p.165-175, 2015.

OGBOLE, O. O.; NKUMAH, A. O.; AUGUSTA U. LINUS, A. U.; FALADE, M. O. Molecular identification, in vivo and in vitro activities of *Calvatia gigantea* (macro-fungus) as an antidiabetic agent. **Mycology,** v.10, n.3, p.166-173, 2019.

OLIVEIRA, E. R. A. **Estudo da Atividade Biológica do Interferon alfa-2b em Células Hep-2C para Aplicação em Ensaios de Determinação de Potência**. 2010, 99f. Dissertação (Pós-graduação em Vigilância Sanitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Rio de Janeiro, 2010.

OLIVEIRA, K. K. C. **Atividade antimicrobiana de Basidiomicetos ocorrentes na Amazônia**. 2014. 68F. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa MultiInstitucional de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

OLIVEIRA, M. S. **Efeitos da administração crônica de agomelatina sobre comportamentos relacionados a depressão de ratas submetidas ao teste do nado forçado**. 2019. 39f. Monografia (Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAN). **Folha informativa - Transtornos mentais (2018)**. Acessado em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5652:folhainformativa-transtornos-mentais&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5652:folhainformativa-transtornos-mentais&Itemid=839). Data de acesso: 11 de fevereiro de 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAN). **Investimentos em saúde mental devem aumentar para atender às necessidades atuais das Américas (2019)**. Acessado em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5882:investimeinvem-em-saude-mental-devem-aumentar-para-atender-as-necessidades-atuais-das-americas&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5882:investimeinvem-em-saude-mental-devem-aumentar-para-atender-as-necessidades-atuais-das-americas&Itemid=839). Data de acesso: 11 de fevereiro de 2020.

PAMPLONA, G. S. P. **Conectividade funcional do cérebro: uma análise das associações com desempenho intelectual e atenção sustentada usando imagens por ressonância magnética.** 2014. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

PAULI, P. A. **Avaliação da composição química, compostos Bioativos e atividade antioxidante em cogumelos comestíveis.** 2010. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2010.

PEGLER, D. N. **Agaric flora of the Lesser Antilles.** London: Kew Bulletin, 1983. 668 p.

PEREIRA, E. A. P. C. **Contribuição para a inventariação química e nutricional de cogumelos do Nordeste de Portugal.** 2011. 70f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, Bragança, 2011.

PESSOA, F. B. **Extração e caracterização química de Polissacarídeos de Basidiomicetos comestíveis de ocorrência na Amazônia.** 2016. 85f. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016.

PORSOLT, R. D. *et al.*, Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* v.266, n.5604, p.730-732, 1977.

PORTO, L. A.; SIQUEIRA, J. S.; SEIXAS, L. N.; ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Papel dos Canais Iônicos nas Epilepsias e Considerações Sobre as Drogas Antiepilépticas – Uma breve revisão. **J Epilepsy Clin Neurophysiol**, v.13, n.4, p.269-175, 2007.

RIBEIRO, B.; ANDRADE, P. B.; BAPTISTA, P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; SEABRA, R. M.; VALENTÃO, P. *Leucopaxillus giganteus* Mycelium: Effect of Nitrogen Source on Organic Acids and Alkaloids. **J. Agric. Food Chem.** v.56, p.4769–4774, 2008.

RODGERS, R. J.; DALVI, A. Anxiety, Defence and the Elevated Plus-maze. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801–810, 1997.

ROSA, T. G. **Influência dos agentes estressores no aumento dos níveis de cortisol plasmático.** 2016, 46f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade de Rio Verde. Rio Verde, 2016

ROY-BYRNE, P. P.; DAVIDSON, K. W.; KESSLER, R. C.; ASMUNDSON, G. J.; GOODWIN, R. D.; KUBZANSKY, L.; LYDIARD, R. B.; MASSIE, M. J.; KATON, W.; LADEN, S. K.; STEIN, M. B. Anxiety disorders and comorbid medical illness. **Gen Hosp Psychiatry.** v.30, n.3, p.208-225, 2008.

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, Ma. Mushroom heteropolysaccharides: A review on their sources, structure and biological effects. **Carbohydrate polymers**, v. 136, p. 358-375, 2016.

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.

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.

SABIHI, S.; DONG, S. M.; MAURER, S. D.; POST, C., LEUNER, B. Oxytocin in the medial prefrontal cortex attenuates anxiety: Anatomical and receptor specificity and mechanism of action. **Neuropharmacology** v.125, p.1-12, 2017.

SAJON, S. R.; SANA, S.; RANA, S.; RAHMAN, S. M. M.; NISHI, Z. M. Mushrooms: Natural factory of antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and nutrition. **Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry**, v. 7, n. 1, p.464-475, 2018.

SANTOS, A. E.; DUARTE, A.; FERREIRA, W. J. Produtos naturais alucinógenos: aspectos históricos, químicos e farmacológicos. **Rev. UFRJ**. v.2, p.1-20, 2019.

SANTOS, E. R. D. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos**. Florianópolis: LANTEC, 2015.

SANTOS, G. S. **Diversidade e atividade antibacteriana de basidiomicetos Amazônicos**. 2017. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2017.

SEABRA, A. L. **Cogumelos e saúde**. 2015. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2015.

SHIMADA, T.; YAMAGATA, K. Pentylentetrazole-Induced Kindling Mouse Model. **J. Vis. Exp.** v.136, p.1-10, 2018.

SILVA, R. R.; COELHO, G. D. **Fungos: principais grupos e aplicações biotecnológicas**. 2006. 20p. Curso de Capacitação de monitores e educadores (Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica, São Paulo, 2006.

SILVEIRA, K. M. **Avaliação do efeito tipo-depressivo da aradonoil serotonina no teste do nado forçado**. 2018. 29f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) – Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2018.

SIMÕES, M. G. **Desenvolvimento e crescimento da espécie de cogumelo *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado**. 2015. 114f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Departamento de Ciências Agrárias, Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, 2015.

SOARES, C. S. M. **Mecanismos neuronais e tratamento farmacológico na perturbação da ansiedade generalizada em adultos**. 2017. 75f. Dissertação (Mestrado em ciências Farmacêuticas) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2017.

SOUZA, H. Q.; AGUIAR, I. J. A. Diversidade de Agaricales (Basidiomycota) na Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v.34, n.1, p.43-51, 2004.

STAHLING, A. L.; SCOPEL, S.; MARQUES, S. M. T.; QUADROS, R. M. Identificação de fungos ungueais em gatos sadios de Santa Catarina de interesse na saúde pública. **PUBVET**, v.13, n.1, p.1-5, 2019.

TAIWE, G. S.; DABOLE, B.; TCHOYA, T. B.; MENANGA, J. R.; DZEUFUET, P. D. D.; DE-WAARD, M. Anticonvulsant effects of iridoid glycosides fraction purified from *Feretia apodanthera* Del. (Rubiaceae) in experimental mice models of generalized tonic-clonic seizures. **BMC Complement Altern Med**. v.16, n.285, 2016.

TELLES-CORREIA, D.; GUERREIRO, D. F.; OLIVEIRA, S.; FIGUEIRA, M. L. Diferenças farmacodinâmicas e farmacocinéticas entre os SSRI: Implicações na Prática Clínica. **Acta Med Port** v.20, p.167-174, 2007.

TORRES, F. A. E. et al. Natural colorants from filamentous fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 6, p. 2511-2521, 2016.

VAJDA, F. J. E.; O'BRIEN, T. J.; GRAHAM, J. E.; HITCHCOCK, A. A.; LANDER, C. M.; EADIE, M. J. Antiepileptic drug polytherapy in pregnant women with epilepsy. **Acta Neurol Scand**. v.138, n.2, p.115-121, 2018.

VAL-DA SILVA, R. A.; BACHIEGA-SALVIANO, G. L.; ZANETTI, A. C.; ROMCY-PEREIRA, R. N.; VELASCO, T. R.; LEITE, J. P. Papel das Sinapses Elétricas em Crises Epiléticas. **J Epilepsy Clin Neurophysiol.**, v.16, n.4, p.149-154, 2010.

VARGAS-ISLA, R. et al. **Instruções de coleta de macrofungos agaricales e gasteroides**. Manaus: Editora INPA, 2014. 30 p.

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.

VIEIRA, V.; BARROS, L.; MARTINS, A.; FERREIRA, I. C. F. R. Nutritional and Biochemical Profiling of *Leucopaxillus candidus* (Bres.) Singer Wild Mushroom. **Molecules**. v.21, n.99, p.1-10, 2016.

VISMARI, L.; ALVES, G. J.; PALERMO-NETO, J. Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema. **Ver. Psiq. Clín.**, v.35, n.5, p.196-204, 2008.

WANG, C.; ZHANG, W.; WONG, J. H.; TZIBUN, N. G.; XIUJUAN, Y. E. Diversity of potentially exploitable pharmacological activities of the highly prized edible medicinal fungus *Antrodia camphorata*. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v.103, p.7843-7867, 2019.

WANG, H. J. Production and molecular characteristics of four groups of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus gilvus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 708-719, 2013.

YACUBIAN, E. M. T.; SILVIA, K. **Crises epilépticas**. São Paulo: Leitura Médica, 2014. 98p.  
YASIN, H.; ZAHOOR, M.; YOUSAF, Z.; AFTAB, A.; SALEH, N.; RIAZ, N.; SHAMSHEER, B. Ethnopharmacological exploration of medicinal Mushroom from Pakistan. **Phytomedicine**, v.54, n.15, 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.

ZHANG, C.; GAO, X.; SUN, Y.; SUN, X.; WU, Y.; LIU, Y.; YU, H.; CUI, G. Anxiolytic Effects of Royal Sun Medicinal Mushroom, *Agaricus Brasiliensis* (Higher Basidiomycetes) on Ischemia-Induced Anxiety in Rats. **Int J Med Mushrooms**, v.17, n.1, p.1-10, 2015.

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.

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.

## ANEXOS

## ANEXO 1 (CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS EM PESUISA)



**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**.

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

\_\_\_\_\_  
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 2 (CAPÍTULO 1 – PUBLICADO NO LIVRO CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA)

## **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>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil;

<sup>2</sup> 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*, Anti-inflamatório.

# **BIOLOGICAL ACTIVITIES OF AGARICALES (AGARICOMICETS): SYSTEMATIC REVIEW**

## **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.

Key words: Mushrooms, *Pleurotus*, 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. MATERIAL 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**

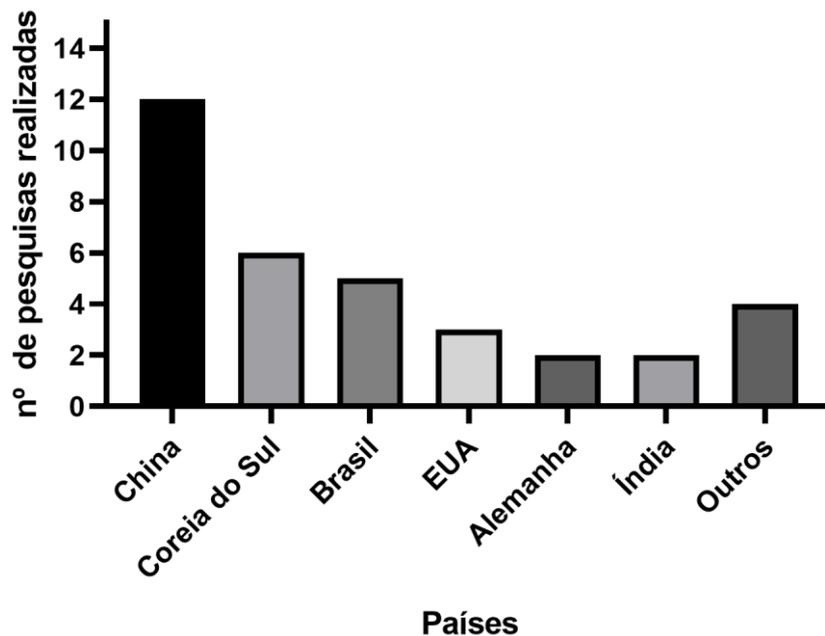
Após a avaliação dos artigos foram selecionados um total de 34 trabalhos, conforme descrito no quadro 1, os quais foram utilizados nos resultados e discussão do presente estudo.

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

<b>Descritores</b>	<b>SciELO</b>	<b>BVS</b>	<b>Pubmed</b>	<b>Science Direct</b>	<b>Total</b>	<b>Selecionados</b>
“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.

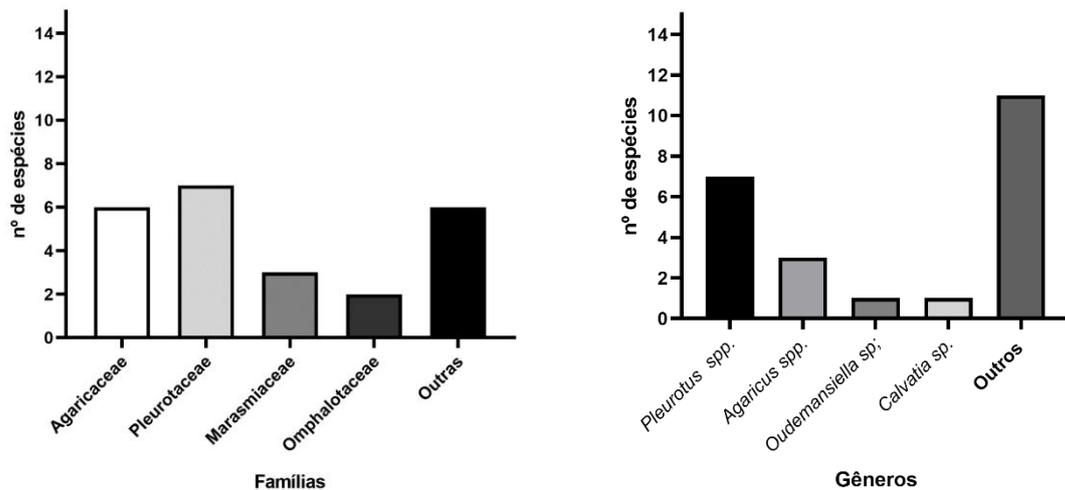


**Figura 1.** Número de pesquisas realizadas com Agaricales no Mundo.

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).

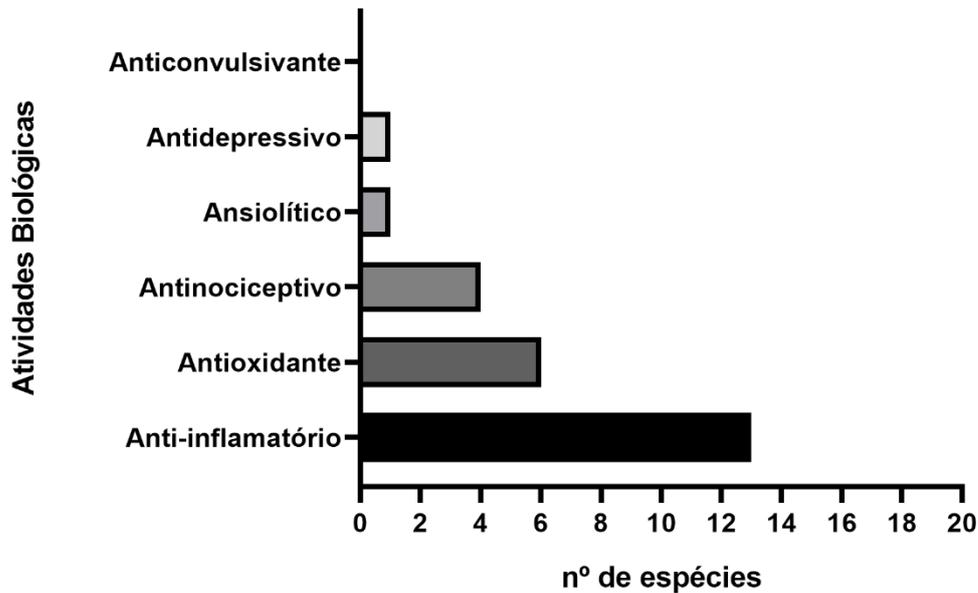


**Figura 2.** Famílias e Gêneros das espécies de Agaricales com relato de atividades biológicas.

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 (APACZ et al., 2016; MOEZI et al., 2015).

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 scyentifica 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 anti-oxidative 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.correio braziliense.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.; MU" NCH, 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 *Hypsizygus 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.; GLAMOCLIIJA, J.; VAN GRIENSVEN, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; SOKOVIC, M. An insight into antidiabetic properties of six medicinal and edible mushrooms: Inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -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 3 (CAPÍTULO PUBLICADO NO LIVRO CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA)

**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, *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, *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. MATERIAL 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.

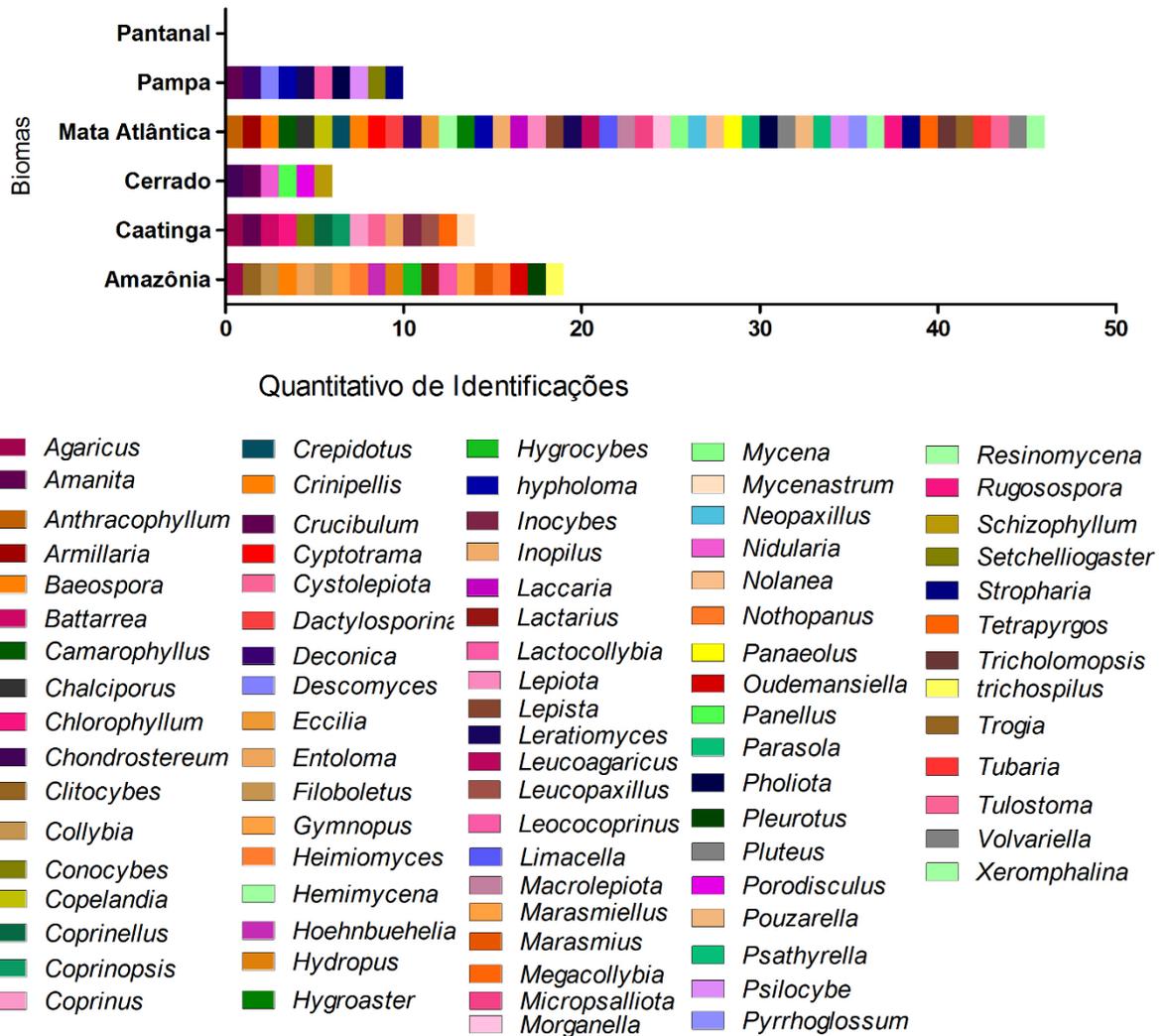
**Tabela 1.** Publicações sobre Agaricales ocorrentes no Brasil.

<b>BASES</b>	<b>TOTAL</b>	<b>SELECIONADOS</b>
GOOGLE ACADÊMICO	362	20
SCIELO	23	20
PUBMED	38	2
SCIENCE DIRECT	203	3
<b>TOTAL</b>	<b>626</b>	<b>45</b>

### 3. 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; Physalaciaceae 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. purpurellus*, *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. subamanitiformis*, *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. bambusiniiformis*, *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. holoporphya*, *M. oculisymphae*; *Resinomyцена 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: *Cyptotrampa asprata*; *Dactylosporina steffenii*; *Oudemansiella canarii*; (1%) Cortinariaceae: *Pyrrhoglossum* cf. *holocrocium* (1%) Inocybaceae: *Tubaria* cf. *dispersa*.

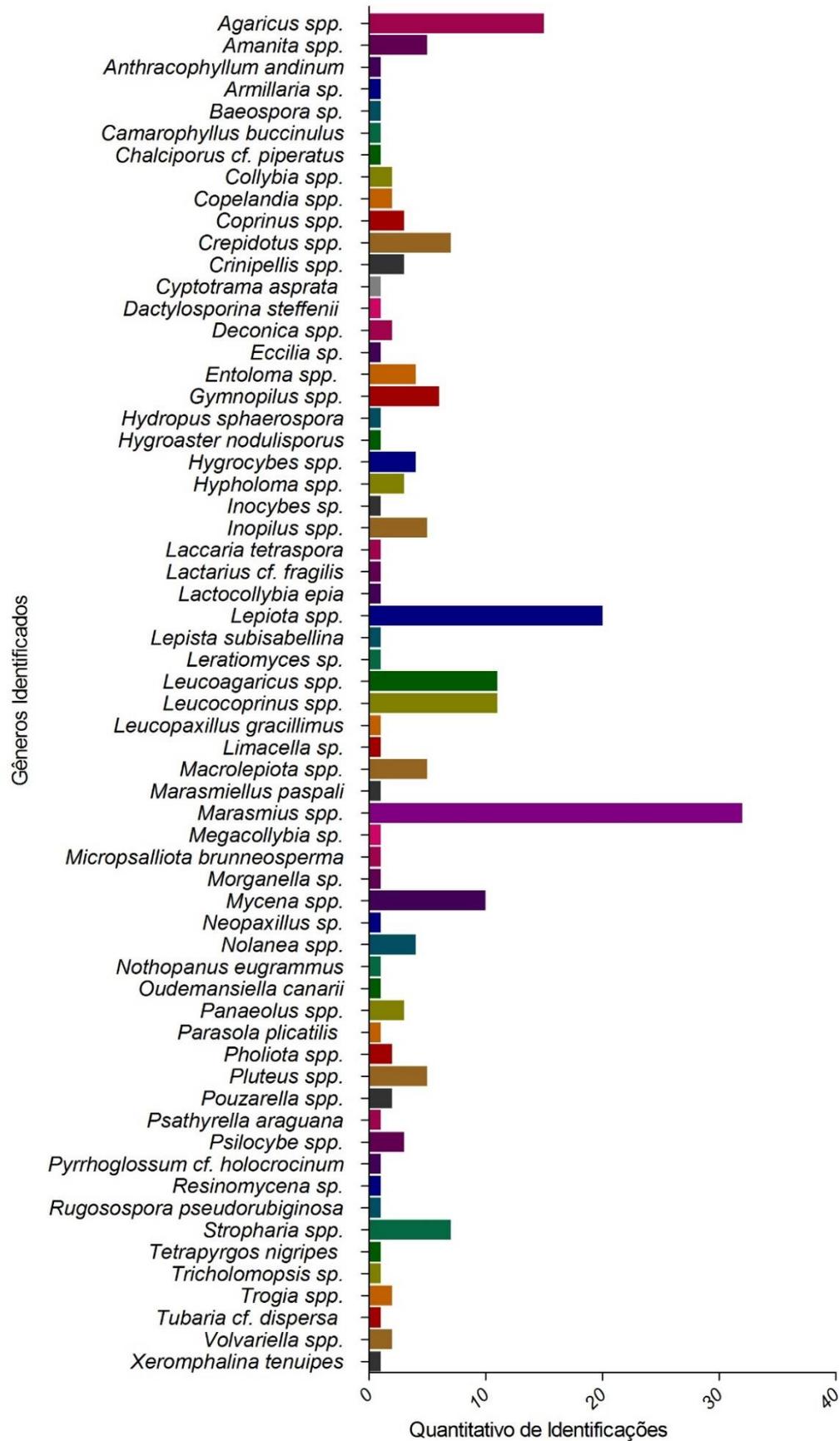
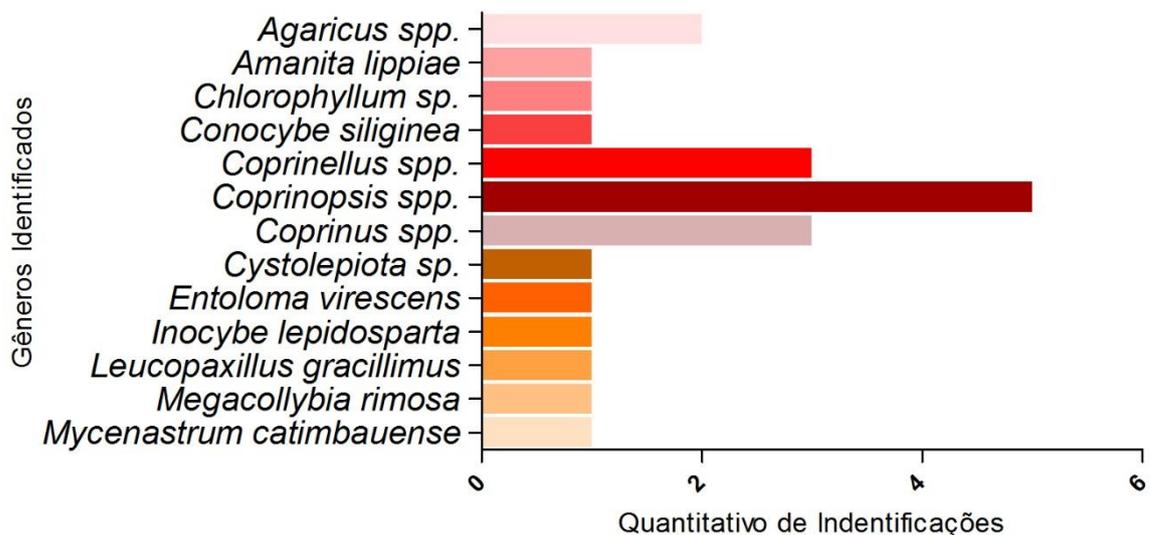


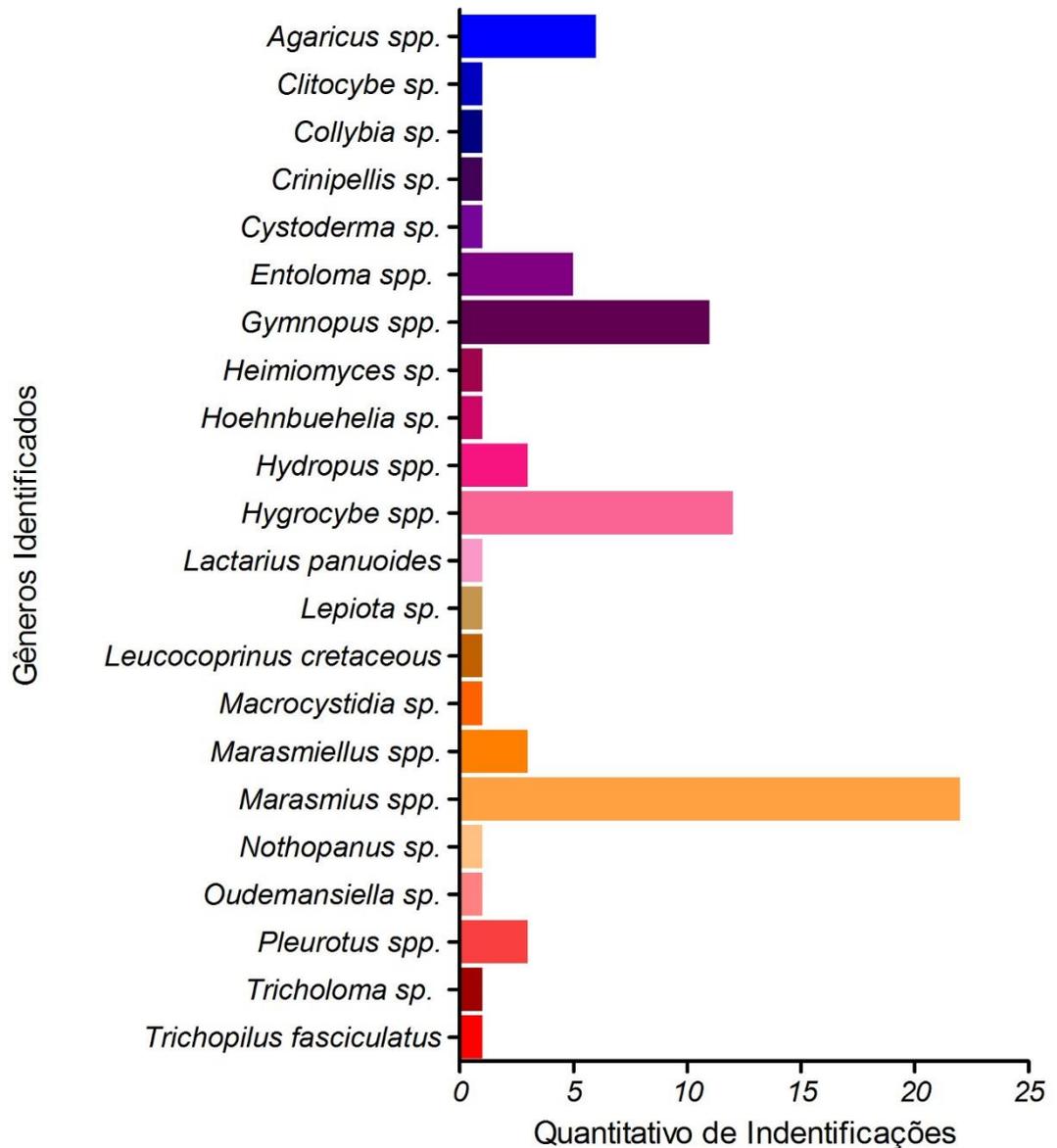
Figura 2. Diversidade de Agaricales descritos no bioma Mata Atlântica – Brasil.

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

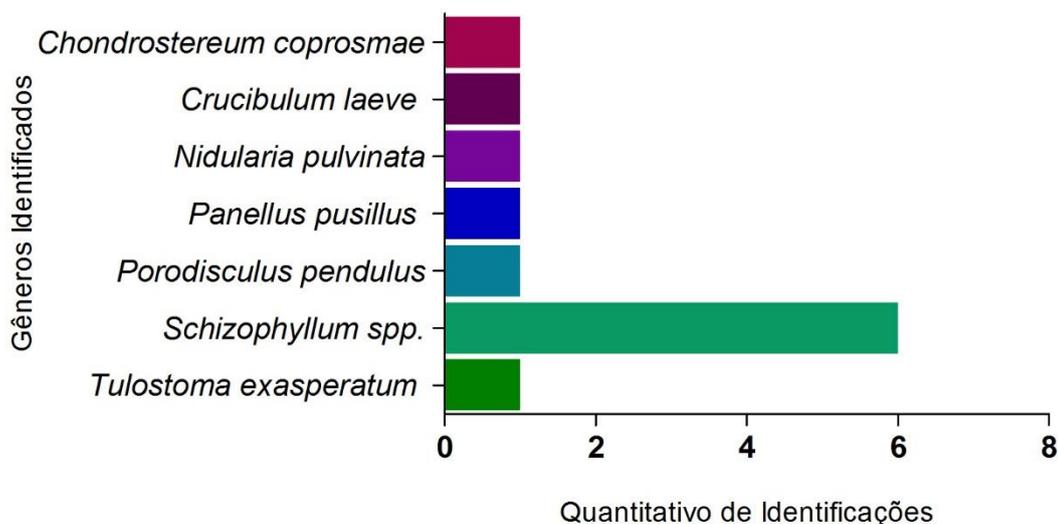
No bioma Amazônia foram relatados seis trabalhos, sendo apresentados 87 fungos, pertencentes a 22 gêneros. Os gêneros mais frequentes foram *Marasmius* (13,6%), *Hygrocybe* (10%), *Gymnopus* (9,1%) e *Agaricus* (9,1%), conforme apresentado na Figura 2. Foram relatadas como primeira ocorrência três novas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



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

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

#### 4. DISCUSSÕES

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).

## 5. CONCLUSÕES

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*.

## 6. 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 folhedo. **Acta Botânica Brasileira**, 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**. 2<sup>a</sup> 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 dulciadora* (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; CÁMARA 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.