



BRUNA DE CASTRO PEREIRA

**EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA SÉRIE n3 E n6 NO
REPARO DE LESÕES CUTÂNEAS EM *Oreochromis niloticus***

**LAVRAS - MG
2021**

BRUNA DE CASTRO PEREIRA

**EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA SÉRIE n3 E n6 NO REPARO DE LESÕES CUTÂNEAS
EM *Oreochromis niloticus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como Parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

Prof^a. Dra. Priscila Vieira Rosa
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pereira, Bruna de Castro.

Efeito dos ácidos graxos da série n3 e n6 no reparo de lesões
cutâneas em *Oreochromis niloticus* / Bruna de Castro Pereira. -
2021.

91 p.

Orientador(a): Priscila Vieira Rosa.

Coorientador(a): Renan Rosa Paulino.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Ácidos Graxos. 2. Imunomodulação. 3. Reparo de lesões. I.
Rosa, Priscila Vieira. II. Paulino, Renan Rosa. III. Título.

BRUNA DE CASTRO PEREIRA

**EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA SÉRIE n3 E n6 NO REPARO DE LESÕES CUTÂNEAS
EM *Oreochromis niloticus***

**EFFECT OF SERIES n3 AND n6 FATTY ACIDS ON SKIN LESION REPAIR IN *Oreochromis
niloticus***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como Parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 29 de outubro de 2021.

Dr ^a . Priscila Vieira Rosa	UFLA
Dr. Luis David Solis Murgas	UFLA
Flademir Worters	UFLA
Renan Rosa Paulino	UFLA
Felipe Guedes de Araújo	UFAPE



Prof^a. Dra. Priscila Vieira Rosa
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

*“No fim tudo dá certo, e se não deu certo é porque
ainda não chegou ao fim!”*

*Dedico essa vitória
à Deus, aos meus pais, meu namorado,
minhas afilhadas e meus irmãos!!!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me trazer até aqui e por realizar tantos sonhos que nunca pensei serem possíveis.

À Virgem Maria, que sempre intercede por mim e me cobre com seu manto sagrado.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, pela oportunidade concedida para a realização do doutorado.

À minha orientadora, Prof^a Priscila Vieira Rosa, pela amizade, apoio e confiança. Obrigada por me inspirar como mulher e profissional!!

Ao Prof. Fladimir e Prof^a. Angélica, por todo auxílio e aprendizado. E à equipe do Laboratório de Patologia Veterinária da UFLA, por toda ajuda na realização das análises.

Ao Prof^o Murgas, Renan e Felipe por estarem sempre dispostos a compartilhar conhecimento.

À toda equipe da Estação de Piscicultura da UFLA, em especial ao Eleci e Sr. José, por todo cuidado e atenção com nossos peixinhos.

À Vânia e Stefânia, pela amizade e por todo apoio na realização das análises.

À minha mãe Suely e ao meu namorado Maxwell, que estiveram presentes em todos os momentos dessa minha caminhada, desde o planejamento, arraçamento, abate dos peixes, análises no laboratório e elaboração da tese. Ao meu pai Luiz, meus irmãos Amanda e Luiz Henrique, minhas afilhadas Allana e Yasmin, minha vó Irene, por todos os momentos de diversão e alegria! Muito obrigada meus amores, vocês são a razão da minha vida!!

À minha cunhada Camila por ser a biomédica preferida dos meus peixinhos!

Aos meus cunhados Elisson e Tamella e meus sogros Sérgio e Débora.

Às minhas amigas Francismara e Régila, por estarem ao meu lado mesmo distante fisicamente.

À Mariana, Mirian e Renata, por serem minhas amigas e companheiras nesses anos de UFLA.

À Dona Lia, Marli, Sr. Francisco, Dona Dulce e Sr. Antônio por me acolherem como filha de coração.

À todos os amigos que conquistei nessa minha nova jornada na GeneSeas.

À todos os professores do Departamento de Zootecnia e Medicina Veterinária.

Ao CNPq e à CAPES, pelas oportunidades concedidas e todo auxílio financeiro.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste sonho.

Muito obrigada!!!

RESUMO

No sistema de produção intensiva, os peixes estão mais susceptíveis a lesões diversas e estas servem como porta de entrada para agentes patogênicos, ocasionando perda econômica. De extrema importância para reduzir os impactos negativos, a reparação tecidual deve ser rápida e eficaz para o retorno à homeostase. O fornecimento de ácidos graxos polinsaturados pode modular o processo de reparo de feridas em inúmeras espécies. Nesse contexto, o objetivo foi avaliar o efeito da suplementação de diferentes fontes de ácidos graxos no desempenho, composição bromatológica, parâmetros bioquímicos e na regeneração de lesões cutâneas em *Oreochromis niloticus*. Foram utilizados 144 peixes, alojados em 36 aquários de 16L, em delineamento inteiramente casualizado. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia com três dietas experimentais, variando apenas as fontes lipídicas (óleo de peixe, óleo de milho e óleo de linhaça). A indução da ferida foi realizada 30 dias após o fornecimento das dietas, através de um bisturi *Punch* de 5mm. As amostras foram coletadas 12 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias após a lesão. Os dados biométricos e de consumo de ração foram utilizados para o cálculo dos parâmetros de desempenho. Os seguintes índices zootécnicos foram avaliados: hepatossomático (IHS), viscerossomático (IVS), intestinosomático (IIS) e de gordura visceral (IGVS). O perfil lipídico da dieta e dos peixes foi analisado através de cromatografia gasosa. Foi realizada a composição centesimal das dietas e dos peixes. O sangue foi coletado para avaliação da proteína plasmática, hematócrito, glicose, contagem total de eritrócitos e diferencial de leucócitos. Amostras de rim cranial, baço e plasma foram utilizadas para análise das interleucinas 1 β , 6 e 10 (IL-1 β , IL-6, IL-10), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e ciclooxigenase 2 (COX-2), por ensaio imunoenzimático. O processo de reparo tecidual foi acompanhado por análise histopatológica e através do software de imagens, AxioVision. Os dados foram avaliados por Two-Way ANOVA ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas no ganho de peso, conversão alimentar, IHS, IVS, IIS, IGVS e na composição centesimal dos peixes para as variáveis, matéria seca, proteína bruta e cinzas. De maneira geral, os ácidos graxos do músculo refletiram a composição de ácidos graxos da dieta. O grupo com óleo de milho apresentou maior concentração sanguínea de neutrófilos após 12 horas e 7 dias. Os grupos suplementados com óleo de peixe e linhaça apresentaram uma menor área da ferida no 7º dia após a indução da lesão, com uma redução de 69% e 56%, comparado ao óleo de milho. A análise histopatológica revelou intensificação de reparo da epiderme e da derme, estimulação da síntese de fibroblastos e colágeno, e imunomodulação de citocinas e células inflamatórias nos tratamentos com óleo de peixe e linhaça. Com base nos resultados obtidos, sugere-se que os ácidos graxos da série n 3 aceleram o processo de reparo de lesões em *Oreochromis niloticus*.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Imunomodulação. Reparo de lesões. Peixes.

ABSTRACT

In the intensive production system, fish are more susceptible to various injuries and these serve as an entry point for pathogens, causing economic loss. Extremely important to reduce negative impacts, tissue repair must be fast and effective for the return to homeostasis. The supply of polyunsaturated fatty acids can modulate the wound repair process in many species. In this context, the objective was to evaluate the effect of supplementation of different sources of fatty acids on performance, chemical composition, biochemical parameters and on the regeneration of skin lesions in *Oreochromis niloticus*. 144 fish were used, housed in 36 aquariums 16L, in a completely randomized design. The animals were fed twice a day with three experimental diets, varying only the lipid sources (fish oil, corn oil and flaxseed oil). Wound induction was performed 30 days after feeding the diets, using a 5mm Punch scalpel. Samples were collected 12 hours, 1 day, 7 days and 14 days after injury. Biometric and feed intake data were used to calculate performance parameters. The following zootechnical indices were evaluated: hepatosomatic (IHS), viscerosomatic (IVS), intestine somatic (IIS) and visceral fat (IGVS). The lipid profile of diet and fish was analyzed by gas chromatography. The proximate composition of diets and fish was performed. Blood was collected to assess plasma protein, hematocrit, glucose, total erythrocyte count and leukocyte differential. Cranial kidney, spleen and plasma samples were used for analysis of interleukins 1 β , 6 and 10 (IL-1 β , IL-6, IL-10), tumor necrosis factor α (TNF- α) and cyclooxygenase 2 (COX-2), by enzyme-linked immunosorbent assay. The tissue repair process was followed by histopathological analysis and through the imaging software, AxioVision. Data were evaluated by Two-Way ANOVA ($p < 0.05$). No significant differences were observed in weight gain, feed conversion, IHS, IVS, IIS, IGVS and in the proximate composition of fish for the variables, dry matter, crude protein and ash. Overall, muscle fatty acids reflected the fatty acid composition of the diet. The corn oil group had a higher blood concentration of neutrophils after 12 hours and 7 days. The groups supplemented with fish oil and flaxseed had a smaller wound area on the 7th day after injury induction, with a reduction of 69% and 56%, compared to corn oil. Histopathological analysis revealed enhancement of epidermis and dermis repair, stimulation of fibroblast and collagen synthesis, and immunomodulation of cytokines and inflammatory cells in treatments with fish oil and flaxseed. Based on the results obtained, it is suggested that the n3 series fatty acids accelerate the process of regeneration of lesions in *Oreochromis niloticus*.

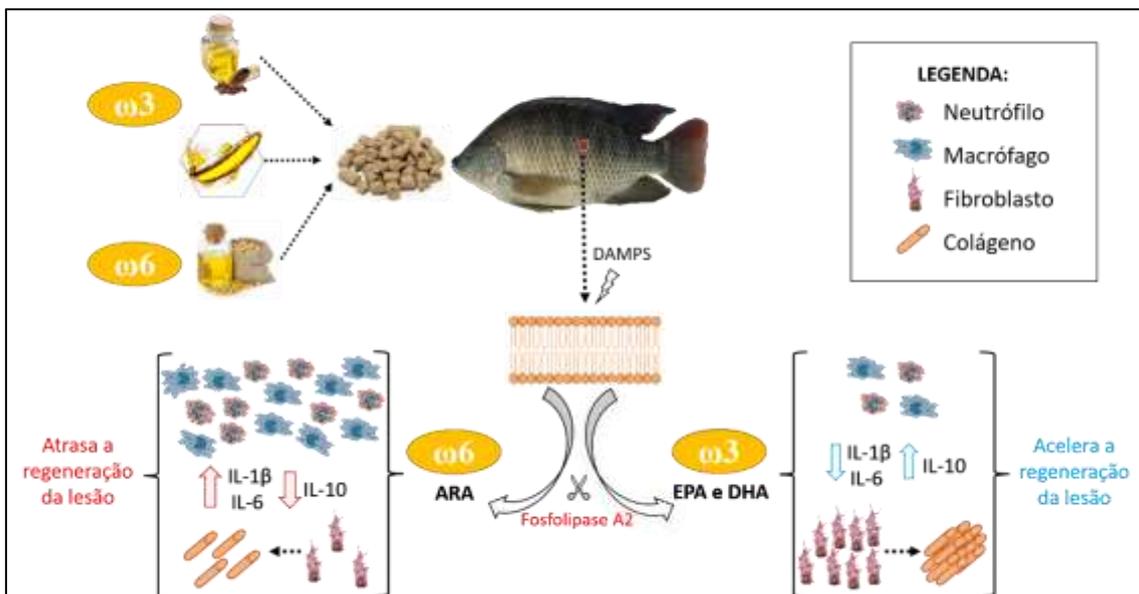
Keywords: Fatty acids. Immunomodulation. Repair of injuries. Fish.

Resumo interpretativo e resumo gráfico

Efeito dos ácidos graxos da série n3 e n6 no reparo de lesões cutâneas em *Oreochromis niloticus*

Elaborado por **Bruna de Castro Pereira** e orientado por **Priscila Vieira Rosa**

Feridas cutâneas interrompem a homeostase e predisõem o organismo às infecções oportunistas. Conhecer os mecanismos de defesa imune permite a compreensão da patogênese e das possíveis estratégias para o reparo tecidual. Após uma lesão, os padrões moleculares associados a danos (DAMPs), estimulam a liberação de ácidos graxos (AGs) da bicamada fosfolípídica, através da fosfolipase A2. Os AGs liberados serão utilizados como substrato para vias enzimáticas que desencadeiam a biossíntese de mediadores inflamatórios. AGs da via ômega 6 ($\omega 6$), elevam a diapedese de neutrófilos e macrófagos, e produzem altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, cronicando a inflamação e retardando a cicatrização de feridas. Por outro lado, os AGs da série 3 ($\omega 3$), modulam o sistema imunológico e aceleram o reparo da lesão. Esses resultados demonstram o papel nutracêutico dos AGs $\omega 3$ e seu potencial como agente de tratamento para futuras terapias de cicatrização de feridas em peixes.



Papel da suplementação dietética de ácidos graxos na regeneração de lesões cutâneas em peixes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Medição da área da lesão de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 2 - Níveis de IL-1 β no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 3 - Níveis de IL-1 β no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 4 - Níveis de IL-6 no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 5 - Níveis de IL-6 no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 6 - Níveis de TNF- α no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 7 - Níveis de TNF- α no plasma de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 8 - Níveis de IL-10 no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 9 - Níveis de IL-10 no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 10 - Níveis de COX-2 no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.
- Figura 11 - Níveis de COX-2 no plasma de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição centesimal das dietas experimentais.	52
Tabela 2 - Composição de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais) das dietas experimentais.	53
Tabela 3 - Material utilizado para análise de citocinas através de comercial Kit ELISA.	55
Tabela 4 - Desempenho de crescimento e índices corporais de tilápias alimentadas com diferentes fontes de ácidos graxos na dieta.	56
Tabela 5 - Composição corporal e perfil de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) de juvenis de tilápia alimentados com as dietas experimentais.	57
Tabela 6 - Parâmetros hematológicos de tilápias alimentadas com diferentes fontes de ácidos graxos na dieta.	58
Tabela 7 - Parâmetros histopatológicos da pele de tilápias suplementadas com diferentes fontes de ácidos graxos.	61

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGs	Ácidos graxos
ALA	Ácido linolênico
ARA	Ácido araquidônico
COX	Ciclooxigenase
CYP	Citocromo P450
DAMP	Padrões moleculares associados a danos
DHA	Ácido docosahexaenóico
DPI	Dias após a lesão
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra acético
EFA	Ácidos graxos essenciais
EPA	Ácido eicosapentaenóico
HSI	Índice hepatossomático
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
LC-PUFA	Ácidos graxos altamente insaturados
LA	Ácido linoleico
LOX	Lipooxigenase
LT	Leucotrieno
MUFA	Ácidos graxos monoinsaturados
PG	Prostaglandina
PAMP	Padrões moleculares associados a patógenos
PUFA	Ácidos graxos poliinsaturados
SAFA	Ácidos graxos saturados
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
VSI	Índice viscerossomático

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	14
1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1.	Processos fisiológicos de importância em feridas cutâneas nos peixes	16
2.2.	Ácidos graxos essenciais à nutrição de peixes	19
2.2.1.	Metabolismo de LC-PUFA.....	20
2.3.	Sistema Imune	22
2.3.1.	Leucócitos	23
2.3.2.	Citocinas	25
2.4.	Tilápia	27
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
	REFERÊNCIAS.....	29
	SEGUNDA PARTE	46
	ARTIGO	46
1	INTRODUÇÃO.....	49
2	MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1.	Dietas experimentais.....	51
2.2.	Ensaio de crescimento	51
2.3.	Métodos analíticos	53
2.4.	Análise Estatística	55
3	RESULTADOS	56
4	DISCUSSÃO	68
5	CONCLUSÃO.....	76
	REFERÊNCIAS.....	77

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A intensificação e comercialização da aquicultura são tendências para aumentar a produção e diminuir os custos. Entretanto, o elevado número de peixes nos tanques, a baixa qualidade de água e a utilização de dietas desbalanceadas, favorecem o desenvolvimento e rápida disseminação de doenças. Provocadas por uma ampla gama de organismos contagiosos, como bactérias, vírus, fungos e parasitos, as lesões e doenças tem impactos negativos sobre os peixes, criam uma ameaça vital e afetam o sucesso econômico da aquicultura.

A pele, como uma barreira, exerce papel essencial na proteção do corpo contra inúmeros fatores ambientais, como impactos mecânicos, pressões, variações de temperatura, ataques de microrganismos e produtos químicos. Vulnerável, ela pode ser danificada por lesões ou doenças, levando a infecções secundárias e outras complicações. Tal injúria do tecido desencadeia uma resposta inflamatória que facilita a defesa do hospedeiro. Compreender o processo de regeneração é, portanto, fundamental para minimizar o impacto, restaurar e preservar as funções normais da pele.

Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) desempenham um importante papel na saúde e nutrição dos animais. A essencialidade de alguns PUFAs, como o ácido linoleico (LA, 18:2 n-6) e ácido linolênico (LNA, 18:3 n-3), decorre da incapacidade dos vertebrados de sintetizá-los *de novo* (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; BELL e TOCHER, 2009; TOCHER et al., 2010). Peixes teleósteos de água doce são capazes de converter LA e LNA em compostos biologicamente ativos, denominados ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (LC-PUFA), incluindo os ácidos, araquidônico (ARA; 20:4 n-6), eicosapentaenóico (EPA; 20:5 n-3) e docosahexaenóico (DHA; 22:6 n-3) (TOCHER et al., 2002, 2010).

Os LC-PUFAs, participam de diversos processos fisiológicos cruciais como crescimento, reprodução, síntese de hormônios esteróides gonadais, função e estrutura das membranas celulares e modulação do sistema imunológico (IZQUIERDO et al., 2001; XIAO et al., 2001; SORBERA et al., 2001; CALDER, 2006; ARTS e KOHLER, 2009; WANG et al., 2017). Estudos demonstram que os ácidos graxos da série ômega 3 trazem benefícios para a saúde humana e reduzem o risco de doenças inflamatórias, cardiovasculares e neurológicas, alguns mecanismos têm sido propostos para explicar tais vantagens (FERNANDES e VENKATRAMAN, 1993; LOBO et al., 2016). Entre eles está o desvio da síntese de eicosanóides pró-inflamatórios, que levam a produção de prostaglandinas e leucotrienos com

menor poder inflamatório, outro fator importante, é a modulação de citocinas, como IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , além da produção de mediadores lipídicos anti-inflamatórios, como resolvinas, protectinas e maresinas (CHAPKIN et al., 2009; CALDER, 2010; JI et al., 2011). No entanto, a atuação dos ácidos graxos na regeneração de lesões em peixes ainda é pouco compreendida (PEREIRA, 2017).

A tilápia, *Oreochromis niloticus*, é uma espécie promissora na aquicultura devido às características como, rápida taxa de crescimento, conversão alimentar eficiente, fácil reprodução, tolerância à baixa qualidade da água, robustez, resistência à doenças e boa aceitação pelo consumidor (EL-SAYED, 2006). Estima-se que a produção global de tilápia chegará a 7,5 milhões de toneladas em 2030 (YUAN et al., 2017).

Uma vez que se tenha informações sobre os benefícios dos ácidos graxos na saúde e imunomodulação, é possível formular dietas com níveis e proporções adequadas, utilizando diferentes fontes de óleos. Neste contexto, variáveis acerca do desempenho, saúde, metabolismo e perfil de ácidos graxos, serão tomadas como parâmetros de resposta, para avaliar os efeitos dos ácidos graxos n-3 e n-6 na regeneração de lesões em peixes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Processos fisiológicos de importância em feridas cutâneas nos peixes

A pele atua como um órgão protetor dinâmico e desempenha papel fundamental no sistema imune, agindo como barreira ao ambiente externo. Nos peixes, ela é uma estrutura limitante complexa que fornece uma interface entre o ambiente aquático e o organismo, sendo única e histologicamente diversa (FAST et al., 2002; FONTENOT e NEIFFER, 2004; ESTEBAN, 2012). É o maior órgão, sendo contínuo com os revestimentos de todas as aberturas do corpo e abrange também as nadadeiras. Sua estrutura e função refletem a história natural do animal e sua adaptação as propriedades físicas, químicas e biológicas do ambiente aquático (ELLIOTT, 2011). Atua na manutenção da forma do corpo, proteção, percepção sensorial, preservação da hidrodinâmica, comunicação, locomoção, respiração, regulação de íons, excreção e proteção à patógenos (ELLIOTT, 2000; VARSAMOS et al., 2005; BARNES et al., 2006; MARSHALL e BELLAMY, 2010; KUBO, 2011; LAKRA et al., 2011; ESTEBAN e CEREZUELA, 2015).

Constituída por diversas células e receptores que acionam a primeira resposta após uma injúria, a pele desempenha um papel vital para os peixes (PARRA et al., 2015; GRAVITZ, 2018). A perda da integridade estrutural, comum na aquicultura intensiva, deixa a pele suscetível e vulnerável a contaminação por organismos patogênicos e corpos estranhos (TAVAREZ-DIAZ, 2009; FIAKOS et al., 2020; CHANDIKA et al., 2021). Compreender o mecanismo que restaura o dano e acelera a regeneração do tecido é importante para desenvolver estratégias terapêuticas bem-sucedidas afim de retorno à homeostasia (IBARZ et al., 2013; DINH et al., 2015; CEBALLOS-FRANCISCO et al., 2017; SEO et al., 2017; TUHIN et al., 2017; COSTA e POWER, 2018; VIMALRAJ et al., 2018).

Assim como em outras espécies, a regeneração de lesões em peixes, implica em eventos complexos, dentre eles o processo inflamatório, reepitelização, proliferação e remodelação (VERMA et al., 2017; COSTA e POWER, 2018; COSTA et al., 2018; CHEN et al., 2020). Cada uma dessas fases envolve a coordenação de diferentes tipos de células, como neutrófilos, monócitos/macrófagos, linfócitos, fibroblastos, citocinas, redes de sinalização, fatores de crescimento, mediadores inflamatórios, síntese e degradação da matriz extracelular (MEC) (IWATA et al., 2009; ESTEBAN e CEREZUELA, 2015; QING, 2017; SEO et al., 2017).

Semelhante a outros tecidos do corpo, a pele responde às lesões e danos graves, com uma resposta inflamatória. O sinal mais precoce da inflamação na epiderme teleóstea é

separação das células pela presença de líquido extracelular, o edema (ESTEBAN, 2012). Além disso, padrões moleculares associados a danos (DAMPs) ativam as células imunitárias da pele (INGERSLEV et al., 2010), liberando mediadores que promovem vasodilatação e aumento da permeabilidade dos capilares sanguíneos, o que facilita a migração das células de defesa. Altos níveis de citocinas, como IL-1 β e IL-6, são observadas um dia após a lesão, em resposta a liberação de DAMPs (GILLITZER e GOEBELER, 2001; PRZYBYLSKA-DIAZ et al., 2013). No entanto, se o processo de reparo persiste na fase inflamatória, haverá um retardo no tempo de cicatrização cutânea e instalação de uma ferida crônica (FRYKBERG et al., 2015; FIAKOS et al., 2020).

A célula epitelial é o elemento chave no mecanismo de reparação de feridas da pele, através de uma rápida diferenciação das células da camada basal (QUILHAC e SIRE, 1999; WAHLI et al., 2003). A reparação da estrutura dérmica e muscular necessita de um período maior comparado à epiderme (HALVER, 1972; QUILHAC e SIRE, 1999; WAHLI et al., 2003). É importante mencionar que a epiderme do peixe é avascular, característica que limita sua amplitude de resposta. Frequentemente, alterações na epiderme refletem alterações patológicas de outros tecidos ou órgãos, bem como alterações na derme (que é vascular). Tais alterações incluem degeneração, erosão, ulceração e infiltração leucocitária (ESTEBAN e CEREZUELA, 2015).

Os queratinócitos são células epiteliais diferenciadas que revestem a superfície das lesões, poucas horas após a injúria (BOCKELMANN et al., 2010; VIEIRA et al., 2011). Funções sobrepostas de migração, proliferação e diferenciação de queratinócitos são sinais de reepitelização (WHITEAR, 1970; HARRIS e HUNT, 1975; RAJA et al., 2007). Tais células secretam metaloproteinases de matriz (MMPS) que liberam fatores de crescimento e clivam a matriz extracelular e membranas basais (CHEN et al., 2020). Há uma interação coordenada entre a proliferação e a morte celular durante a cicatrização de feridas. Esse controle é de extrema importância para a manutenção da integridade arquitetônica e funcional da pele. Desequilíbrios na proliferação e morte celular podem interromper a função de barreira da pele e resultar na cicatrização inadequada de feridas (VERMA et al., 2017). Além disso, como resposta rápida à lesão, observa-se grande secreção e acúmulo de muco na superfície das células epiteliais, que está associada à sua função protetora contra microrganismos patogênicos (MITTAL e MUNSHI, 1974; RAI et al., 2012).

Em peixes, o fechamento dérmico é iniciado em média 6 dias após o ferimento, concomitante com a formação do tecido de granulação (ESTEBAN 2012; BRAIMAN-WIKSMAN et al, 2007). Este estágio é acompanhado pela atenuação da resposta inflamatória

e pelo início da fase proliferativa. O objetivo desta etapa é obter proteção da superfície da ferida e é caracterizada pelo aparecimento de tecido de granulação vermelho e carnosos, que preenche a ferida e indica o progresso da cicatrização (CEBALLOS-FRANCISCO et al., 2017). Nessa fase, a formação de novos vasos sanguíneos auxilia transportar uma variedade de nutrientes e citocinas necessários no processo de cicatrização do tecido (WU et al., 2016). O tecido de granulação consiste em grande parte por fibroblastos, que produzem, organizam e montam matrizes de colágeno. Os fibroblastos dificilmente estão presentes 24 horas após a lesão, mas em grande número ao 4º dia (SVOBODA et al., 2008; RICHARDSON et al., 2013; BLANCO et al., 2017). Diversos estudos apontam o importante papel do colágeno como proteína estruturadora da pele e do reparo tecidual (RAFTERY et al., 2016; BLANCO et al., 2017; HU et al., 2017; CHEN et al., 2017). Em zebrafish, a análise 4 dias após a lesão, revelou grande quantidade de fibras de colágeno e macrófagos no tecido de granulação e uma fraca neovascularização da ferida, que se torna mais proeminente no 6º e 8º dia após a injúria (RICHARDSON et al., 2013). A fase de remodelação varia de acordo com a espécie e envolve etapas sucessivas de síntese, lise e direcionamento das fibrilas de colágeno, que resultam em uma configuração organizada e maior força tênsil da cicatriz (ESTEBAN e CEREZUELA, 2015; CEBALLOS-FRANCISCO et al., 2017).

Explorando o potencial regenerativo da pele dos peixes, diversos autores vêm buscando alternativas para melhorar a cicatrização de feridas e conseqüentemente diminuir a mortalidade dos animais (CHEN et al., 2020). O ácido ascórbico está relacionado com a formação de tecido fibroso, em particular na camada dérmica, sendo importante para a formação e crescimento do colágeno (LIM e LOVELL, 1978; KIM et al., 1993; ALEXIS et al., 1997; GABAUDAN e VERLHAC, 2001). Baixas concentrações de vitamina C na dieta podem resultar em menor produção de colágeno comprometendo o reparo de lesões em peixes (HALVER et al., 1969; SATO et al., 1978; WAHLI et al., 2003). Przybylska-Diaz et al., (2013) também demonstraram que a suplementação de β -glucanos em peixes, acelera a cicatrização de feridas. Uma contribuição para o reparo de lesões foi observada pelo aumento significativo na proliferação celular, bem como diminuição na apoptose tanto na epiderme quanto na derme, em peixes tratados com asiaticosídeo (VERMA et al., 2017). Em *Cyprinus carpio*, a suplementação dietética com quitosana promoveu maior epitelização, rápida contração da ferida, reforma do tecido conjuntivo e angiogênese da área lesada (RAMESH e MARIDASS, 2010). Além disso, Chen e colaboradores (2020), notaram que a administração dietética com 1% de arginina suprime a resposta inflamatória local, melhora a reepitelização e acelera o processo de cicatrização de feridas na pele de *Sparus aurata*.

Os mecanismos inatos de reparo do corpo podem ser modulados afim de promoverem a regeneração tecidual (MAO et al., 2015). Nesse contexto, os ácidos graxos tem se mostrado como uma solução promissora e eficaz para a medicina regenerativa da pele. A capacidade de competir pela produção de eicosanoides com menor poder inflamatório e promover um microambiente mais favorável, demonstra a sua capacidade de cicatrização de forma eficaz em comparação aos curativos tradicionais. Entretanto, apesar dos ácidos graxos contribuírem para o processo de reparo tecidual em diversas espécies (SERHAN et al., 2018), em peixes as pesquisas estão apenas começando (PEREIRA, 2017).

2.2. Ácidos graxos essenciais à nutrição de peixes

Os lipídios são componentes críticos na nutrição dos peixes e desempenham funções essenciais como componentes estruturais das membranas celulares, armazenamento de energia e também atuam como moléculas sinalizadoras e reguladoras, os mediadores lipídicos (ALHOUAYEK et al., 2020; MUTLU et al., 2021). Definidos por sua insolubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos, os lipídeos são divididos em três categorias: ácidos graxos, fosfolipídios e lipídios neutros (triglicerídeos e ésteres de colesterol) (MUTLU et al., 2021). Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse da comunidade científica pelas propriedades nutricionais e farmacêuticas dos ácidos graxos, devido às suas diversas funções na promoção da saúde.

Os ácidos graxos são os blocos de construção de todos os lipídios. Eles podem ser classificados com base em seu comprimento: cadeia curta (5 carbonos ou menos), cadeia média (6 a 12 carbonos), cadeia longa (13 a 21 carbonos) e cadeia muito longa de ácidos graxos (21 ou mais carbonos). As cadeias de ácidos graxos podem ser saturadas (sem duplas ligações, SFA), monoinsaturadas (uma dupla ligação, MUFA) ou poliinsaturadas (mais de uma dupla ligação, PUFA). A proporção de saturados para insaturados afeta a fluidez, flexibilidade, permeabilidade seletiva da membrana e a suscetibilidade da membrana à peroxidação (MUTLU et al., 2021). A composição de ácidos graxos dos fosfolipídios da membrana celular tem forte influência nas respostas e na função celular. Por meio de balsas lipídicas, segundos mensageiros e eicosanoides, os ácidos graxos podem alterar as vias de sinalização intracelular e extracelular, afetando a expressão gênica, as respostas fisiológicas, a saúde e a gravidade da doença (INNES e CALDER, 2018).

LC-PUFAs são biossintetizados a partir de PUFAs da via ômega 3 (n-3), como o ácido linolênico (ALA 18:3, n-3) e ômega 6 (n-6), como o ácido linoleico (LA 18: 2, n-6). Esses AGs

nutricionalmente essenciais são convertidos em ácidos graxos mais longos e altamente insaturados por meio de reações enzimáticas de alongamento e dessaturação (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002). ALA é convertido em EPA e DHA, enquanto o LA, é convertido em ARA, ambos através de uma série de etapas enzimáticas catalisadas por dessaturases (Δ -6 dessaturase e Δ -5 dessaturase) e elongases (Elovl5 e Elovl2) (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; SPRECHER, 2000; TORSTENSEN e TOCHER, 2010; BURDGE e CALDER, 2015; TOCHER et al., 2015). A extensão dessa bioconversão pode ser modulada pelo perfil de ácidos graxos da dieta, uma vez que existe uma competição direta entre os PUFAs n-3 e n-6 como substrato para acessar tais enzimas (CHEN et al., 2018).

Espécies marinhas não expressam as enzimas de dessaturação e alongamento, havendo a exigência de inclusão dietética de LC-PUFA, geralmente por meio do óleo de peixe. No entanto, existe uma preocupação com a sustentabilidade dos estoques pesqueiros, devido à sobrepesca e à alta demanda global, o que restringe o uso de óleo de peixe em formulações de alimentos para a aquicultura. Por outro lado, teleosteos de água doce possuem capacidade de biossíntese endógena desses ácidos graxos (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; SEILIEZ et al., 2003; TOCHER, 2003; LI et al., 2008; IZQUIERDO e KOVEN, 2011; OLIVA-TELES, 2012; CARVALHO et al., 2018). Neste contexto, estudos científicos têm buscado fontes alternativas e sustentáveis de lipídeos, como óleos vegetais, dentre eles, o óleo de linhaça e de milho (TACON e METIAN, 2008; GLENCROSS, 2009; TURCHINI et al., 2009; MAURER et al., 2012; SPRAGUE et al., 2015; TURCHINI et al., 2018; PALOMARES et al., 2020; CASTEJÓN et al., 2021).

2.2.1. Metabolismo de LC-PUFA

O metabolismo de LC-PUFA desempenha um papel crucial na modulação da inflamação (CALDER, 2006). A fosfolipase A2 é uma enzima que cliva o ácido graxo da membrana celular, na posição dois dos fosfolipídios, hidrolisando sua ligação com a molécula de glicerol (DENNIS et al., 2016). O ácido graxo ômega-3 ou ômega-6 que é liberado atua como um substrato para as enzimas as ciclooxigenases (COXs), lipooxigenases (LOXs) e a família do citocromo P450 (CYP) (CALDER, 2013; GONG et al., 2017; ALHOUAYEK et al., 2020; TYRKALSKA et al., 2020).

COXs são um grupo de enzimas que metabolizam LC-PUFA ômega-3 e ômega-6 em importantes mediadores biológicos como prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs) e resolvinas (GONG et al., 2017). Possui duas isoformas classificadas como COX-1, que é

constitutiva, e COX-2, que é induzida por estímulos pró-inflamatórios e citocinas (ALHOUAYEK e MUCCIOLI, 2014). Ácidos graxos ômega-6 podem aumentar a expressão de COX-2, elevando os níveis de PGs durante uma resposta inflamatória (ALHOUAYEK et al., 2020; DUTTAROY e BASAK, 2020).

LC-PUFA derivados da série ômega-6, como ARA, são precursores de metabólitos pró-inflamatórios e exibem tais propriedades. Seu excesso na dieta pode exacerbar a inflamação (SHRESTHA et al., 2019). Por outro lado, a suplementação de AG da série ômega-3, como EPA e DHA, diminuem a expressão de genes inflamatórios, uma vez que são considerados anti-inflamatórios e pró resolutivos (HAGHIAC et al., 2015). Isso é possível uma vez que os AG ômega-3 competem com a via ômega-6 diminuindo a produção de citocinas e eicosanoides pró-inflamatórios (CALDER, 2006; MÉNÉGAUT et al., 2019).

O metabolismo de ARA leva à formação de PGs da série 2 e leucotrienos (LTs) da série 4. A PGE2 possui diversos efeitos pró-inflamatórios, incluindo indução de febre, ativação da percepção da dor, aumento da vasodilatação e permeabilidade vascular. Além disso, induz a síntese da citocina pró-inflamatória, IL-6, bem como, sua própria produção. Os LTs da série 4 também contribuem com vários efeitos pró-inflamatórios. Produzido por neutrófilos e macrófagos, o LTB4 promove aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia, adesão e degranulação de leucócitos, e a produção de mediadores inflamatórios, como superóxido e citocinas inflamatórias. Indivíduos com condições inflamatórias, apresentam elevadas concentrações de eicosanoides derivados de ARA. Masoodi et al. (2013) relataram uma alta concentração de PGE2 e TXB2 na mucosa intestinal de pacientes com colite ulcerosa, estando diretamente correlacionados com a gravidade da doença. De modo semelhante, os eicosanoides produzidos pelas vias COX e LOX são encontrados no líquido sinovial de pacientes com artrite reumatóide ativa.

Em contrapartida, os ácidos graxos da família ômega 3, como EPA, levam à produção de PGs da série 3 e LTs da série 5, que apresentam um menor poder inflamatório comparado aos derivados de ARA (BAGGA et al., 2003). Além disso, EPA e DHA são precursores da maioria dos mediadores lipídicos pró-resolução especializados (SPM), incluindo resolvinas, protectinas e maresinas. Geralmente, os SPMs inibem a infiltração de neutrófilos, promovem a fagocitose de neutrófilos apoptóticos e a troca fenotípica de macrófagos, o que leva à diminuição da inflamação e promove a homeostase (ALHOUAYEK et al., 2020).

Innes e Calder (2018), sugerem que o perfil lipídico da dieta pode desempenhar um papel na condução de processos inflamatórios, fato que pode atrasar ou acelerar o tempo de cicatrização de feridas. O aumento de citocinas pró-inflamatórias em feridas crônicas é

conhecido por afetar os processos celulares e retardar o reparo de lesões. O EPA e DHA são substratos na biossíntese de um conjunto de mediadores lipídicos bioativos com ação anti-inflamatória (FIAKOS et al., 2020). Pesquisadores demonstram que tais compostos aceleram a conclusão do estágio inflamatório, bem como atuam na mediação da dor e na remodelação do tecido (NOBRE et al., 2013; MAGNUSSON et al., 2017). Tais propriedades reduzem a utilização de medicamentos analgésicos e promovem a cicatrização mais rápida de feridas crônicas (YANG et al., 2016). Além disso, EPA e DHA, modulam a resposta inflamatória por meio da regulação positiva de mediadores pró-resolução especializados (NOBRE et al., 2013; MAGNUSSON et al., 2017; ALAM e JEFFERY 2019).

2.3. Sistema Imune

Os peixes teleósteos desempenham um papel importante na evolução, uma vez que são os primeiros vertebrados com sistema imunológico completo, composto por um conjunto de células inatas e adaptativas que atuam em conjunto para proteger o hospedeiro contra patógenos (WU et al., 2021). Os mecanismos de imunidade inata, são homólogos aos mamíferos, e representam a primeira linha de defesa contra agentes infecciosos e contribuem significativamente para o estabelecimento da imunidade adaptativa (MAGNADÓTTIR, 2006; GUO et al., 2019).

As respostas imunológicas são desencadeadas após uma lesão ou invasão de patógenos. A inflamação é um componente essencial e normal de defesa. Ela cria um ambiente hostil, inicia a morte do patógeno e induz mudanças no metabolismo do hospedeiro (INNES e CALDER, 2018). A princípio, existem padrões que podem ser reconhecidos por receptores do sistema imunológico inato, ativando a expressão e secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. Os PAMPs, padrões moleculares associados a patógenos, consistem em motivos moleculares conservados dentro de uma classe de microorganismos. Já os DAMPs, padrões moleculares associados a danos, são derivados de células danificadas (DEPINO, 2017). O aumento do suprimento sanguíneo e da permeabilidade da parede vascular também ocorrem nos primeiros momentos da resposta inflamatória. Isso permite que o plasma e moléculas grandes cruzem o endotélio, entregando mediadores solúveis ao local da inflamação.

Os leucócitos estão entre os principais componentes que suprimem a infecção, principalmente por desencadear mecanismos fagocitários e liberar substâncias antimicrobianas, orquestrando a inflamação. Tais glóbulos brancos migram da corrente sanguínea para o tecido circundante, pela liberação de substâncias quimioatraentes e pela regulação positiva das

moléculas de adesão que permitem a amarração transitória dos leucócitos ao endotélio (KAMERITSCH e RENKAWITZ, 2020). Os leucócitos recém-chegados liberam mediadores químicos no local da inflamação, dentre eles, as PGs, LTs, fator de ativação plaquetária, peptídeos (citocinas e quimiocinas), espécies reativas de oxigênio e enzimas (proteases de matriz). Essa liberação depende da natureza do estímulo inflamatório, do local anatômico envolvido, do estágio da resposta inflamatória e do tipo celular presente.

A inflamação normalmente é autolimitada e se resolve rapidamente, devido à mecanismos de feedback negativo. A secreção de citocinas anti-inflamatórias e mediadores lipídicos pró-resolução também inibem a sinalização pró-inflamatória. No entanto, embora a resposta inflamatória seja projetada para ser prejudicial aos patógenos, uma intensa atividade celular e uma exacerbada produção de mediadores químicos podem causar danos ao indivíduo (INNES e CALDER, 2018).

2.3.1. Leucócitos

Os neutrófilos são células inflamatórias que atuam na remoção de infecções ou agentes prejudiciais em resposta à lesão do tecido ou invasão de patógenos (UNLU et al., 2015; WANG, 2018). Eles são recrutados do sangue e de órgãos hematopoiéticos, pois são raros nos tecidos e cavidades corporais em condições normais. Os neutrófilos ativados se auto-regulam e interagem por meio de quimiocinas e citocinas com outros tipos de células como macrófagos, células T e células dendríticas (ØVERLAND et al., 2010). São equipados com a capacidade de se envolver em um arsenal diversificado de mecanismos antimicrobianos, incluindo fagocitose, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e componentes de grânulos citotóxicos que podem eliminar a infecção (BYSTRZYCKA et al., 2017; LEIDING, 2017). Eles também desempenham um papel importante na ligação entre a imunidade inata e adaptativa, por meio da liberação de um amplo repertório de mediadores imunes com funções pleiotrópicas (LIU e KAPLAN, 2021). Além disso, estão envolvidos na regulação de macrófagos polarizados para um fenótipo reparador, que é essencial para a cicatrização de feridas (XU et al., 2019b). Por outro lado, o excesso de neutrófilos no tecido pode resultar em inflamação crônica e trazer malefícios para o animal. Predominantes na primeira fase da inflamação, os neutrófilos sofrem apoptose após 24-36h, momento esse em que os monócitos circulantes entram na ferida e amadurecem em macrófagos teciduais (QING, 2017).

Os macrófagos, desempenham um papel central no controle da cicatrização de feridas epiteliais e estão ativamente envolvidos na restauração da angiogênese e homeostase do tecido

após uma lesão (LUCAS et al., 2010; GUREVICH et al., 2018). Derivados de monócitos, eles se polarizam em diferentes estados de ativação com funções pró-inflamatórias ou pró-regenerativas e anti-inflamatórias, macrófagos clássicos (M1) e macrófagos não clássicos (M2) (NOVAK e KOH, 2013). Dependendo do microambiente ao qual o monócito está exposto, isso determinará de que maneira o macrófago se polarizará nos subgrupos (DELAVARY et al., 2011; RODRÍGUEZ-PRADOS et al., 2010; MILLS, 2012; WANG et al., 2014). Macrófagos M1, são considerados pró-inflamatórios porque são conduzidos e produzem citocinas pró-inflamatórias, bem como ROS. Por outro lado, macrófagos M2 são considerados pró-cura ou resolução. Eles são estimulados por citocinas anti-inflamatórias como IL-4 e IL-10 e liberam fatores de crescimento, sugerindo um papel importante para a cicatrização de feridas (QING, 2017). Quando a polarização sequencial de macrófagos M1 em M2 é perturbada e as atividades de M1 persistem, há a instauração de uma ferida crônica (MIRZA e KOH, 2011; SINDRILARU et al., 2011). Esse ambiente pró-inflamatório resultante dificulta a ativação das funções do macrófago M2 que são cruciais para a resolução inflamatória e a formação de novos tecidos (MIRZA et al., 2014; KNIPPER et al., 2015; HAUCK et al., 2021). Louiselle e colaboradores (2021) demonstraram que feridas diabéticas tem polarização de macrófagos M1 desregulada e persistente, enquanto feridas normais exibirão uma transição para macrófagos M2 em torno do terceiro dia após o ferimento. Com isso, o redirecionamento das atividades dos macrófagos, bloqueando os fatores que conduzem a inflamação, como IL-1 β , TNF- α ou ROS promovem a polarização do macrófago M2 e melhora a cicatrização de feridas (SINDRILARU et al., 2011; QI et al., 2014; FERRER et al., 2017).

Próximo ao fim do ciclo inflamatório, os fatores de crescimento e os fatores angiogênicos derivados de macrófagos atingem os níveis ideais, que influenciam fortemente o influxo de fibroblastos e células endoteliais na ferida. Posteriormente, os macrófagos podem estimular a proliferação de tecido conjuntivo, endotelial e epitelial, direta e indiretamente, alterando a composição da matriz extracelular (ECM), tanto na angiogênese quanto na fase de remodelação (RODRÍGUEZ-PRADOS et al., 2010; DELAVARY et al., 2011).

Os linfócitos também atuam na cicatrização de lesões, regulando o equilíbrio entre a inflamação e a tolerância a patógenos (McCARVILLE e AYRES, 2017). Atraídos por citocinas, como IL-1 β , eles migram para a ferida durante a fase inflamatória, aproximadamente 72 horas após a lesão e secretam linfocinas, fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento fibroblástico (FGF). Evidências crescentes têm implicado populações de linfócitos, especialmente células T, na estimulação direta e ativação de fibroblastos, queratinócitos e regulação da colagenase (IWATA et al., 2009; NOSBAUM et al., 2016; DOERSCH et al.,

2017). Além disso, os linfócitos atuam na produção de anticorpos através das células B (QING, 2017). Em alguns peixes, os linfócitos são o tipo mais abundante de glóbulos brancos, respondendo por até 85% da população total de leucócitos (CHEN et al., 2021).

2.3.2. Citocinas

A atividade de citocinas é um componente importante de defesa do hospedeiro, onde respostas mediadas por elas podem eliminar completamente uma infecção (JIN et al., 2021). Em geral, as citocinas propagam sinais inflamatórios que regulam a capacidade dos fagócitos residentes e recém-chegados de destruir patógenos invasores (CHABALGOITY et al., 2007; WU et al., 2019). São produzidas por uma ampla variedade de células, incluindo células T CD4+ auxiliares, macrófagos, monócitos e células endoteliais (SECOMBES et al., 2011).

A interleucina-1 β (IL-1 β) é produzida por muitas células do sistema imunológico, incluindo monócitos, macrófagos e células dendríticas, e pode ativar componentes do complemento, outras citocinas (como TNF- α) e ela mesma, sendo, portanto, considerada uma citocina pleiotrópica devido as suas funções em vários processos moleculares e imunológicos (DINARELLO, 2011; GARLANDA et al., 2013; CUI et al., 2020). Embora a IL-1 β tenha mostrado regular uma variedade de processos biológicos, ela é conhecida como uma citocina pró-inflamatória essencial na resposta à inflamação (GARLANDA et al., 2013). Na regeneração de feridas, ela estimula a proliferação de células inflamatórias e promove a angiogênese por meio da replicação das células endoteliais (QING, 2017). Sua secreção elevada está ligada a doenças inflamatórias (LANE e LACHMANN, 2011). IL-1 β também induz respostas celulares adaptativas de células T auxiliares-1 e células T auxiliares-17 (DINARELLO, 2011; COCCIA et al., 2012). A atividade da IL-1 β foi descoberta em uma miríade de peixes, incluindo carpa (*Ctenopharyngodon idella*) (BO et al., 2015), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (ZOU et al., 1999), robalo (*Dicentrarchus labrax*) (SCAPIGLIATI et al., 2001), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (INGERSLEV et al., 2006), peixe-gato do canal (*Ictalurus punctatus*) (WANG et al., 2006) e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (LEE et al., 2006).

A interleucina 6 (IL-6), é uma citocina pró-inflamatória pleiotrópica e imunorreguladora, que desempenha um papel polifuncional na hematopoiese, inflamação, resposta imune, metabolismo e regeneração (HUNTER e JONES, 2015; JIN et al., 2021). Em condições normais, seu nível de expressão é baixo, no entanto, IL-6 é rapidamente induzida e super expressa após a estimulação (KIMURA e KISHIMOTO, 2010; ATAIE-KACHOIE et al.,

2014). Além disso, desempenha um papel importante na resposta imune humoral, não apenas induzindo a diferenciação de células B em plasmócitos, mas também promovendo células secretoras de anticorpos (WEI et al., 2018). Seus receptores específicos são expressos na superfície de hepatócitos, monócitos, macrófagos, células B e subpopulações de células T (OBERG et al., 2006; SCHELLER e ROSE-JOHN, 2006; WEI et al., 2018). A função da IL-6 foi bem caracterizada em muitos peixes teleósteos, como a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (COSTA et al., 2011; CORRIPIO-MIYAR et al., 2012; ABÓS et al., 2016), garoupa (*Epinephelus coioides*) (CHEN et al., 2012), *Plecoglossus altivelis* (ZHU et al., 2019) e na tilápia (*O. niloticus*) (WEI et al., 2018).

O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória pleiotrópica, produzida por monócitos, macrófagos, neutrófilos, linfócitos T e B, células natural-Killer (NK) e células endoteliais (SCHNABEL et al., 2021). Atuam na eliminação de patógenos, através do aumento de respostas celulares, como apoptose, fagocitose e produção de moléculas efetoras como IL-1, IL-6 e outras citocinas (BRADLEY, 2008; ZELOVÁ e HOŠEK, 2013; CUI et al., 2020b). Ao se ligar a seus receptores, o TNF- α induz vasodilatação e expressão de moléculas de adesão de leucócitos, promovendo inflamação por edema e migração de leucócitos (SAWA et al., 2007; BRADLEY, 2008). Ele também é considerado um potente agente mitógeno para fibroblastos, promovendo o aumento da produção do tecido de granulação e reepitelização de feridas (QING, 2017). Em algumas espécies, ele é usado como um biomarcador de inflamação e no monitoramento e previsão do progresso da doença (SCHNABEL et al., 2021). Diversos estudos mostram a atividade de TNF- α em teleósteos, incluindo *Danio rerio* (SAVAN et al., 2005), *Ctenopharyngodon idella* (ZHANG et al., 2012), *Cyprinus carpio* (SAEIJ et al., 2003; SAVAN e SAKAI, 2004), *Oncorhynchus mykiss* (LAING et al., 2001; ZOU et al., 2002; HONG et al., 2013), *Sparus aurata* (GARCÍA-CASTILLO et al., 2002), *Oplegnathus fasciatus* (KIM et al., 2009), *Paralichthys olivaceus* (HIRONO et al., 2000) e *Argyrosomus regius* (MILNE et al., 2017).

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina multifuncional e desempenha papel importante na supressão da resposta inflamatória (PIAZZON et al., 2015). Sua principal atividade é o efeito inibitório em monócitos/macrófagos, principalmente pela regulação negativa da produção de citocinas pró-inflamatórias e supressão das moléculas apresentadoras de antígenos (NAUNDORF et al., 2009; BROOKS et al., 2010; HUO et al., 2019). Tem efeito imunossupressor em IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (HUO et al., 2019). Essa citocina, promove a proliferação e diferenciação de células B em células plasmáticas e estimula a mudança de classe de imunoglobulinas, além de melhorar a taxa de sobrevivência dessas células (WU et al., 2021).

Pode ainda induzir a atividade citotóxica de células NK e proliferação de células T CD8⁺ sob estimulação específica (CARSON et al., 1995). É amplamente expressa em células do sistema imune inato e adaptativo, entre as quais células T CD4⁺ e monócitos/macrófagos são a principal fonte desta citocina (SABAT et al., 2010). Em teleósteos, a IL-10 foi caracterizada e analisada em algumas espécies, incluindo baiacu (*Fugu rubripes*) (ZOU et al., 2003), carpa (*Cyprinus carpio*) (SAVAN et al., 2003; PIAZZON et al., 2015), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (INOUE et al., 2005), zebrafish (*Danio rerio*) (ZHANG et al., 2005), tucunaré (*Dicentrarchus labrax*) (PINTO et al., 2007), carpa cruciana (*Carassius auratus*) (GRAYFER et al., 2011), carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) (WEI et al., 2013), e *Siniperca chuatsi* (HUO et al., 2019).

2.4. Tilápia

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é uma espécie relevante para aquicultura devido ao seu elevado valor econômico, alta taxa de crescimento, rusticidade, sabor agradável do filé e capacidade de criação em altas densidades de estocagem (AHMED et al., 2021; CHEN et al., 2021). Além de ótimas características zootécnicas, a tilápia é relativamente eficiente na bioconversão de LNA em EPA e DHA, e LA em ARA, e também é considerada um excelente modelo para estudos do sistema imunológico em teleósteos (AGABA et al., 2005; TEOH et al., 2011; CHEN et al., 2018; ZHOU et al., 2020). Nativa da África, foi amplamente introduzida e cultivada em todo o mundo. O Brasil é o quarto maior produtor de tilápia, com uma produção de 486 mil toneladas em 2020 (PEIXE BR, 2021). Entretanto, embora seja uma espécie com alta rusticidade, a agressividade e a intensificação do cultivo favorece o contato peixe a peixe e aumenta a incidência de lesões e doenças (NADERI et al., 2019; IBRAHIM et al., 2020). Essas enfermidades impactam diretamente os produtores, uma vez que aumentam a taxa de mortalidade dos animais e acarretam prejuízo econômico.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os mediadores lipídicos exercem funções em diversos sistemas no organismo, estando diretamente ligados ao sistema imune e à resposta inflamatória. Os eicosanoides derivados da série n₆ têm características pró-inflamatórias, por outro lado, os sintetizados pela família n₃ têm características anti-inflamatórias e atuam na resolução da inflamação. Ou seja, os ácidos graxos desencadeiam a síntese de compostos com funções opostas, onde o efeito fisiológico

final é governado pela concentração de tais mediadores. O balanço adequado de ácidos graxos n3 e n6 torna-se fundamental para a manutenção da saúde e prevenção de doenças nos animais.

REFERÊNCIAS

- ABÓS, B.; WANG, T.; CASTRO, R.; GRANJA, A.G.; LEAL, E.; HAVIXBECK, J.; LUQUE, A.; BARREDA, D.R.; SECOMBES, C.J.; TAFALLA, C. Distinct differentiation programs triggered by IL-6 and LPS in teleost IgM+ B cells in the absence of germinal centers. **Scientific Reports**, v. 6, p. 30004, 2016.
- AGABA, M.K.; TOCHER, D.R.; ZHENG, X.; DICKSON, C.A.; TEALE, A.J. Cloning and characterization of polyunsaturated fatty acid elongases of marine and freshwater teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 142, p. 342-352, 2005.
- ALAM, K.; JEFFERY, S.L. Acellular fish skin grafts for management of split thickness donor sites and partial thickness burns: a case series. **Military Medicine**, v. 184, p. 16-20, 2019.
- ALEXIS, M.N.; KARANIKOLAS, K.K.; RICHARDS, R.H. Pathological findings owing to the lack of ascorbic acid in cultured gilthead bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture**, v. 151, p. 209-218, 1997.
- ALHOUAYEK, M.; MUCCIOLI, G.G. COX-2-derived endocannabinoid metabolites as novel inflammatory mediators. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, p. 284-292, 2014.
- ALHOUAYEK, M.; AMERAOU, H.; MUCCIOLI, G.G. Bioactive lipids in inflammatory bowel diseases – From pathophysiological alterations to therapeutic opportunities. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v.1866, 158854, 2020.
- AHMED, S.A.A.; IBRAHIM, R.E.; FARROH, K.Y.; MOUSTAFA, A.A.; AL-GABRI, N.A.; ALKAFAYY, M.; AMER, S.A. Chitosan vitamin E nanocomposite ameliorates the growth, redox, and immune status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under different stocking densities. **Aquaculture**, v.541, 736804, 2021.
- ARTS, M.T.; KOHLER, C.C. **Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response**. ARTS, M.T.; BRETT, M.T.; KAINZ, M.E. (Eds.), *Lipids in Aquatic Ecosystems*, Springer, EUA, New York (2009), p. 237-256.
- ATAIE-KACHOIE, P.; POURGHOLAMI, M.H.; RICHARDSON, D.R.; MORRIS, D.L. Gene of the month: interleukin 6 (IL-6). **Journal of Clinical Pathology**, v. 67, p. 932-937, 2014.
- BAGGA, D.; WANG, L.; FARIAS-EISNER, R.; GLASPY, J.A.; REDDY, S.T. Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, p. 1751-1756, 2003.
- BARNES, D.; DOWELL, L.; FOREST, D.; PARTON, A.; PAVICEVIC, P.; KAZIANIS, S. Characterization of XM, a novel Xiphophorus melanoma-derived cell line. **Zebrafish**, v. 3, p. 371– 381, 2006.

BELL, M.V.; TOCHER, D.R. **Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions**. In: _____. *Lipids in aquatic ecosystems*. New York: Springer, p. 211-236, 2009.

BLANCO, M.; VÁZQUEZ, J.A.; PÉREZ-MARTÍN, R.I.; SOTELO, C.G. Hydrolysates of fish skin collagen: an opportunity for valorizing fish industry byproducts. **Marine Drugs**, v. 15, p. 131, 2017.

BOCKELMANN, P.K.; OCHANDIO, B.S.; BECHARA, I.J. Histological study of the dynamics in epidermis regeneration of the carp tail fin (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, p. 217–223, 2010.

BO, Y.X.; SONG, X.H.; WU, K.; HU, B.; SUN, B.Y.; LIU, Z.J.; FU, J.G. Characterization of interleukin-1 β as a proinflammatory cytokine in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 46, p. 584-595, 2015.

BRADLEY, J. TNF-mediated inflammatory disease. **The Journal of Pathology**, v. 214, p. 149-160, 2008.

BRAIMAN-WIKSMAN, L.; SOLOMONIK, I.; SPIRA, R.; TENNENBAUM, T. Novel insights into wound healing sequence of events. **Toxicologic Pathology**, v. 35, p. 767-779, 2007.

BROOKS, D.G.; WALSH, K.B.; ELSAESSER, H.; OLDSTONE, M.B.A. IL-10 directly suppresses CD4 but not CD8 T cell effector and memory responses following acute viral infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, p. 3018-3023, 2010.

BURDGE, G.C.; CALDER, P.C. Introduction to fatty acids and lipids. **World Review of Nutrition and Dietetics Home**, v. 112, p. 1-16, 2015.

BYSTRZYCKA, W.; MANDA-HANDZLIK, A.; SIECZKOWSKA, S.; MOSKALIK, A.; DEMKOW, U.; CIEPIELA, O. Azithromycin and chloramphenicol diminish neutrophil extracellular traps (NETs) release. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, 2017.

CALDER, P.C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, p. 197-202, 2006.

CALDER, P.C. The 2008 ESPEN Sir David Cuthbertson lecture: fatty acids and inflammation – from the membrane to the nucleus and from the laboratory bench to the clinic. **Clinical Nutrition**, v. 29, p. 5-12, 2010.

CALDER, P.C. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, p. 645-662, 2013.

CALDER, P.C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, p. 469-484, 2015.

CARSON, W.E.; LINDEMANN, M.J.; BAIOCCHI, R.; LINETT, M.; TAN, J.C.; CHOU, C.C.; NARULA, S.; CALIGIURI, M.A. The functional characterization of interleukin-10 receptor expression on human natural killer cells. **Blood**, v. 85, p. 3577-3585, 1995.

CARVALHO, M.; PERES, H.; SALEH, R.; FONTANILLAS, R.; ROSENBLUND, G.; OLIVA-TELES, A.; IZQUIERDO, M. Dietary requirement for n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids for fast growth of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) fingerlings. **Aquaculture**, v. 488, p. 105-113, 2018.

CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORÁNS, F.J. Microencapsulation by spray drying of omega-3 lipids extracted from oilseeds and microalgae: Effect on polyunsaturated fatty acid composition. **LWT**, 111789, 2021.

CEBALLOS-FRANCISCO, D.; CORDERO, H.; GUARDIOLA, F.A.; CUESTA, A.; ESTEBAN, M.Á. Healing and mucosal immunity in the skin of experimentally wounded gilthead seabream (*Sparus aurata* L). **Fish and Shellfish Immunology**, v.71, p. 210-219, 2017.

CHABALGOITY, J.A.; BAZ, A.; RIAL, A.; GRILLE, S. The relevance of cytokines for development of protective immunity and rational design of vaccines. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 18, p. 195-207, 2007.

CHANDIKA, P.; OH, G-W.; HEO, S.Y.; KIM, S-C.; KIM, T-H.; KIM, M-S.; JUNG, W-K. Electrospun porous bilayer nano-fibrous fish collagen/PCL bio-composite scaffolds with covalently cross-linked chitoooligosaccharides for full-thickness wound-healing applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 121, 111871, 2021.

CHAPKIN, R.S.; KIM, W.; LUPTON, J.R.; MCMURRAY, D.N. Dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid: emerging mediators of inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 81, p. 187-191, 2009.

CHEN, H.H.; LIN, H.T.; FOUNG, Y.F.; LIN, J.H.Y. The bioactivity of teleost IL-6: IL-6 protein in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) induces Th2 cell differentiation pathway and antibody production. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 38, p. 285-294, 2012.

CHEN, X.L.; PENG, M.; LI, J.; TANG, B.L.; SHAO, X.; ZHAO, F.; LIU, C.; ZHANG, X.Y.; LI, P.Y.; SHI, M.; ZHANG, Y.Z.; SONG, X.Y. Preparation and functional evaluation of collagen oligopeptide-rich hydrolysate from fish skin with the serine collagenolytic protease from *Pseudoalteromonas* sp. SM9913. **Scientific Reports**, v. 7, p. 15716, 2017.

CHEN, C.; GUAN, W.; XIE, Q.; CHEN, G.; HE, X.; ZHANG, H.; GUO, W.; CHEN, F.; TAN, Y.; PAN, Q. n-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: Bioconverting LNA to DHA is relatively efficient and the LC-PUFA biosynthetic pathway is substrate limited in juvenile fish. **Aquaculture**, v. 495, p. 513-522, 2018.

CHEN, Z.; CEBALLOS-FRANCISCO, D.; GUARDIOLA, F.A.; HUANG, D.; ESTEBAN, M.A. Skin wound healing in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed diets supplemented with arginine. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 104, p. 347-358, 2020.

- CHEN, J.; ZHENG, Y.; ZHI, T.; XU, X.; ZHANG, S.; BROWN, C.L.; YANG, T. MHC II α polymorphism of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, and its association with the susceptibility to *Gyrodactylus cichlidarum* (Monogenea) infection. **Aquaculture**, v. 539, 736637, 2021.
- COCCIA, M.; HARRISON, O.J.; SCHIERING, C.; ASQUITH, M.J.; BECHER, B.; POWRIE, F.; MALOY, K.J. IL-1 β mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4⁺ Th17 cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 209, p. 1595-1609, 2012.
- CORRIPIO-MIYAR, Y.; SECOMBES, C.J.; ZOU, J. Long-term stimulation of trout head kidney cells with the cytokines MCSF, IL-2 and IL-6: gene expression dynamics. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 32, p. 35-44, 2012.
- COSTA, M.M.; MAEHR, T.; DIAZ-ROSALES, P.; SECOMBES, C.J.; WANG, T. Bioactivity studies of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interleukin-6: effects on macrophage growth and antimicrobial peptide gene expression. **Molecular Immunology**, v. 48, p. 1903-1916, 2011.
- COSTA, R.A.; POWER, D.M. Skin and scale regeneration after mechanical damage in a teleost. **Molecular Immunology**, v. 95, p. 73-82, 2018.
- COSTA, R.A.; POWER, D.M.; KRAUS, C.; KNYPHAUSEN, P.; EMING, S.; HAMMERSCHMIDT, M. Skin and scale regeneration after mechanical damage in a teleost. **Molecular Immunology**, v. 95, p. 73-82, 2018.
- CUI, Z.W.; KONG, L.L.; ZHAO, F.; TAN, A.P.; DENG, Y.T.; JIANG, L. Bacteria-induced IL-1 β and its receptors in snakehead (*Channa argus*): Evidence for their involvement in antibacterial innate immunity. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 100, p. 309-3016, 2020.
- CUI, Z.W.; KONG L.L.; ZHAO, F.; TAN, A.P.; DENG, Y.T.; JIANG, L. Two types of TNF- α and their receptors in snakehead (*Channa argus*): Functions in antibacterial innate immunity. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 104, p. 470-477, 2020b.
- DENNIS, E.A. Liberating chiral lipid mediators, inflammatory enzymes, and LIPID MAPS from biological grease. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, p. 24431-24448, 2016.
- DEPINO, A.M. Perinatal inflammation and adult psychopathology: From preclinical models to humans. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 77, p. 104-114, 2017.
- DELAVARY, B.M.; VAN DER VEER, W.M.; VAN EGMOND, W.M.; NIESSEN, F.B.; BEELEN, R.H.J. Macrophages in skin injury and repair. **Immunobiology**, v. 216, p. 753–762, 2011.
- DINARELLO, C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. **Blood**, v. 117, p. 3720-3732, 2011.
- DINH, T.; BRAUNAGEL, S.; ROSENBLUM, B.I. Growth factors in wound healing: the present and the future? **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 32, p. 109-119, 2015.

- DOERSCH, K.M.; DELLO STRITTO, D.J.; NEWELL-ROGERS, M.K. The contribution of interleukin-2 to effective wound healing. **Experimental Biology and Medicine**, v. 242, p. 384-396, 2017.
- DUTTARROY, A.K.; BASAK, S. Maternal dietary fatty acids and their roles in human placental development. **Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids**, v. 155, 102080, 2020.
- EL-SAYED, A.F.M. Tilapia Culture. **CABI Publishers**, Wallingford (2006).
- ELLIOTT, D.G. **Integumentary system: Microscopic functional anatomy**. In: Ostrand GK (Ed.) *The Laboratory Fish*, p. 271–306, 2000.
- ELLIOTT, D.G. **Functional morphology of the integumentary system in fish**. Farrel, A.P. (Ed.), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*, 1, Academic Press, San Diego, p. 476-488, 2011.
- ESTEBAN, M.A. An overview of the immunological defenses in fish skin. **ISRN Immunology**, p. 1-29, 2012.
- ESTEBAN, M.A.; CEREUZUELA, R. Fish Mucosal Immunity: skin Mucosal Health. **Aquaculture**, p. 67-93, 2015.
- FAST, M.D.; SIMS, D.E.; BURKA, J.F.; MUSTAFA, A.; ROSS, N.W. Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. **Comparative Biochemistry and Physiology. A**, v. 1. 132, p. 645–657, 2002.
- FERNANDES, G.; VENKATRAMAN, J.T. Role of omega-3 fatty acids in health and disease. **Nutrition Research**, v. 13, p. 19-45, 1993.
- FERRER, R.A.; SAALBACH, A.; GRÜNWEDEL, M.; LOHMANN, N.; FORSTREUTER, I.; SAUPE, S.; WANDEL, E.; SIMON, J.C.; FRANZ, S. Dermal fibroblasts promote alternative macrophage activation improving impaired wound healing. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, p. 941-950, 2017.
- FIAKOS, G.; KUANG, Z.; LO, E. Improved skin regeneration with acellular fish skin grafts. **Engineered Regeneration**, v.1, p. 95-105, 2020.
- FRYKBERG, R.G.; BANKS, J. Challenges in the treatment of chronic wounds. **Advances in Wound Care**, v. 4, p. 560-582, 2015.
- FONTENOT, D.K.; NEIFFER, D.L. Wound management in teleost fish: biology of the healing process, evaluation, and treatment. **Veterinary Clinics of North America**, v. 7, p. 57-86, 2004.
- GABAUDAN, J.; VERLHAC, V. **Critical review of the requirements of ascorbic acid in cold and cool water fishes (salmonids, percids, plecoglossids, and flatfishes)**. K. Dabrowski (Ed.), *Ascorbic Acid in Aquatic Animals: Status and Perspectives*, CRC Press, p. 33-48, 2001.

GARCÍA-CASTILLO, J.; PELEGRÍN, P.; MULERO, V.; MESEGUER, J. Molecular cloning and expression analysis of tumor necrosis factor α from a marine fish reveal its constitutive expression and ubiquitous nature. **Immunogenetics**, v. 54, p. 200-207, 2002.

GARLANDA, C.; DINARELLO, C.A.; MANTOVANI, A. The interleukin-1 family: back to the future. **Immunity**, v. 39, p. 1003-1018, 2013.

GILLITZER, R.; GOEBELER, M. Chemokines in cutaneous wound Healing. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 69, p. 513-521, 2001.

GLENCROSS, B.D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acid by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 71-124, 2009.

GONG, Y.; FU, Z.; LIEGL, R.; CHEN, J.; HELLSTRÖM, A.; SMITH, L.E.H. n-3 and n-6 long-chain PUFAs and their enzymatic metabolites in neovascular eye diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 106, p. 16-26, 2017.

GRAVITZ, L. Skin. **Nature**, v. 563, p. 83, 2018.

GRAYFER, L.; HODGKINSON, J.W.; HITCHEN, S.J.; BELOSEVIC, M. Characterization and functional analysis of goldfish (*Carassius auratus* L.) interleukin-10. **Molecular Immunology**, v. 48, p. 563-571, 2011.

GUO, C.J.; HE, J.; HE, J.G. The immune evasion strategies of fish viruses. **Fish Shellfish Immunology**, v. 86, p. 772 – 784, 2019.

GUREVICH, D.B.; SEVERN, C.E.; TWOMEY, C.; GREENHOUGH, A.; CASH, J.; TOYE, A.M.; MELLOR, H.; MARTIN, P. Live imaging of wound angiogenesis reveals macrophage orchestrated vessel sprouting and regression. **The EMBO Journal**, v. 37, 2018.

HAGHIAC, M.; YANG, X.; PRESLEY, L.; SMITH, S.; DETTELBACK, S.; MINIUM, J.; BELURY, M.A.; CATALANO, P.M.; HAUGUEL-DE MOUZON, S. Dietary omega-3 fatty acid supplementation reduces inflammation in obese pregnant women: a randomized double-blind controlled clinical trial. **PLoS One**, v. 10, e0137309, 2015.

HALVER, J.E.; ASHLEY, L.M.; SMITH, R.R. Ascorbic acid requirements of coho salmon fish and rainbow trout. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 98, p. 762-771, 1969.

HALVER, J.E. The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 38, p. 79-92, 1972.

HARRIS, J.E.; HUNT, S. The fine structure of the epidermis of two species of salmonid fish, the atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and the brown trout (*Salmo trutta* L.). II. Mucous cells. **Cell and Tissue Research**, v. 163, p. 535–543, 1975.

HAUCK, S.; ZAGER, P.; HALFTER, N.; WANDEL, E.; TORREGROSSA, M.; KAKPENOVA, A.; ROTHER, S.; ORDIERES, M.; RÄTHEL, S.; BERG, A.; MÖLLER, S.; SCHNABELRAUCH, M.; SIMON, J.C.; HINTZE, V.; FRANZ, S. Collagen/hyaluronan

based hydrogels releasing sulfated hyaluronan improve dermal wound healing in diabetic mice via reducing inflammatory macrophage activity. **Bioactive Materials**, v. 6, p. 4342-4359, 2021.

HIRONO, I.; NAM, B.; KUROBE, T.; AOKI, T. Molecular cloning, characterization, expression of TNF cDNA and gene from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **The Journal of Immunology**, v. 165, p. 4423-4427, 2000.

HONG, S.; LI, R.; XU, Q.; SECOMBES, C.J.; WANG, T. Two types of TNF- α exist in teleost fish: phylogeny, expression, and bioactivity analysis of type-II TNF- α 3 in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **The Journal of Immunology**, v. 191, p. 5959-5972, 2013.

HU, Z.; YANG, P.; ZHOU, C.; LI, S.; HONG, P. Marine collagen peptides from the skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): characterization and wound healing evaluation. **Marine Drugs**, v. 15, 2017.

HUNTER, C.A.; JONES, S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. **Nature Immunology**, v. 16, p. 448-457, 2015.

HUO, H.J.; CHEN, S.N.; LI, L.; NIE, P. Functional characterization of IL-10 and its receptor subunits in a perciform fish, the mandarin fish, *Siniperca chuatsi*. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 97, p. 64-75, 2019.

IBARZ, A.; PINTO, P.I.; POWER, D.M. Proteomic approach to skin regeneration in a marine teleost: modulation by oestradiol-17 β . **Marine Biotechnology**, v. 15, p. 629-646, 2013.

IBRAHIM, R.E.; AMER, S.A.; FARROH, K.Y.; AL-GABRI, N.A.; AHMED, A.I.; EL-ARABY, D.A.; AHMED, S.A.A. The effects of chitosan-vitamin C nanocomposite supplementation on the growth performance, antioxidant status, immune response, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Aquaculture**, v. 534, 736269, 2020.

INGERSLEV, H.C.; CUNNINGHAM, C.; WERGELAND, H.I. Cloning and expression of TNF- α , IL-1 β and COX-2 in an anadromous and landlocked strain of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during the smolting period. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 20, p. 450-461, 2006.

INGERSLEV, H.C.; OSSUM, C.G.; LINDENSTRØM, T.; NIELSEN, M.E. Fibroblasts express immune relevant genes and are important sentinel cells during tissue damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **PLoS ONE**, v.5, 2010.

INNES, J.K.; CALDER, P.C. Omega-6 fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 132, p. 41-48, 2018.

INOUE, Y.; KAMOTA, S.; ITO, K.; YOSHIURA, Y.; OTOTAKE, M.; MORITOMO, T.; NAKANISHI, T. Molecular cloning and expression analysis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interleukin-10 cDNAs. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 18, p. 335-344, 2005.

IWATA, Y.; YOSHIZAKI, A.; KOMURA, K.; SHIMIZU, K.; OGAWA, F.; HARA, T.; MUROI, E.; BAE, S.; TAKENAKA, M.; YUKAMI, T.; HASEGAWA, M.; FUJIMOTO, M.;

TOMITA, Y.; TEDDER, T.F.; SATO, S. CD19, a Response Regulator of B Lymphocytes, Regulates Wound Healing through Hyaluronan-Induced TLR4 Signaling. **The American Journal of Pathology**, v. 175, p. 649-660, 2009.

IZQUIERDO, M.S.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v. 197, p. 25-42, 2001.

IZQUIERDO, M.S.; KOVEN, W. **Lipids**. HOLT, J. Larval Fish Nutrition, John Willey and Sons Publishers, p. 47-82, 2011.

JI, R.R.; XU, Z.Z.; STRICHARTZ, G.; SERHAN, C.N. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. **Trends in Neurosciences**, v. 34, p. 599-609, 2011.

JIN, R-M.; HUANG, H-Z.; ZHOU, Y.; WANG, Y-Y.; FU, H-C.; LI, Z.; FU, X-Z.; LI, N-Q. Characterization of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) IL-6 and IL-6 signal transducer and the association between their SNPs and resistance to ISKNV disease. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 113, p. 139-147, 2021.

KAMERITSCH, P.; RENKAWITZ, J. Principles of Leukocyte Migration Strategies. **Trends in Cell Biology**, v. 30, p. 818-832, 2020.

KIM, N.; OTSUKA, M.; YU, R.; KURATA, T.; ARAKAWA, N. The distribution of ascorbic acid and dehydroascorbic acid during tissue regeneration in wounded dorsal skin of guinea pigs. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 63, p. 56-59, 1993.

KIM, M.S.; HWANG, Y.J.; YOON, K.J.; ZENKE, K.; NAM, Y.K.; KIM, S.K.; KIM, K.H. Molecular cloning of rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) tumor necrosis factor- α and its effect on the respiratory burst activity of phagocytes. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 27, p. 618-624, 2009.

KIMURA, A.; KISHIMOTO, T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. **European Journal of Immunology**, v. 40, p. 1830-1835, 2010.

KNIPPER, J.A.; WILLENBORG, S.; BRINCKMANN, J.; BLOCH, W.; MAAß, T.; WAGENER, R.; KRIEG, T.; SUTHERLAND, T.; MUNITZ, A.; ROTHENBERG, M.E.; NIEHOFF, A.; RICHARDSON, R.; HAMMERSCHMIDT, M.; ALLEN, J.E.; EMING, S.A. Interleukin-4 receptor α signaling in myeloid cells controls collagen fibril assembly in skin repair. **Immunity**, v. 43, p. 803-816, 2015.

KUBO, A. Dynamic cooperation between epidermal barriers and Langerhans cells. **Japanese Journal of Clinical Immunology**, v. 34, p. 76-84, 2011.

LAING, K.J.; WANG, T.; ZOU, J.; HOLLAND, J.; HONG, S.; BOLS, N.; HIRONO, I.; AOKI, T.; SECOMBES, C.J. Cloning and expression analysis of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* tumour necrosis factor- α . **European Journal of Biochemistry**, v. 268, p. 1315-1322, 2001.

LAKRA, W.S.; SWAMINATHAN, T.R.; JOY, K.P. Development, characterization, conservation and storage of fish cell lines: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 37, p. 1-20, 2011.

LANE, T.; LACHMANN, H.J. The emerging role of interleukin-1 β in autoinflammatory diseases. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 11, p. 361-368, 2011.

LEIDING, J.W. Neutrophil Evolution and Their Diseases in Humans. **Frontiers in Immunology**, v. 8, 2017.

LEE, D.S.; HONG, S.H.; LEE, H.J.; JUN, L.J.; CHUNG, J.K.; KIM, K.H.; DOJEONG, H. Molecular cDNA cloning and analysis of the organization and expression of the IL-1 β gene in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part A**, v. 143, p. 307-314, 2006.

LI, Y.; HU, C.; ZHENG, Y.; XIA, X.; XU, W.; WANG, S.; CHEN, W.; SUN, Z.; HUANG, J. The effects of dietary fatty acids on liver fatty acid composition and $\Delta 6$ -desaturase expression differ with ambient salinities in *Siganus canaliculatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 151, p. 183-190, 2008.

LIM, C.; LOVELL, R.T. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **The Journal of Nutrition**, v. 108, p. 1137-1146, 1978.

LIU, Y.; KAPLAN, M.J. Neutrophil Dysregulation in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. **Rheumatic Disease Clinics of North**, 2021.

LOBO, B.W.P.; LIMA, C.K.F.; TEIXEIRA, M.S.; SILVA, N.L.C.; TAKIYA, C.M.; RAMOS, M.F.S.; MIRANDA, A.L.P.; DELLAMORA-ORTIZ, G.M. Fish oil attenuates persistent inflammatory pain in rats through modulation of TNF- α and resolvins. **Life Sciences**, v. 152, p. 30-37, 2016.

LOUISELLE, A.E.; NIEMIEC, S.M.; ZGHEIB, C.; LIECHTY, K.W. Macrophage polarization and diabetic wound healing. **Translational Research**, 2021.

LUCAS, T.; WAISMAN, A.; RANJAN, R.; ROES, J.; KRIEG, T.; MÜLLER, W.; ROERS, A.; EMING, S.A. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. **The Journal of Immunology**, v. 184, p. 3964-3977, 2010.

McCARVILLE, J.L.; AYRES, J.S. Disease tolerance: concept and mechanisms. **Current Opinion in Immunology**, v. 50, p. 88-93, 2017.

MAGNADÓTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). **Fish Shellfish Immunology**, v. 20, p. 137-151, 2006.

MAGNUSSON, S.; WINTERS, C.; BALDURSSON, B.T.; KJARTANSSON, H.; ROLFSSON, O.; SIGURJONSSON, G.F. Acceleration of wound healing through utilization of fish skin containing omega-3 fatty acids. **Today's Wound Clinic**, 2017.

MAO, A.S.; MOONEY, D.J. Regenerative medicine: current therapies and future directions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, p. 14452-14459, 2015.

- MARSHALL, W.S.; BELLAMY, D. The 50 year evolution of in vitro systems to reveal salt transport functions of teleost fish gills. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 155, p. 275–280, 2010.
- MAURER, N.E.; HATTA-SAKODA, B.; PASCUAL-CHAGMAN, G.; RODRIGUEZ-SAONA, L.E. Characterization and authentication of a novel vegetable source of omega-3 fatty acids, sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1173-1180, 2012.
- MASOODI, M.; PEARL, D.S.; EIDEN, M.; SHUTE, J.K.; BROWN, J.F.; CALDER, P.C.; TREBBLE, T.M. Altered Colonic Mucosal Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) Derived Lipid Mediators in Ulcerative Colitis: New Insight into Relationship with Disease Activity and Pathophysiology. **Plos One**, v. 8, 2013.
- MÉNÉGAUT, L.; JALIL, A.; THOMAS, C.; MASSON, D. Macrophage fatty acid metabolism and atherosclerosis: The rise of PUFAs **Atherosclerosis**, v.291, p. 52-91, 2019.
- MILLS, C.D. M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease. **Critical Reviews in Immunology**, v. 32, p. 463–488, 2012.
- MILNE, D.J.; CAMPOVERDE, C.; ANDREE, K.B.; ZOU, J.; SECOMBES, C.J. Two types of TNF- α in meagre (*Argyrosomus regius*): discovery, distribution and expression modulation. **Molecular Immunology**, v. 92, p. 136-145, 2017.
- MIRZA, R.; KOH, T.J. Dysregulation of monocyte/macrophage phenotype in wounds of diabetic mice. **Cytokine**, v. 56, p. 256-264, 2011.
- MIRZA, R.E.; FANG, M.M.; WEINHEIMER-HAUS, E.M.; ENNIS, W.J.; KOH, T.J. Sustained inflammasome activity in macrophages impairs wound healing in type 2 diabetic humans and mice. **Diabetes**, v. 63, p. 1103-1114, 2014.
- MITTAL, A.K.; MUNSHI, J.S.D. On the regeneration and repair of superficial wounds in the skin of *Rita rita* (Ham.) (Bagridae, Pisces). **Acta Anatomica**, v. 88, p. 424-442, 1974.
- MUTLU, A.S.; DUFFY, J.; WANG, M.C. Lipid metabolism and lipid signals in aging and longevity. **Developmental Cell**, v.56, p. 1394-1407, 2021.
- NADERI, M.; KEYVANSHOKOOH, S.; GHAEDI, A.; SALATI, A.P. Interactive effects of dietary Nano selenium and vitamin E on growth, haematology, innate immune responses, antioxidant status and muscle composition of rainbow trout under high rearing density. **Aquaculture Nutrition**, v. 25, p. 1156-1168, 2019.
- NAUNDORF, S.; SCHRODER, M.; HOFlich, C.; SUMAN, N.; VOLK, H.D.; GRUTZ G. IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN- γ but not IL-17 production in memory T cells. **European Journal of Immunology**, v. 39, p. 1066-1077, 2009.
- NOBRE, M.E.P.; CORREIA, A.O.; BORGES, M.B.; SAMPAIO, T.M.A.; CHAKRABORTY, S.A.; GONÇALVES, D.O.; BRITO, G.A.C.; LEAL, L.K.A.M.; FELIPE, C.F.B.; LUCETTI, D.L.; ARIDA, R.M.; VIANA, G.S.B. Eicosapentaenoic acid and

docosahexaenoic acid exert anti-inflammatory and antinociceptive effects in rodents at low doses. **Nutrition Research**, v. 33, p. 422-433, 2013.

NOSBAUM, A.; PREVEL, N.; TRUONG, H.A.; MEHTA, P.; ETTINGER, M.; SCHARSCHMIDT, T.C.; ALI, N.H.; PAULI, M.L.; ABBAS, A.K.; ROSENBLUM, M.D. Cutting edge: regulatory T cells facilitate cutaneous wound healing. **The Journal of Immunology**, v. 196, p. 2010-2014, 2016.

NOVAK, M.L.; KOH, T.J. Phenotypic transitions of macrophages orchestrate tissue repair. **The American Journal of Pathology**, v. 183, p. 1352-1363, 2013.

OBERG, H.H.; WESCH, D.; GRÜSSEL, S.; ROSE-JOHN, S.; KABELITZ, D. Differential expression of CD126 and CD130 mediates different STAT-3 phosphorylation in CD4+CD25- and CD25high regulatory T cells. **International Immunology**, v. 18, p. 555-563, 2006.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal of Fish Diseases**, v. 35, p. 83-108, 2012.

ØVERLAND, H.S.; PETTERSEN, E.F.; RØNNESETH, A.; HEIDRUN I WERGELAND, H.I. Phagocytosis by B-cells and neutrophils in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, 2010.

PALOMARES, M.L.D.; FROESE, R.; DERRICK, B.; MEEUWIG, J.J.; NÖEL, S.-L.; TSUI, G.; WORONIAK, J.; ZELLER, D.; PAULY, D. Fishery biomass trends of exploited fish populations in marine ecoregions, climatic zones and ocean basins. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 243, p. 106896, 2020.

PARRA, D.; REYES-LOPEZ, F.E.; TORT, L. Mucosal immunity and B cells in teleosts: effect of vaccination and stress. **Frontiers in Immunology**, v. 6, p. 1-12, 2015.

PEIXE BR – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA – **Anuário Peixe BR da Piscicultura**, 2021, 14 p.

PEREIRA, B.C. **Efeito dos ácidos graxos da série ômega 3 e ômega 6 na regeneração de lesões cutâneas em *Prochilodus lineatus***. 2017. Dissertação (Mestrado em Genética Reprodução e Sanidade de Organismos Aquáticos) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2017.

PIAZZON, M.C.; SVELKOU, H.S.; PIETRETTI, D.; WIEGERTJES, G.F.; FORLENZA, M. Carp IL-10 has anti-inflammatory activities on phagocytes, promotes proliferation of memory T cells, and regulates B cell differentiation and antibody secretion. **The Journal of Immunology**, v. 194, p. 187-199, 2015.

PINTO, R.D.; NASCIMENTO, D.S.; REIS, M.I.; VALE, A.; SANTOS, N.M. Molecular characterization, 3D modelling and expression analysis of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) interleukin-10. **Molecular Immunology**, v. 44, p. 2056-2065, 2007.

PRZYBYLSKA-DIAZ, D.A.; SCHMIDT, J.G.; VERA-JIMÉNEZ, N.I.; STEINHAGEN, D.; NIELSEN, M.E. β -glucan enriched bath directly stimulates the wound healing process in

common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 35, p. 998-1006, 2013.

QI, Y.; JIANG, D.; SINDRILARU, A.; STEGEMANN, A.; SCHATZ, S.; TREIBER, N.; ROJEWSKI, M.; SCHREZENMEIER, H.; VANDER BEKEN, S.; WLASCHEK, M.; BÖHM, M.; SEITZ, A.; SCHOLZ, N.; DÜRSELEN, L.; BRINCKMANN, J.; IGNATIUS, A.; SCHARFFETTER-KOCHANNEK, K. TSG-6 released from intradermally injected mesenchymal stem cells accelerates wound healing and reduces tissue fibrosis in murine full-thickness skin wounds. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 134, p. 526-537, 2014.

QING, C. The molecular biology in wound healing & non-healing wound. **Chinese Journal of Traumatology**, v. 20, p. 189-193, 2017.

QUILHAC, A.; SIRE, J.Y. Spreading, proliferation and differentiation of the epidermis after wounding a cichlid fish, *Hemichromis bimaculatus*. **The Anatomical Record**, v. 254, p. 435-451, 1999.

RAFTERY, R.M.; WOODS, B.; MARQUES, A.L.P.; MOREIRA-SILVA, J.; SILVA, T.H.; CRYAN, S.A.; REIS, R.L.; O'BRIEN, F.J. Multifunctional biomaterials from the sea: assessing the effects of chitosan incorporation into collagen scaffolds on mechanical and biological functionality. **Acta Biomaterialia**, v. 43, p. 160-169, 2016.

RAI, A.K.; SRIVASTAVA, N.; KUMARI, U.; MITTAL, S.; MITTAL, A.K. Histochemical analysis of glycoproteins in the secretory cells in the epidermis of the head skin of Indian Major Carp, *Labeo rohita*. **Tissue and Cell**, v. 44, p. 409-417, 2012.

RAJA, S.K.; GARCIA, M.S.; ISSEROFF, R.R. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 2849-2868, 2007.

RAMESH, U.; MARIDASS, M. Wound healing effect of chitosan in fresh water fish *Cyprinus carpio* L. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 1, p. 99-102, 2010.

RICHARDSON, R.; SLANCHEV, K.; KRAUS, C.; KNYPHAUSEN, P.; EMING, S.; HAMMERSCHMIDT, M. Adult zebrafish as a model system for cutaneous wound-healing research. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, p. 1655-1665, 2013.

RODRÍGUEZ-PRADOS, J.C.; TRAVÉS, P.G.; CUENCA, J. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. **The Journal of Immunology**, v. 185, 605–614, 2010.

SABAT, R.; GRÜTZ, G.; WARSZAWSKA, K.; KIRSCH, S.; WITTE, E.; WOLK, K.; GEGINAT, J. Biology of interleukin-10. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 21, p. 331-344, 2010.

SAEIJ, J.P.; STET, R.J.; VRIES, B.J.; VAN MUISWINKEL, W.B.; WIEGERTIES, G.F. Molecular and functional characterization of carp TNF: a link between TNF poly-morphism and trypanotolerance. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 27, p. 29-41, 2003.

- SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. **The Lipids**. In: HALVER, J.E.; HARDY, R. W. (Ed.). *Fish nutrition*: New York: Academic, 2002. p. 182- 259.
- SATO, M.; YOSHINAKA, R.; IKEDA, S. Dietary ascorbic acid requirement of rainbow trout for growth and collagen formation. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v. 44, p. 1029-1035, 1978.
- SAVAN, R.; IGAWA, D.; SAKAI, M. Cloning, characterization and expression analysis of interleukin-10 from the common carp, *Cyprinus carpio* L. **European Journal of Biochemistry**, v. 270, p. 4647-4654, 2003.
- SAVAN, R.; SAKAI, M. Presence of multiple isoforms of TNF alpha in carp (*Cyprinus carpio* L.): genomic and expression analysis. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 17, p. 87-94, 2004.
- SAVAN, R.; KONO, T.; IGAWA, D.; SAKAI, M. A novel tumor necrosis factor (TNF) gene present in tandem with the TNF-gene on the same chromosome in teleosts. **Immunogenetics**, v. 57, p. 140-150, 2005.
- SAWA, Y.; SUGIMOTO, Y.; UEKI, T.; ISHIKAWA, H.; SATO, A.; NAGATO, T.; YOSHIDA, S. Effects of TNF- α on leukocyte adhesion molecule expressions in cultured human lymphatic endothelium. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 55, p. 721-733, 2007.
- SCAPIGLIATI, G.; BUONOCORE, F.; BIRD, S.; ZOU, J.; PELEGRIN, P.; FALASCA, C.; PRUGNOLI, D.; SECOMBES, C.J. Phylogeny of cytokines: molecular cloning and expression analysis of sea bass *Dicentrarchus labrax* interleukin-1 β . **Fish and Shellfish Immunology**, v. 11, p. 711-726, 2001.
- SHELLER, J.; ROSE-JOHN, S. Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 195, p. 173-183, 2006.
- SCHNABEL, C.L.; BABASYAN, S.; FREER, H.; LARSON, E.M.; WAGNER, B. New mAbs facilitate quantification of secreted equine TNF- α and flow cytometric analysis in monocytes and T cells. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 238, 110284, 2021.
- SECOMBES, C.J.; WANG, T.; BIRD, S. The interleukins of fish. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 35, p. 1336-1345, 2011.
- SEILIEZ, I.; PANSERAT, S.; CORRAZE, G.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P. Cloning and nutritional regulation of a $\Delta 6$ -desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 135, p. 449-460, 2003.
- SEO, S.B.; DANANJAYA, S.H.S.; NIKAPITIYA, C.; PARK, B.K.; GOONERATNE, R.; KIM, T.Y.; LEE, J.; KIM, C.H.; DE ZOYSA, M. Silver nanoparticles enhance wound healing in zebrafish (*Danio rerio*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 68, p. 536-545, 2017.

SERHAN, C.N.; CHIANG, N.; DALLI, J. New pro-resolving n-3 mediators bridge resolution of infectious inflammation to tissue regeneration. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 64, p. 1-17, 2018.

SHRESTHA N.; CUFFE, J.S.M.; HOLLAND, O.J.; PERKINS, A.V.; MCAINCH, A.J.; HRYCIW, D.H. Linoleic acid increases prostaglandin E2 release and reduces mitochondrial respiration and cell viability in human. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 52, p. 94–108, 2019.

SINDRILARU, A.; PETERS, T.; WIESCHALKA, S.; BAICAN, C.; BAICAN, A.; PETER, H.; HAINZL, A.; SCHATZ, S.; QI, Y.; SCHLECHT, A.; WEISS, J.M.; WLASCHEK, M.; SUNDERKÖTTER, C.; SCHARFFETTER-KOCHANEK, K. An unrestrained proinflammatory M1 macrophage population induced by iron impairs wound healing in humans and mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, p. 985-997, 2011.

SORBERA, L.A.; ASTUARINO, J.F.; CARRILLO, M.; ZANUY, S. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocytes maturation in a marine teleost, the european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 382-389, 2001.

SPRAGUE, M.; DICK, J.R.; TOCHER, D.R. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006–2015. **Scientific Reports**, v. 6, p. 21892, 2015.

SPRECHER, H. Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. **BBA Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1486, p. 219-231, 2000.

SVOBODA, K.K.H.; FISCHMAN, D.A.; GORDON, M.K. Embryonic Chick Corneal Epithelium: A Model System for Exploring Cell-matrix Interactions. **Developmental Dynamics**, v. 237, p. 2667–2675, 2008.

TACON, A.G.J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded: aquafeeds: trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, p. 146-158, 2008.

TAVAREZ-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Ed. Embrapa Amapá, v.1, 2009.

TEOH, C.Y.; TURCHINI, G.M.; NG, W.K. Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend. **Aquaculture**, v. 312, p. 126-136, 2011.

TOCHER, D.R.; AGABA, M.; HASTINGS, N.; BELL, J.G.; DICK, J.R.; TEALE, A.J. Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 24, p. 309-320, 2002.

TOCHER, D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, p. 107-184, 2003.

TOCHER, D.R.; DABROWSKI, K.; HARDY, R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 717-732, 2010.

TOCHER, D.R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v. 449, p. 94-107, 2015.

TORSTENSEN, B.E.; TOCHER, D.R. **The effects of fish oil replacement on lipid metabolism of fish**. TURCHINI, G.M.; NG, W.-K.; TOCHER, D.R. (Eds.), *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*, Taylor & Francis, CRC Press, Boca Raton (2010), p. 405-437.

TUHIN, R.H.; BEGUM, M.; RAHMAN, S.; KARIM, R.; BEGUM, T.; AHMED, S.U.; MOSTOFA, R.; HOSSAIN, A.; ABDEL-DAIM, M.; BEGUM, R. Wound healing effect of *Euphorbia hirta* linn. (Euphorbiaceae) in alloxan induced diabetic rats. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 17, p. 423, 2017.

TURCHINI, G.M.; TORSTENSEN, B.E.; NG, W.K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 10-57, 2009.

TURCHINI, G.M.; TRUSHENSKI, J.; GLENCROSS, B.D. Thoughts for the future of aquaculture nutrition: realigning perspectives to reflect contemporary issues related to judicious use of marine resources in aquafeeds. **North American Journal of Aquaculture**, v. 81, p. 13-39, 2018.

TYRKALSKA, S.D.; CANDEL, S.; MULERO, V. The neutrophil inflammasome. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 115, 103874, 2020.

UNLU, M.; ARSLAN, Z. The relation between neutrophil-lymphocyte ratio and endothelial dysfunction. **Angiology**, v. 66, p. 694, 2015.

VARSAMOS, S.; NEBEL, C.; CHARMANTIER, G. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. **Comparative Biochemistry and Physiology A**, v. 141, p. 401-429, 2005.

VERMA, N.; KUMARI, U.; MITTAL, S.; MITTAL, A.K. Effect of asiaticoside on the healing of skin wounds in the carp *Cirrhinus mrigala*: an immunohistochemical investigation. **Tissue Cell**, v. 49, p. 734-745, 2017.

VIEIRA, F.A.; GREGORIO, S.F.; FERRARESSO, S.; THORNE, M.A.S.; COSTA, R.; MILAN, M.; BARGELLONI, L.; CLARK, M.S.; CANARIO, A.V.M.; POWER, D.M. Skin healing and scale regeneration in fed and unfed sea bream *Sparus auratus*. **BMC Genomics**, v. 12, 2011.

VIMALRAJ, S.; PICHU, S.; PANKAJAM, T.; DHARANIBALAN, K.; DJONOV, V.; CHATTERJEE, S. Nitric oxide regulates intussusceptive-like angiogenesis in wound repair in chicken embryo and transgenic zebrafish models. **Nitric Oxide**, v. 82, p. 48-58, 2018.

WANG, Y.P.; WANG, Q.; BAOPRASERTKUL, P.; PEATMAN, E.; LIU, Z.J. Genomic organization, gene duplication, and expression analysis of interleukin-1 β in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Molecular Immunology**, 43 (2006), pp. 1653-1664, 2006.

WANG, N.; LIANG, H.; ZEN, K. Molecular mechanisms that influence the macrophage M1-M2 polarization balance. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 614, 2014.

WANG, M.; CHEN, H.; AILATI, A.; CHEN, W.; CHEN, Y. Substrate specificity and membrane topologies of the iron-containing n3 and n6 desaturases from *mortierella alpina*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.102, p. 1-13, 2017.

WANG, J. Neutrophils in tissue injury and repair. **Cell and Tissue Research**, v. 371, p. 531-539, 2018.

WAHLI, T.; VERLHAC, V.; GIRLING, P.; GABAUDAN, J.; AEBISCHER, C. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 225, p. 371-386, 2003.

WEI, H.; YANG, M.; ZHAO, T.; WANG, X.; ZHOU, H. Functional expression and characterization of grass carp IL-10: an essential mediator of TGF-beta 1 immune regulation in peripheral blood lymphocytes. **Molecular Immunology**, v. 53, p. 313-320, 2013.

WEI, X.; LI, B.; WU, L.; YIN, X.; ZHONG, X.; LI, Y.; WANG, Y.; GUO, Z.; YE, J. Interleukin-6 gets involved in response to bacterial infection and promotes antibody production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Developmental and Comparative Immunology**, v. 89, p. 141-151, 2018.

WHITEAR, M. The skin surface of bony fishes. **Journal of Zoology**, v. 160, p. 437-454, 1970.

WU, J.; YE, J.J.; ZHU, J.J.; XIAO, Z.C.; HE, C.C.; SHI, H.X.; XIAO, J. Heparin-based coacervate of fgf2 improves dermal regeneration by asserting a synergistic role with cell proliferation and endogenous facilitated vegf for cutaneous wound healing. **Biomacromolecules**, v. 17, p. 2168-2177, 2016.

WU, Y.; ZHOU, Y.; CAO, Z.; SUN, Y.; CHEN, Y.; XIANG, Y.; WANG, L.; ZHANG, S.; GUO, W. Comparative analysis of the expression patterns of IL-1 β , IL-11, and IL-34 in golden pompano (*Trachinotus ovatus*) following different pathogens challenge. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 93, p. 863-873, 2019.

WU, S.; DUAN, C.; KONG, L.; TU, X.; WANG, L.; GUO, Z.; YE, J. Interleukin-10 (IL-10) participates in host defense against bacterial pathogens and promotes IgM antibody production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 531, 735829, 2021.

XIAO, Y.; KE, Q.; WANG, S. Single point mutations affect fatty acid block of human myocardial sodium channel alpha subunit Na⁺ channels. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, p. 3606-3611, 2001.

XU, S.; XIE, F.; TIANA, L.; MANNO, S.H.C.; MANNO, F.A.M.; CHENG, S.H. Prolonged neutrophil retention in the wound impairs zebrafish heart regeneration after cryoinjury. **Fish and Shellfish Immunology**, 2019b.

- YANG, C.K.; POLANCO, T.O.; LANTIS, J.C. A prospective, postmarket, compassionate clinical evaluation of a novel acellular fish-skin graft which contains omega-3 fatty acids for the closure of hard-to-heal lower extremity chronic ulcers. **Wounds**, v. 28, p. 112-118, 2016.
- YUAN, Y.; YUAN, Y.; DAI, Y.; GONG, Y. Economic profitability of tilapia farming in China. **Aquaculture International**, v. 25, p. 1253-1264, 2017.
- ZELOVÁ, H.; HOŠEK, J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. **Inflammation Research**, v. 62, p. 641-651, 2013.
- ZHANG, D.C.; SHAO, Y.Q.; HUANG, Y.Q.; JIANG, S.G. Cloning characterization and expression analysis of interleukin-10 from the zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, p. 571-576, 2005.
- ZHANG, A.Y.; CHEN, D.Y.; WEI, H.; DU, L.Y.; ZHAO, T.Q.; WANG, X.Y.; ZHOU, H. Functional characterization of TNF- α in grass carp head kidney leukocytes: induction and involvement in the regulation of NF- κ B signaling. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 33, p. 1123-1132, 2012.
- ZHOU, E.; YAN, F.; LI, B.; CHEN, M.; TU, X.; WU, S.; WU, H.; WEI, X.; FU, S.; WU, L.; GUO, Z.; YE, J. Molecular and functional characterization of IL-6 receptor (IL-6R) and glycoprotein 130 (gp130) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Developmental and Comparative Immunology**, v. 106, 103629, 2020.
- ZHU, K.; LU, X.J.; LU, J.F.; CHEN, J. The interleukin-6 regulates the function of monocytes/macrophages (MO/M Φ) via the interleukin-6 receptor β in ayu (*Plecoglossus altivelis*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 93, p. 191-199, 2019.
- ZOU, J.; GRABOWSKI, P.S.; CUNNINGHAM, C.; SECOMBES, C.J. Molecular cloning of interleukin 1 β from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reveals no evidence of an ice cut site. **Cytokine**, v. 11, p. 552-560, 1999.
- ZOU, J.; WANG, T.; HIRONO, I.; AOKI, T.; INAGAWA, H.; HONDA, T.; SOMA, G.I.; OTOTAKE, M.; NAKANISHI, T.; ELLIS, A.E.; SECOMBES, C.J. Differential expression of two tumor necrosis factor genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 26, p. 161-172, 2002.
- ZOU, J.; CLARK, M.S.; SECOMBES, C.J. Characterisation, expression and promoter analysis of an interleukin 10 homologue in the puffer fish, *Fugu rubripes*. **Immunogenetics**, v. 55, p. 325-335, 2003.

SEGUNDA PARTE
ARTIGO

Ácidos graxos ômega 3 aceleram o reparo de feridas cutâneas em *Oreochromis niloticus*

Bruna de Castro Pereira^a; Flademir Wouters^b; Felipe Araújo^c; Renan Rosa Paulino^a Luis David Solis Murgas^b; Priscila Vieira Rosa^a.

^aDepartamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG, Brasil

^bDepartamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG, Brasil

^cDepartamento de Zootecnia, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, UFAPE, Garanhuns, PE, Brasil.

Correspondência: P.V. Rosa. Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. Email: priscila@ufla.br

RESUMO

As lesões cutâneas desencadeiam uma resposta inflamatória que facilita a defesa do hospedeiro. Contudo, falhas no processo de resolução da inflamação, prejudicam o reparo tecidual. As propriedades bioativas dos ácidos graxos podem modular o sistema imunológico e determinar o progresso de uma ferida, promovendo a proliferação celular e regeneração de tecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a suplementação dietética com diferentes fontes de ácidos graxos da série ômega 3 e ômega 6 na regeneração de lesões cutâneas em *Oreochromis niloticus*. Três dietas experimentais foram formuladas com diferentes fontes de óleo (óleo de peixe, milho e linhaça). Utilizaram-se 144 animais alojados em 36 aquários (16L) em sistema de recirculação de água. Uma ferida foi experimentalmente induzida na pele com bisturi *Punch* de 5mm. As dietas experimentais foram fornecidas por trinta dias antes da indução da lesão e continuadas por mais 14 dias. A coleta de amostras foi realizada 12 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias após indução da lesão. O progresso da cicatrização das feridas foi acompanhado por análise de imagens e através de exame histopatológico. Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos para as variáveis de desempenho, índices corporais e composição bromatológica dos animais. O tratamento com óleo de milho promoveu um aumento na concentração de leucócitos e citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Já os animais alimentados com óleo de peixe e linhaça obtiveram um maior teor da citocina anti-inflamatória, IL-10. Os resultados da análise histopatológica confirmaram que o tratamento com óleo de milho aumentou o infiltrado inflamatório, atrasando o início da fase proliferativa e retardando o reparo do tecido lesado. Por outro lado, os tratamentos com óleo de peixe e linhaça apresentaram uma redução na área da lesão de 69% e 56% após 7 dias, respectivamente, comparado ao óleo de milho. Em síntese, a suplementação com óleo de peixe e linhaça acelerou a regeneração da pele, imunomodulando a inflamação e estimulando o reparo tecidual. Esses resultados sugerem um papel importante dos ácidos graxos ômega 3 na regulação da inflamação e cicatrização de feridas em peixes.

ABSTRACT

Skin lesions trigger an inflammatory response that facilitates host defense. However, failures in the inflammation resolution process impair tissue repair. The bioactive properties of fatty acids can modulate the immune system and determine the progress of a wound, promoting cell proliferation and tissue regeneration. The aim of this study was to evaluate a dietary supplementation with different sources of fatty acids from the omega 3 and omega 6 series in the regeneration of skin lesions in *Oreochromis niloticus*. Three experimental diets were formulated with different oil sources (fish oil, corn and flaxseed). 144 animals housed in 36 aquariums (16L) in a water recirculation system were used. A wound was experimentally induced in the skin with a 5mm Punch scalpel. Experimental diets were fed for thirty days before injury induction and continued for another 14 days. The collection of preserved items was performed 12 hours, 1 day, 7 days and 14 days after lesion induction. The progress of wound healing was followed by image analysis and histopathological examination. There were no important differences ($P > 0.05$) between treatments for the variables of performance, body indices and chemical composition of the animals. Treatment with corn oil promoted an increase in the concentration of leukocytes and pro-inflammatory cytokines, IL-1 β , IL-6 and TNF- α . The animals fed with fish oil and flaxseed had a higher content of the anti-inflammatory cytokine, IL-10. The results of the histopathological analysis confirmed that the treatment with corn oil increased the inflammatory infiltrate, delaying the beginning of the proliferative phase and delaying the repair of the damaged tissue. On the other hand, treatments with fish oil and flaxseed dissipated a reduction in lesion area of 69% and 56% after 7 days, respectively, compared to corn oil. In summary, fish oil and flaxseed supplementation accelerated skin regeneration, immunomodulating inflammation and stimulating tissue repair. These results suggest an important role of omega 3 fatty acids in regulating inflammation and wound healing in fish.

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por peixes e o rápido crescimento da aquicultura, comparado a outros setores de produção de alimentos, vem com métodos de cultivos intensivos que trazem benefícios econômicos (FAO, 2018). Nesse modelo de produção, os animais estão sujeitos a diversas fontes de estresse, como alta densidade e baixa qualidade de água, entre outros manejos produtivos, que acarretam desafios significativos e resultam na interrupção da homeostase e maior incidência de lesões e doenças (PULKKINEN et al., 2010; WALKER e WINTON, 2010; SEGNER et al., 2012; TALPUR et al., 2013; CAO et al., 2017; YANG et al., 2017; HENRIKSSON et al., 2018). A necessidade de alternativas sustentáveis que aumentem a resiliência do sistema, respeitando o meio ambiente, recuperando a integridade estrutural da pele e evitando grandes perdas econômicas, é de fundamental importância para a aquicultura.

Integrante do sistema imune, a pele forma a primeira linha de defesa fornecendo uma barreira física contra infecções e ferimentos (GRAVITZ, 2018). Ela desempenha papéis cruciais na imunidade da mucosa, manutenção da pressão osmótica e proteção contra perigos biológicos e químicos (XU et al., 2013). Possui uma estrutura limitante complexa que fornece uma interface entre o ambiente aquático e o organismo, sendo única e histologicamente diversa (FAST et al., 2002; FONTENOT e NEIFFER, 2004; ESTEBAN, 2012). Uma vez que os peixes estão expostos a uma variedade de injúrias, que acarretam lesões cutâneas, é de extrema importância que o reparo tecidual seja rápido e eficaz, o que evita desequilíbrios na homeostase, fisiológica e imunológica, e diminui a taxa de mortalidade dos animais (NOBLE et al., 2012; XU et al., 2013; ROH et al., 2018; SVEEN et al., 2019). A cicatrização de feridas cutâneas envolve a interação de inúmeros tipos celulares, residentes e infiltrantes, como células imunes, citocinas e fatores de crescimento, por meio de seu envolvimento principalmente na inflamação (WYNN e VANNELLA, 2016). Tendo em vista que os métodos utilizados para tratamento de feridas em espécies terrestres não são viáveis para animais aquáticos, procedimentos alternativos são necessários (YUNIARTI e LUKISWANTO, 2017).

O uso de nutracêuticos para a prevenção eficaz de doenças e promoção da saúde em peixes, tem recebido atenção nos últimos anos (GALINA et al., 2009; REVERTER et al., 2014; VASEEHARAN e THAYA et al., 2014; HAI, 2015; HOSEINIFAR et al., 2015; CHI et al., 2016; HERNÁNDEZ et al., 2016; HOSEINIFAR et al., 2016; VALLEJOS-VIDAL et al., 2016; GUERREIRO et al., 2018; RINGØ et al., 2020; YOUSEFI et al., 2020; ABDEL-TAWWAB et al., 2021; ADESHINA et al., 2021). Entre as classes de nutracêuticos, estão os ácidos graxos (AGs), aminoácidos, proteínas, vitaminas, minerais, fibras e compostos fenólicos (RAMPINO

et al., 2021). Os AGs poliinsaturados (PUFAs), como ácido linoleico (LA; 18:3 n-6) e ácido linolênico (ALA; 18:3 n-3), podem ser metabolizados em outros PUFAs de cadeia longa (LC-PUFAs), através de enzimas dessaturases e elongases, dando origem ao ácido araquidônico (ARA; 20:4 n-6), ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5 n-3) e ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6 n-3) (SIMOPOULOS, 2008; TOCHER E GLENCROSS, 2015). A suplementação lipídica é especialmente atraente uma vez que esses AGs desempenham funções importantes, como sinalização, expressão gênica e síntese de eicosanoides, que estão envolvidos diretamente no sistema imune e nas respostas inflamatórias (WU et al., 2003; MONTERO et al., 2010b; TOCHER, 2010; ZUO et al., 2012; CALDER, 2015b; 2018). Os eicosanoides são produtos lipídicos bioativos, de vida curta, derivados da oxidação desses AGs pelas enzimas cicloxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX), incluindo prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs), leucotrienos (LTs) e lipoxinas (LXs) (O'DONNELL et al., 2009; KENDALL e NICOLAOU, 2013). Apesar do crescente interesse na possibilidade de imunomodulação dos peixes, o uso de ácidos graxos na regeneração de lesões ainda foi pouco investigado.

Neste estudo, os efeitos da suplementação dietética com diferentes fontes de ácidos graxos da série ômega 3 e ômega 6 foram investigados sobre a cicatrização de lesões cutâneas, o desempenho de crescimento, imunidade inata, parâmetros histopatológicos e bioquímicos na tilápia, *Oreochromis niloticus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Dietas experimentais

Três dietas isoproteicas e isoenergéticas foram formuladas com diferentes fontes de óleo; óleo de peixe - fonte de EPA (C20:5 n3) e DHA (C22:6 n3); de linhaça - fonte de linolênico, C18:3 n3; e de milho - fonte de linoleico, C18:2 n6. As dietas foram processadas no Setor de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A composição dos ingredientes e as análises proximais das dietas são mostradas na Tabela 1 e a composição de ácidos graxos das dietas é apresentada na Tabela 2.

2.2. Ensaio de crescimento

O experimento foi conduzido de acordo com o Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Lavras, protocolo número 005/2017. Foram utilizados 144 juvenis de *Oreochromis niloticus*, machos sexados, distribuídos em 36 tanques com capacidade para 16L em sistema de recirculação termorregulada, com 4 peixes cada. A qualidade da água foi monitorada diariamente durante o ensaio e mantida dentro das condições ótimas para o cultivo de espécies tropicais (temperatura 27-28°C, pH de 7,4-7,6 e oxigênio dissolvido 6,0-7,0mg/l). As dietas experimentais foram iniciadas 30 dias antes das lesões e mantidas durante toda a fase de coleta, sendo os animais foram arraçoados duas vezes ao dia *ad libitum*.

Para realização da ferida experimental, os peixes foram anestesiados com eugenol em uma concentração de 1,0mL/L de água (KITAGAWA et al., 2015). A ferida consistiu de uma incisão circular de 5mm de diâmetro feita no antímero esquerdo do animal, logo acima da linha lateral, com um bisturi Punch metálico. A incisão penetrou a epiderme, derme e musculatura subjacente.

O consumo de ração foi registrado em cada tanque para análise do desempenho dos peixes, com avaliação dos parâmetros de ganho de peso (GP) e taxa de conversão alimentar (TCA). A fotografia da área da ferida e as coletas de sangue, rim cranial, baço, músculo e tecido lesado, foram realizadas com 12 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias após a lesão (DPI). Em cada tempo de coleta foram utilizados 12 peixes por tratamento, sendo 1 animal por tanque. As dietas experimentais foram fornecidas durante todo esse período.

Tabela 1 - Ingredientes e composição centesimal das dietas experimentais (g/100g).

INGREDIENTES	DIETAS		
	Peixe	Linhaça	Milho
Isolado proteico de soja	31,6	31,6	31,6
Amido	33,0	33,0	33,0
Farelo de trigo	13,3	13,3	13,3
Celulose	5,0	5,0	5,0
Gelatina	5,0	5,0	5,0
Suplemento vitamínico mineral ¹	0,5	0,5	0,5
BHT ²	0,02	0,02	0,02
DL-Metionina	0,1	0,1	0,1
Lisina	0,3	0,3	0,3
Vitamina E	0,03	0,03	0,03
Caulim	1,7	1,7	1,7
Fosfato bicálcico	1,9	1,9	1,9
Cloreto de sódio	0,5	0,5	0,5
Fontes de óleo	7,0	7,0	7,0
Óleo de coco	2,0	2,0	2,0
Óleo de peixe	5,0	-	-
Óleo de linhaça	-	5,0	-
Óleo de milho	-	-	5,0
Análise aproximada			
Proteína Bruta (%)	35	35	35
Energia (Kcal/kg)	3.899	3.899	3.899
Extrato Etéreo (%)	7,4	7,4	7,4
Fibra bruta (%)	8,1	8,1	8,1

¹Níveis calculados de suplementos vitamínicos e minerais (Mogiana Alimentos S/A – GUABI): Vitamina A, 16.000 UI; Vitamina D, 4.500 UI; Vitamina E, 250 mg; Vitamina K, 30 mg; Vitamina B1, 32 mg; Vitamina B2, 32 mg; Vitamina B12, 32 mcg; Vitamina B6, 32mg; Vitamina C, 42000 mg; Ácido Pantotênico, 80 mg; Niacina, 170 mg; Biotina, 10 mg; Ácido Fólico, 10 mg; Caulim, 2.000 mg; Cobalto, 0,5 mg; Cobre 20 mg; Ferro, 150 mg; Iodo, 1 mg; Manganês, 50 mg; Selênio, 1 mg; Zinco, 150 mg; Aditivo Antioxidante, 150 mg. ²Butil-Hidroxi-tolueno (antioxidante).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais) das dietas experimentais.

	DIETAS		
	Peixe	Linhaça	Milho
C12:0	0,5	0,9	0,9
C14:0	2,8	0,4	0,4
C16:0	18,5	11,6	12,9
C16:1	4,7	0,27	0,2
C17:0	0,4	0,1	0,1
C18:0	3,3	3,8	2,5
C18:1n9c	18,7	25,5	31,6
C18:2n-6c	10,7	41,8	48,4
C18:3n-6	0,1	0,1	0,0
C18:3n-3	1,1	13,1	1,7
C20:0	0,2	0,3	0,5
C20:1	0,6	0,2	0,2
C20:4n-6	0,9	-	-
C20:5n-3	4,9	-	-
C22:0	0,2	0,3	0,2
C22:6n-3	7,9	-	-
C24:0	0,1	0,2	0,2
Σ n-6	11,7	41,8	48,4
Σ n-3	13,9	13,1	1,7
Σ SAFA	26,3	17,3	17,5
Σ MUFA	24,0	26,0	31,9
Σ PUFA	25,6	55,0	50,1
Σ EPA+DHA	12,8	-	-

Σ SAFA: soma dos ácidos graxos saturados; Σ MUFA: soma dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ PUFA: soma dos ácidos graxos poliinsaturados.

2.3. Métodos analíticos

Para o cálculo dos índices corporais, foram aferidos os pesos das vísceras, fígado, intestino e gordura visceral:

- Índice viscerossomático (IVS) = (peso úmido das vísceras/peso úmido do corpo) x 100
- Índice hepatossomático (IHS) = (peso úmido do fígado/peso úmido do corpo) x 100
- Índice intestinosomático (IIS) = (peso úmido do intestino/peso úmido do corpo) x 100
- Índice de gordura visceral (IGVS) = (peso úmido da gordura visceral/peso úmido do corpo) x 100

A composição centesimal das dietas experimentais e das carcaças foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. As carcaças dos peixes foram submetidas ao processo de pré-secagem em liofilizador à 50°C por 72h. A umidade foi determinada após secagem em estufa a 105°C por 24h; cinzas por incineração em mufla à 550°C por 24h; lipídeos brutos por extração com éter de petróleo pelo sistema Soxtec; proteína bruta (N6.25) pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2005).

O lipídeo total do músculo foi extraído de acordo com Folch et al. (1957), com ligeira modificação, e o perfil de ácidos graxos foi analisado segundo Araújo et al. (2017). Foi utilizado cromatógrafo gasoso GC2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (100,0m 9 0,25mm, 0,20lm; Supelco, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Os picos de ácidos graxos foram integrados utilizando o software de cromatografia de solução de GC (versão 4.02) em comparação com padrões conhecidos (37 Component FAME Mix; Supelco, Sigma-Aldrich).

Para a realização das análises hematológicas, após leve sedação (1ml de eugenol/L de água, KITAGAWA et al., 2015), uma amostra de sangue foi coletada da veia caudal, localizada na região ventral da coluna vertebral, com o auxílio de seringas heparinizadas descartáveis de 3ml. As distensões sanguíneas em lâmina, foram feitas em duplicatas e coradas pelo método May-Grunwald-Giemsa para contagem diferencial de leucócitos, contagem total de leucócitos e trombócitos (ROSENFELD, 1947). A contagem total de leucócitos e trombócitos realizou-se em esfregaços sanguíneos pelo método indireto, usando os valores das contagens de eritrócitos, obtidos na câmara de Neubauer, em associação com o número de leucócitos e trombócitos encontrados nas distensões sanguíneas (ISHIKAWA et al., 2008). Para a contagem manual das hemácias em câmara de Neubauer, o sangue foi diluído a 1:200 em solução salina 0,65% (NaCl).

Após a coleta de sangue, os peixes foram eutanasiados por overdose de 2-fenoxietanol (1:500v/v, Fluka; Sigma-Aldrich, Madrid, Espanha). O processo de cicatrização foi acompanhado macroscopicamente, através de registro fotográfico da área da lesão, com câmera fotográfica digital posicionada sobre um tripé. As análises e caracterização morfológica das imagens foram realizadas às cegas através do programa Axio Vision LE Release 4.1. O cálculo da área de superfície da ferida (cm) foi realizado utilizando a seguinte fórmula: $\text{Área} = ab\pi$, sendo a = raio maior; b = raio menor; $\pi = 3,14$.

Na sequência, o local da lesão foi coletado, fixado em formalina tamponada 10%, processado para histologia com inclusão em parafina e coloração hematoxilina e eosina. A avaliação histológica da epiderme, derme e músculo, considerou os seguintes parâmetros:

infiltrado inflamatório de neutrófilos, macrófagos e linfócitos; solução de continuidade na epiderme e derme; hemorragia; miólise; quantidade de fibrina, fibroblastos, formação de colágeno, neovascularização, regeneração de miofibras, melanomacrófagos e macrófagos carregados de hemossiderina. Para a avaliação quantitativa, foram utilizados os escores 0 (ausente), 1 (discreto), 2 (moderado) e 3 (acentuado).

O plasma, rim cranial e o baço foram utilizados para quantificação de citocinas inflamatórias através de kits comerciais ELISA, Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Cusabio, China), de acordo com a tabela 3. Todas as amostras foram avaliadas em duplicata, de acordo com as instruções do fabricante, por um único técnico que desconhecia os grupos participantes.

Tabela 3 - Material utilizado para análise de citocinas e enzima através de comercial Kit ELISA.

CITOCINA	MATERIAL ANALISADO		
	Baço	Rim cranial	Plasma
IL-1 β ¹	x	x	
IL-6 ²	x	x	
IL-10 ³	x	x	
TNF- α ⁴		x	x
COX-2 ⁵	x		x

¹IL-1 β : Interleucina 1 β ; ²IL-6: Interleucina 6; ³IL-10: Interleucina 10;

⁴TNF- α : Fator de necrose tumoral α ; ⁵COX-2: Ciclooxygenase 2.

2.4. Análise Estatística

Os dados bromatológicos e de desempenho são apresentados como média e erro padrão da média, através de análise de variância (ANOVA), após teste de normalidade e homogeneidade das variâncias. Diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste Tukey HSD, ao nível de probabilidade de 0,05. A análise estatística dos parâmetros hematológicos e área da lesão foi realizada considerando dentro do modelo linear, o efeito do tempo no procedimento GML Repeated Measures ANOVA do software IBM SPSS statistics. O teste Tukey HSD a 5% foi utilizado para identificar os grupos de significância entre os tratamentos. Os escores atribuídos nas avaliações histopatológicas foram analisados dentro de cada tempo utilizando o teste Kruskal-Wallis seguido por comparação múltipla par a par por Steal-Dwass-Critchlow-Fligner ao nível de significância de 5% utilizando o software XLSTAT 2019.2.

3 RESULTADOS

A análise de desempenho zootécnico não revelou diferença entre os tratamentos para os parâmetros de desempenho, como ganho de peso e TCA (Tabela 4). Os índices viscerossomático, hepatossomático, intestinosomático e de gordura visceral não foram afetados significativamente pelas diferentes fontes de óleo da dieta (Tabela 4).

Tabela 4 - Desempenho e índices corporais de tilápias alimentadas com diferentes fontes de ácidos graxos na dieta.

	DIETAS			
	Peixes	Linhaça	Milho	SEM
Peso inicial (g)	152,90	152,60	153,40	0,23
Peso final (g)	229,40	222,00	220,90	5,99
Ganho de peso (g)	76,50	69,40	67,50	6,04
TCA ¹ (ratio)	1,29	1,30	1,32	0,06
IVS ²	6,61	6,35	6,75	0,13
IHS ³	1,75	1,84	1,93	0,07
IIS ⁴	1,61	1,70	1,61	0,07
IGVS ⁵	0,73	0,66	0,80	0,07

Os valores são médias de doze tanques. Média na mesma linha com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$). ¹TCA: Taxa de conversão alimentar; ²IVS: Índice viscerossomático; ³IHS: Índice hepatossomático, ⁴IIS: Índice intestinosomático; ⁵IGVS: Índice de gordura visceral

O resultado da suplementação lipídica sobre a composição corporal total e o perfil de ácidos graxos no músculo são mostrados na Tabela 5. Os teores de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$). A suplementação com óleo de peixe resultou no maior teor de n-3 total, EPA e DHA no músculo (Tabela 5). Já a dieta com óleo de linhaça proporcionou maior nível de ALA e PUFAs totais. Por outro lado, o tratamento com óleo de milho obteve a maior concentração de LA e n-6 total no músculo ($P < 0,05$).

A tabela 6, demonstra as alterações sanguíneas que ocorreram na tilápia durante a regeneração de feridas cutâneas. Os níveis de eritrócitos, proteína plasmática, hematócrito, glicose e VCM não diferiram entre os tratamentos. Alguns parâmetros da análise hematológica, apresentaram variação no padrão de células nos diferentes tempos de coleta, mas sem diferença entre os tratamentos. O nível de glicose, independente do tratamento, aumentou após 12 horas e atingiu seu pico 1 dia após a lesão (tabela 6).

Tabela 5 - Composição corporal e perfil de ácidos graxos (% dos ácidos graxos totais) de juvenis de tilápia alimentados com as dietas experimentais.

Composição corporal (%)	DIETAS			
	Peixe	Linhaça	Milho	SEM
Umidade	70,3	69,1	68,3	0,6
Proteína Bruta	52,1	52,4	53,1	0,3
Extrato Etéreo	30,4	29,6	31,2	0,5
Cinzas	12,9	13,4	13,2	0,1
Perfil de ácidos graxos (g/100g de ácidos graxos totais)				
C12:0	0,2	0,3	0,2	0,0
C14:0	1,1 ^a	0,5 ^b	0,5 ^b	0,0
C16:0	20,4	19,7	19,9	0,2
C16:1	3,3 ^a	2,3 ^b	2,0 ^b	0,1
C18:0	10,0	9,7	10,1	0,1
C18:1n9c	28,4 ^b	30,3 ^a	30,0 ^a	0,5
C18:2n-6c	10,5 ^b	17,5 ^a	18,5 ^a	0,4
C18:3n-6	0,1 ^c	0,2 ^b	0,3 ^a	0,0
C20:1	0,9	0,9	0,9	0,0
C18:3n-3	0,7 ^b	3,1 ^a	1,2 ^c	0,1
C20:2	0,7	0,7	0,7	0,0
C22:0	0,3	0,3	0,3	0,0
C20:4n-6	1,8 ^b	1,9 ^b	2,8 ^a	0,1
C20:5n-3	2,1 ^a	0,5 ^b	0,1 ^c	0,1
C22:2	0,2 ^a	0,2 ^a	0,0 ^b	0,4
C22:6n-3	6,5 ^a	1,9 ^b	0,8 ^c	0,6
Σ SAFA	34,1 ^a	30,5 ^b	31,0 ^b	0,6
Σ MUFA	32,6	33,3	32,9	1,3
Σ PUFA	22,6 ^c	26,1 ^a	24,5 ^b	0,2
Σ n-6	12,4 ^c	19,6 ^b	21,6 ^a	0,5
Σ n-3	9,3 ^a	5,4 ^b	2,1 ^c	0,5
Σ EPA+DHA	8,6 ^a	2,4 ^b	0,9 ^c	0,3

Os valores são médias de quarenta e oito peixes. SEM (Erro padrão da média). Média na mesma linha com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$). Σ SAFA: soma dos ácidos graxos saturados; Σ MUFA: soma dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ PUFA: soma dos ácidos graxos poliinsaturados.

Tabela 6 - Parâmetros hematológicos de tilápias alimentadas com diferentes perfis de ácidos graxos na dieta.

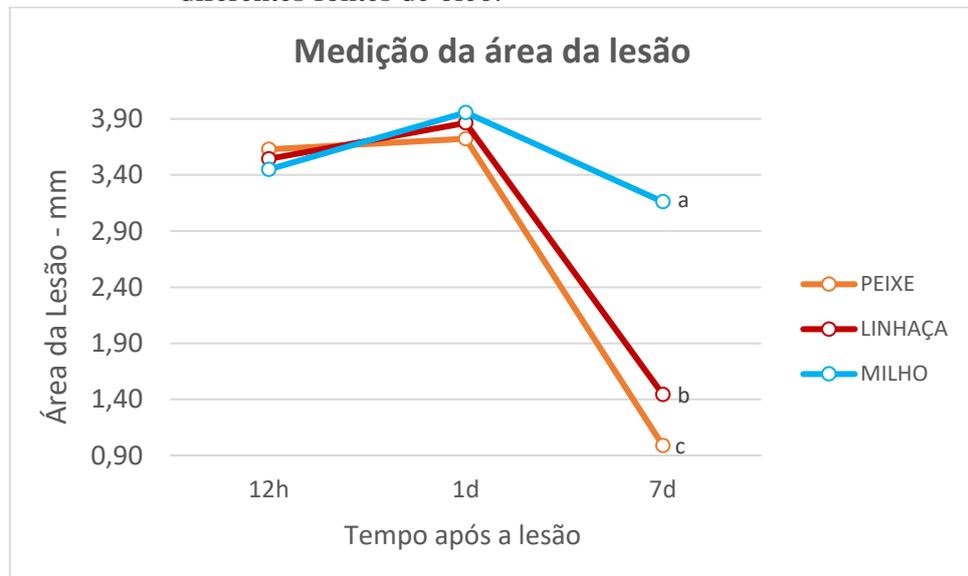
TEMPOS	Controle				12 horas				1 dia				7 dias				14 dias				
	DIETAS	Peixe	Linhaça	Milho	SEM	Peixe	Linhaça	Milho	SEM	Peixe	Linhaça	Milho	SEM	Peixe	Linhaça	Milho	SEM	Peixe	Linhaça	Milho	SEM
Eritrócitos ($\times 10^4 \text{mm}^{-3}$)		213,5	182,3	218,3	9,2	205,9	208,2	213,7	7,9	211,7	208,3	190,0	6,5	187,3	202,8	213,9	11,5	211,5	217,7	203,9	9,2
Proteína Plasmática (g/dL)		4,5	4,2	4,5	0,0	4,9	4,4	4,4	0,2	4,5	4,2	4,3	0,1	4,7	4,5	4,6	1,7	4,8	4,9	4,8	0,1
Hematócrito (%)		23,6	22,0	23,9	0,3	24,5	25,4	23,1	0,6	23,6	21,9	21,8	0,9	18,1	18,1	18,7	1,6	23,5	22,9	22,4	0,8
Glicose (mg/dL)		37,2 ^C	32,3 ^C	34,7 ^C	1,5	49,1 ^B	59,2 ^B	53,3 ^B	3,2	100,4 ^A	83,1 ^A	100,4 ^A	4,8	34,1 ^C	36,7 ^C	31,0 ^C	1,1	34,2 ^C	38,1 ^C	31,1 ^C	1,4
VCM (μm^3)		114,5	122,2	112,4	5,1	120,5	124,9	110,8	5,9	114,0	105,8	115,7	6,7	98,7	89,9	95,9	10,3	113,7	107,3	112,0	6,5
Contagem diferencial de leucócitos																					
Neutrófilo (%WBC)		11,6 ^C	10,6 ^C	9,6 ^C	2,4	14,7 ^{Cb}	10,5 ^{Cb}	25,0 ^{Ba}	4,1	47,3 ^{Aa}	38,5 ^{Ab}	33,9 ^{Bb}	7,6	26,6 ^{Bb}	24,4 ^{Bb}	45,9 ^{Aa}	4,7	16,4 ^C	16,8 ^C	18,1 ^C	2,5
Linfócito (%WBC)		82,2 ^A	82,5 ^A	82,9 ^A	3,3	81,9 ^{Aa}	85,4 ^{Aa}	69,9 ^{Bb}	4,8	40,5 ^{Cb}	49,7 ^{Ca}	53,5 ^{Ca}	7,4	60,5 ^{Ba}	64,3 ^{Ba}	40,7 ^{Cb}	5,4	77,4 ^A	75,9 ^A	76,8 ^A	2,9
Monócito (%WBC)		6,3 ^B	6,9 ^B	7,5 ^B	1,4	3,3 ^C	4,1 ^C	5,2 ^B	1,1	12,2 ^A	11,8 ^A	12,1 ^A	2,1	12,9 ^A	11,3 ^A	13,2 ^A	2,8	6,1 ^B	7,4 ^B	5,1 ^B	1,3

Os valores são médias de nove peixes. SEM (Erro padrão da média). Médias com letras minúsculas diferentes, dentro do tempo e na mesma linha, são significativamente diferentes entre os tratamentos e médias na mesma linha com letras maiúsculas diferentes são significativamente diferentes dentro do tratamento ($P < 0,05$). VCM: volume corpuscular médio; WBC: glóbulos brancos.

A análise diferencial de leucócitos, demonstrou maior concentração de neutrófilos e menor número de linfócitos, após 12 horas e 7 dias, no grupo tratado com óleo de milho (tabela 6). Os animais suplementados com óleo de peixe e linhaça, atingiram o valor máximo de neutrófilos 1 DPI. Em todos os grupos, houve uma redução no teor de monócitos após 12 horas, sendo observada as maiores concentrações nos dias 1 e 7 após a lesão (tabela 6).

O diagnóstico macroscópico da ferida cirúrgica revelou que os grupos suplementados com óleo de peixe e linhaça apresentaram menor área da ferida no 7º DPI, com uma redução de 69 e 56%, respectivamente, quando comparado ao grupo tratado com óleo de milho (Figura 1). O tamanho da ferida de cada grupo atingiu o valor máximo 1 DPI, depois diminuiu gradualmente de forma distinta entre os tratamentos até a cicatrização.

Figura 1 - Medição da área da lesão de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

O resultado da análise histológica é mostrado na tabela 7. Em todos os tratamentos foram observadas a presença de queratinócitos, fibrina, hemorragia e infiltrado de células inflamatórias, após 12 horas (Figura 3). Nesse período, houve maior necrose de miofibras nos animais tratados com óleo de milho.

No 1º DPI, o grupo suplementado com óleo de milho, apresentou maior concentração de hemorragia e infiltrado de neutrófilos. Os animais tratados com óleo de linhaça tiveram menor relação de fibrina, já os tratados com óleo de peixe contaram com um menor score para necrose de miofibras, no mesmo período (Tabela 7).

No 7º dia pós-ferimento, o tratamento com óleo de milho apresentou menor integridade da epiderme, concentração de fibroblastos e neovascularização. Além disso, foi constatado maior infiltrado de neutrófilos e macrófagos nesse grupo (Tabela 7).

Os animais alimentados com óleo de peixe e linhaça, apresentaram baixo infiltrado inflamatório, alta concentração de colágeno e melhor reparo da derme, 14 DPI (Tabela 7). Por outro lado, as tilápias suplementadas com óleo de milho ainda apresentavam altas concentrações de neutrófilos, macrófagos, fibroblastos e ativa neovascularização, nesse período (Figura 3).

As citocinas inflamatórias foram verificadas em diferentes órgãos imunológicos e no plasma. Os níveis de IL-1 β no baço foram superiores nos animais suplementados com óleo de milho em todos os tempos de coleta. 7 e 14 DPI, o tratamento com óleo de peixe obteve a menor concentração de IL-1 β nesse órgão (Figura 2).

Figura 2 - Níveis de IL-1 β no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



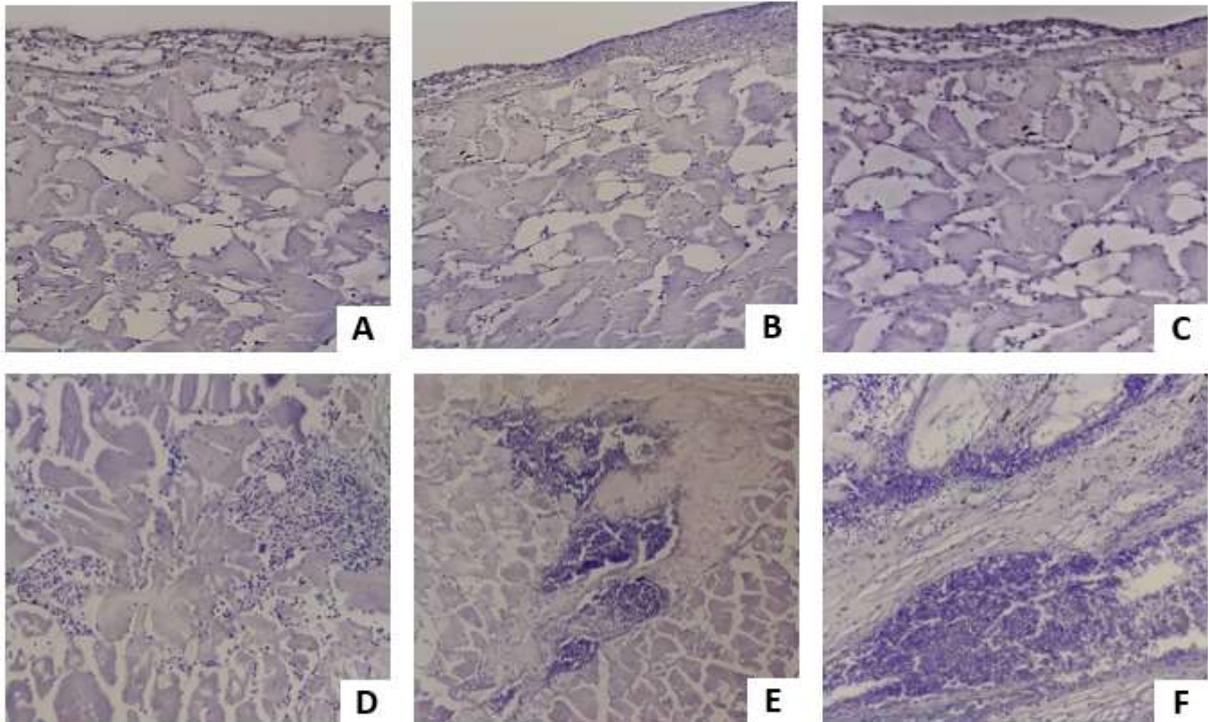
Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Tabela 7 - Parâmetros histopatológicos da pele de tilápias suplementadas com diferentes fontes de ácidos graxos.

TEMPOS DIETAS	12 horas				1 dia				7 dias				14 dias			
	Peixe	Linhaça	Milho	SEM												
Queratinócitos	1	1	1	0,1	0	0	0	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibrina	2	2	2	0,1	2 ^a	1 ^b	2 ^a	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemorragia	2	2	2	0,1	1 ^b	1 ^b	2 ^a	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
Necrose de miofibra	2 ^b	2 ^b	3 ^a	0,1	2 ^b	3 ^a	3 ^a	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
Neutrófilo	2	2	2	0,1	2 ^b	2 ^b	3 ^a	0,2	1 ^b	1 ^b	3 ^a	0,1	0 ^b	0 ^b	2 ^a	0,1
Macrófago	1	1	1	0,1	2	2	2	0,2	1 ^b	1 ^b	3 ^a	0,1	1 ^b	1 ^b	2 ^a	0,1
Linfócito	1	1	1	0,1	1	1	1	0,2	1	1	1	0,1	1	1	1	0,0
Reparo da epiderme	-	-	-	-	-	-	-	-	3 ^a	3 ^a	2 ^b	0,1	3	3	3	0,0
Macrófago com hemosiderina	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	0,1	1	1	1	0,1
Melanomacrófago	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	0,1	2	2	2	0,1
Fibroblasto	-	-	-	-	-	-	-	-	3 ^a	3 ^a	2 ^b	0,1	1 ^b	1 ^b	2 ^a	0,1
Neovascularização	-	-	-	-	-	-	-	-	3 ^a	2 ^b	2 ^b	0,1	1 ^b	1 ^b	2 ^a	0,1
Regeneração de miofibra	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	0,1	3	3	3	0,1
Colágeno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3 ^a	3 ^a	2 ^b	0,1
Reparo da derme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2 ^b	2 ^b	1 ^a	0,1

Os valores são médias de nove peixes. SEM (Erro padrão da média). Média na mesma linha com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes (P<0,05).

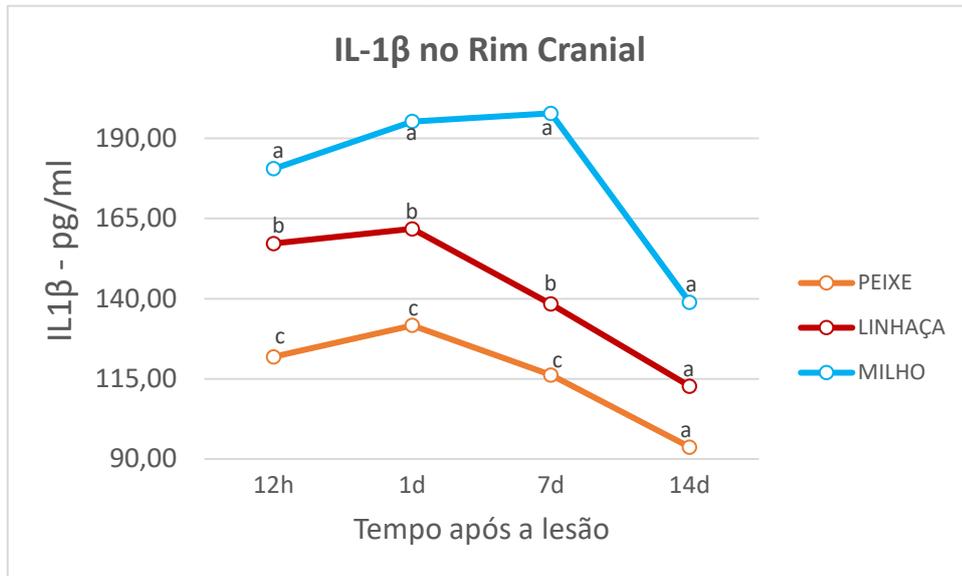
Figura 3 - Análise histopatológica da área da lesão de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo. Presença de queratinócitos poucas horas após a lesão: (A) Óleo de linhaça – após 12 horas; (B) Óleo de peixe – após 12 horas; (C) Óleo de milho – após 12 horas; Pico de células inflamatórias 1 dia após a lesão: (D) Óleo de linhaça – após 1 dia; (E) Óleo de peixe – após 1 dia; (F) Óleo de milho – após 1 dia.



No rim cranial, a maior concentração de IL-1 β foi encontrada nos animais suplementados com óleo de milho e a menor concentração foi observada no tratamento com óleo de peixe, 12h, 1 e 7 DPI. Não houve diferença significativa entre os tratamentos após 14 dias (Figura 4).

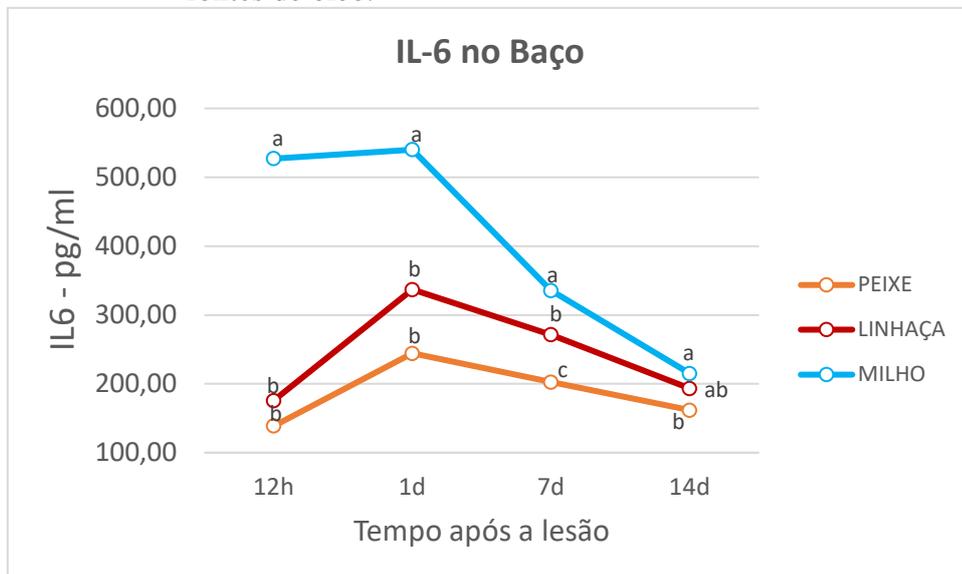
A maior concentração da citocina pró-inflamatória IL-6, no baço, foi observada no tratamento com óleo de milho, após 12h, 1 e 7 dias. Por outro lado, as suplementações com óleo de peixe e linhaça obtiveram as menores concentrações de IL-6 no baço nesse mesmo período. 14 DPI, os animais suplementados com o óleo de peixe tiveram um valor significativamente menor comparado ao óleo de milho (Figura 5). No rim cranial, o tratamento com óleo de peixe obteve a menor concentração de IL-6, 12 horas após a lesão. Já o tratamento com óleo de milho apresentou o maior acúmulo após 1, 7 e 14 da lesão (Figura 6).

Figura 4 - Níveis de IL-1 β no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



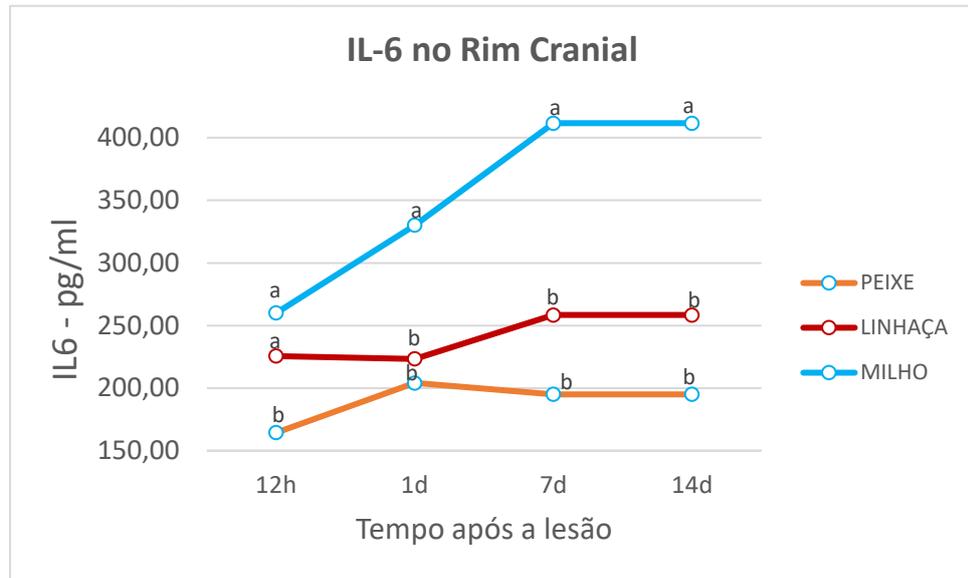
Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes (P<0,05).

Figura 5 - Níveis de IL-6 no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes (P<0,05).

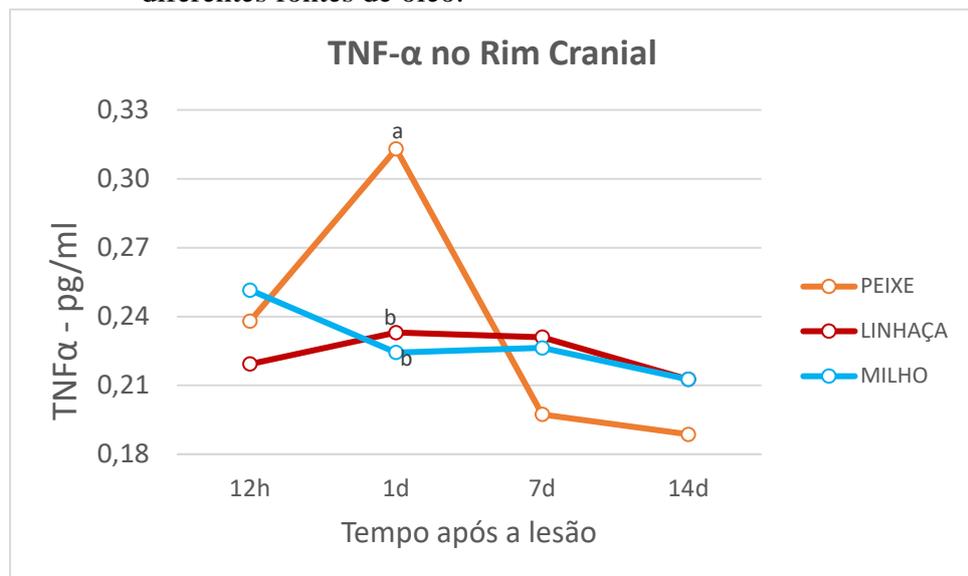
Figura 6 - Níveis de IL-6 no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

A suplementação com óleo de peixe, resultou em maior concentração de TNF- α no rim cranial, comparado ao demais tratamentos, 1 DPI (Figura 7). Entretanto, não houve diferença significativa entre tratamentos nos demais tempos de coleta ($P < 0,05$).

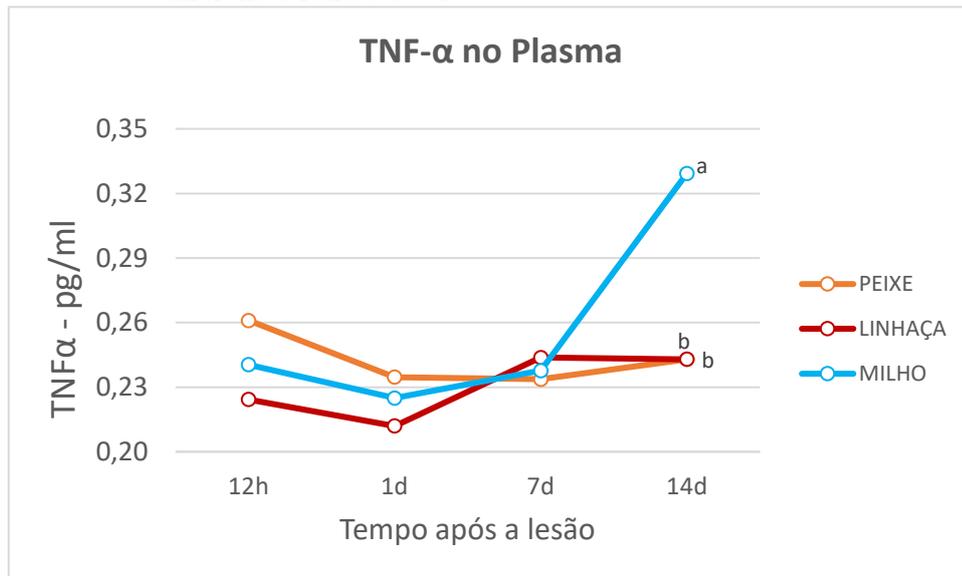
Figura 7 - Níveis de TNF- α no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

No plasma, os níveis de TNF- α não diferiram significativamente entre os tratamentos após 12h, 1 e 7 DPI. Entretanto, o tratamento com óleo de milho apresentou maior concentração dessa citocina após 14 dias, comparado aos demais grupos (Figura 8).

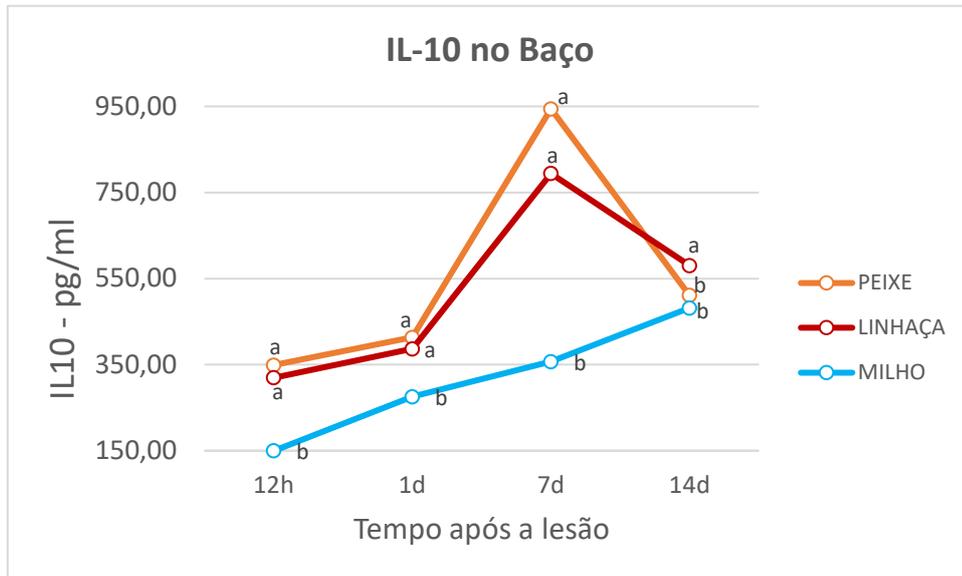
Figura 8 - Níveis de TNF- α no plasma de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

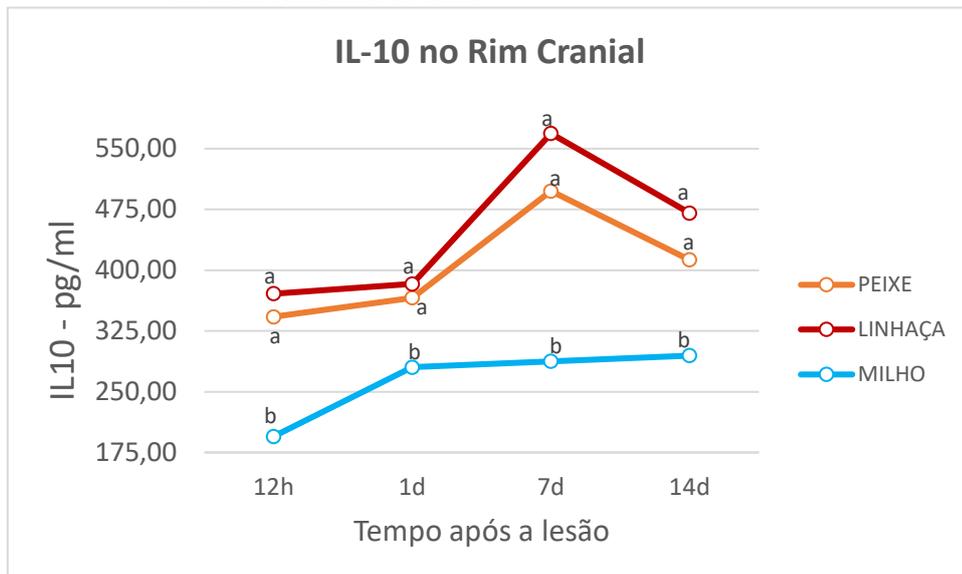
A concentração da citocina anti-inflamatória - IL-10, no baço e no rim cranial, foi superior nos animais suplementados com óleo de peixe e linhaça, 12h, 1 e 7 DPI. No 14º dia pós-lesão, os grupos tratados com óleo de linhaça apresentaram maiores níveis de IL-10 no baço e no rim cranial (Figura 9 e 10).

Figura 9 - Níveis de IL-10 no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

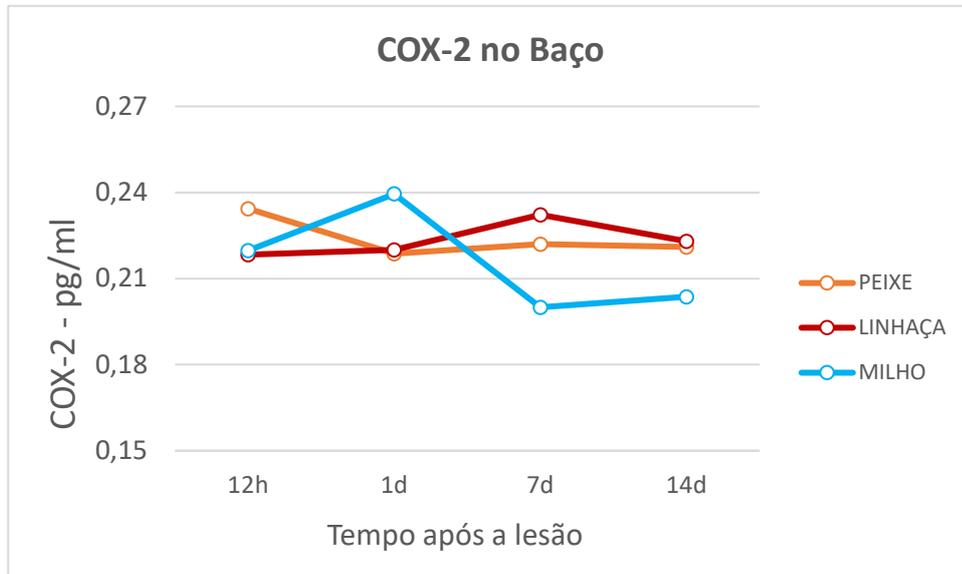
Figura 10 - Níveis de IL-10 no rim cranial de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

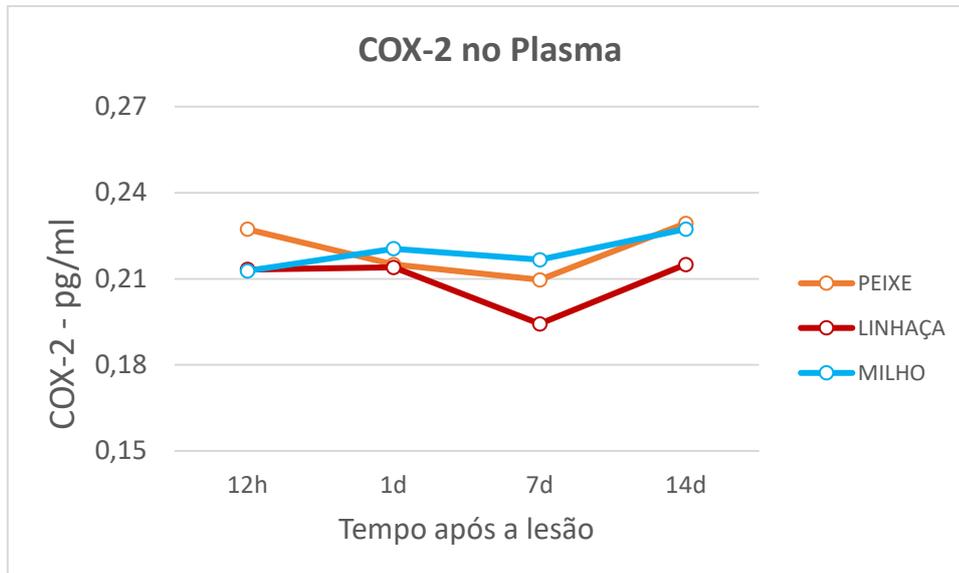
Como observado nas figuras 11 e 12, não houve diferença significativa entre os tratamentos para COX-2 no baço e no plasma.

Figura 11 - Níveis de COX-2 no baço de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Figura 12 - Níveis de COX-2 no plasma de tilápias suplementadas com diferentes fontes de óleo.



Médias no mesmo tempo com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

O bem-estar dos peixes é influenciado por práticas de manejo que levam a um aumento substancial de lesões nos animais. Feridas cutâneas interrompem a homeostase e predisõem o organismo às infecções oportunistas que acarretam danos maciços aos tecidos (STOECKLEIN et al., 2012). Os nutrientes da dieta podem inibir, retardar ou reverter esses processos. Os nutracêuticos, como lipídeos, são componentes bioativos da dieta que além de seu valor nutricional, fornecem benefícios à saúde (HOSEINIFAR et al., 2020; LEENA et al., 2020; REVERTER et al., 2020; YOUSEFI et al., 2020; LOGESH et al., 2021; YOUSEFI et al., 2021). As fontes de óleo neste estudo, não afetaram os parâmetros de crescimento e índices corporais de juvenis de tilápia. De acordo com Pereira et al. (2017), tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas que continham óleo de peixe, milho e linhaça, não apresentaram diferenças significativas no ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de conversão alimentar, índices corporais e composição centesimal. Paulino et al. (2018), também não observaram depressões de crescimento em peixes alimentados com dietas à base de óleos vegetais em comparação com óleo de peixe. Espécies marinhas suplementadas com diferentes fontes de óleo, também corroboram com esses achados (DENG et al., 2014). Tendo em vista, a oferta estagnada de óleo de peixe (TURCHINI, 2013; TOCHER e GLENCROSS, 2015; FRANCIS e TURCHINI, 2017; TURCHINI, HERMON e FRANCIS et al., 2018), esse resultado, permite a utilização dos óleos vegetais como alternativas, sustentáveis e baratas, para formulação de rações para peixes, sem prejuízo no desempenho zootécnico e nutricional.

O perfil lipídico da dieta é um dos principais fatores que influencia a composição de ácidos graxos no músculo dos peixes (COWEY e SARGENT, 1972; BELL et al., 2002; TOCHER et al., 2003; BELL et al., 2004; KARALAZOS et al., 2007; FRIESEN et al., 2008; TURCHINI, 2013; GLENCROSS et al., 2014; HIXSON et al., 2014; EMERY et al., 2016; SPRAGUE et al., 2016; FRANCIS e TURCHINI, 2017). Nesse trabalho, o filé dos animais alimentados com óleo de peixe, refletiu a maior concentração de EPA e DHA dietética. Dentro do mesmo conceito, o tratamento com óleo de linhaça apontou maiores níveis de ALA e PUFAs totais, já o músculo dos animais tratados com óleo de milho obteve a maior concentração de LA e n-6 total. Diversos autores obtiveram resultados semelhantes (XU et al., 2012; TOCHER, 2015; ROMBENSO et al., 2016; QIU et al., 2017; MATA-SOTRES et al., 2018; ARAUJO et al., 2019; AN et al., 2019). No presente estudo, as tilápias alimentadas com os óleos vegetais (linhaça e milho) obtiveram altos níveis de LC-PUFAs no músculo. Tais resultados sugerem que a essencialidade de ácidos graxos na tilápia, assim como outros peixes de água doce, pode

ser satisfeita por PUFA's de 18 carbonos, uma vez que são capazes de alongar e dessaturar, LA em ARA, e ALA em EPA e DHA (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002; RUYTER et al., 2006; TURCHINI et al., 2006; BLANCHARD et al., 2008, BELL e TOCHER, 2009; GLENCROSS 2009; TAN et al. 2009; TIAN et al. 2016). Compreender tal capacidade de síntese endógena de LC-PUFA's é benéfica tanto para a formulação de rações para peixes, quanto para a nutrição humana, uma vez que os pescados são uma fonte valiosa de AGs n3 (OBOH et al., 2016).

A análise e interpretação de parâmetros hematológicos fornecem informações relevantes para a saúde dos peixes e o prognóstico de muitas doenças. Nesse estudo, foi diagnosticada uma hiperglicemia em todos os grupos testados, 12 horas após a realização da lesão, atingindo seu pico 1 DPI. A mobilização de glicose é um componente vital da resposta adaptativa de um organismo ao estresse. Essas ações podem incluir estimulação da glicogenólise, gliconeogênese e lipólise, resultando em hiperglicemia e mobilização de ácidos graxos livres, que fornecem energia para lidar com o estressor (FABBRI et al., 1998; REID et al., 1998; MANKIEWICZ et al., 2020). A magnitude da hiperglicemia pode variar em função da espécie, tipo, duração e amplitude do estresse, no entanto, aumentos na glicose podem ser observados a partir de 30 minutos pós-estresse e persistir por 24 horas (FABBRI et al., 1998; VIJAYAN e MOON, 1994; POLAKOF et al., 2012). Essa elevação da glicose em função do estresse foi documentada em diversas espécies (AGUILAR et al., 2010; BALTZEGAR et al., 2014; LIU et al., 2018).

Neste estudo, o grupo tratado com óleo de milho, apresentou uma alta concentração de neutrófilos, 12 horas após a lesão, enquanto nos tratamentos com óleo de peixe e linhaça, essa elevação só foi observada 1 dia após a ferida. Na fase inicial do processo de reparo, os padrões moleculares associados a danos (DAMPs), liberados pelo tecido lesado, geram sinais que estimulam a secreção de citocinas pró-inflamatórias, desencadeando aumentos locais no fluxo sanguíneo, atração de células de defesa e aumento da permeabilidade vascular, o que permite o influxo de enzimas digestivas e leucócitos no tecido acometido (SERHAN, 2006; TIZARD, 2009). Os mediadores pró inflamatórios gerados durante essa fase inicial da inflamação, como as prostaglandinas, leucotrienos e fatores quimiotáticos, são essenciais para o controle do fluxo sanguíneo e da dilatação de vasos, necessários para que os leucócitos sofram firme adesão, diapedese e possam chegar ao local lesionado (SERHAN e SAVILL, 2005). A capacidade de geração dessas células pelos órgãos hematopoiéticos varia de acordo com a saúde e nutrição do indivíduo e são responsáveis pelo desfecho do processo de reparo (LI et al., 2015). Células sanguíneas, como linfócitos, monócitos e neutrófilos, desempenham um papel importante no início da inflamação, na regulação e no avanço do processo de reparo subsequente (SCHMIDT et al., 2016; SEO et al., 2017). Estudos demonstram que os linfócitos, são os leucócitos mais

abundantes no teleósteo saudável, variando de 50 a 99% (HRUBEC e SMITH, 2010; WITESKA et al., 2016; 2021). Entretanto, durante o processo inflamatório, outros leucócitos podem assumir essa posição. Os neutrófilos são os primeiros leucócitos a serem recrutados para o sítio inflamatório, sendo capazes de eliminar patógenos por meio de vários mecanismos complementares (KATZENBACK e BELOSEVIC, 2009; PIJANOWSKI et al., 2013; HAVIXBECK e BARREDA, 2015). Os monócitos sanguíneos contribuem para as populações de macrófagos residentes no tecido durante condições inflamatórias (HASHIMOTO et al., 2013; VAROL et al., 2015). Nesta pesquisa, a depleção de monócitos observada 12 horas após a lesão, pode ter ocorrido em função da migração de células para o tecido lesado. Garcia e Moraes (2009) e Gallani et al. (2021) apontaram que isso também ocorre em pacu e tambaqui após infecção por *Aeromonas*.

A cicatrização de feridas é um processo altamente ordenado, complexo e dinâmico que envolve inflamação, proliferação e remodelação (LINDLEY et al., 2016; SGHAYYAR et al., 2019; MOHOLKAR et al., 2021; ZHANG et al., 2021). Neste estudo, a análise de medição da lesão demonstrou que as tilápias suplementadas com óleo de milho, apresentaram um retardo no processo de reparo da ferida, fato que foi confirmado pela análise histopatológica e teste imunoenzimático de citocinas, quando comparados com o óleo de peixe e linhaça. Entretanto, tal diferença não foi observada no 1º dia após a realização da lesão. Resultado semelhante foi observado em curimbas (*Prochilodus lineatus*), onde os animais alimentados com óleo de peixe e de linhaça apresentaram uma redução de 24 e 24,8%, na área da ferida 7 DPI (PEREIRA, 2017b). O metabolismo do ácido linoleico, presente no óleo de milho, origina o ácido araquidônico (ARA) que compete com os AGs n3, pelas enzimas ciclooxygenase e lipoxigenase, na síntese de mediadores inflamatórios (CALDER, 2006; MARTIN e STAPELTON, 2010; BOROW, NELSON e MASON, 2015; SONNWEBER et al., 2018). Por outro lado, as dietas com óleo de linhaça e peixe, apresentam alta concentração de AGs n3, como ácido linoleico, EPA e DHA, tais compostos possuem propriedades antiinflamatórias bem como mediadores da resolução que acarretam um menor risco de desenvolvimento de processos inflamatórios crônicos (CALDER, 2015; DONOGHUE et al., 2018; ROGERO e CALDER, 2018). As células inflamatórias, entre outras, produzem uma variedade de mediadores lipídicos que têm sido implicados na inflamação em geral. Os mediadores lipídicos de maior importância são os eicosanoides, como prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs) e leucotrienos (LTs), derivados de ARA, EPA e DHA, por meio da ação da COX e da LOX (ALHOUAYEK et al., 2020). Um alto teor de AGs n6 na dieta favorece a formação elevada de PGs da série 2 e LTs da série 4, que são altamente pró-inflamatórios. Em contrapartida, o aumento na ingestão de AGs n3,

resulta na síntese de PGs da série 3 e LTs da série 5, com menor poder inflamatório, e de resolvinas e protectinas, com ação anti-inflamatória e na resolução da inflamação (ADKINS e KELLEY, 2010; CALDER, 2015; BENES et al., 2018). Sendo assim, os ácidos graxos podem modular o sistema imunológico da tilápia de forma semelhante ao já descrito para outros vertebrados (FERREIRA et al., 2015), indicando que os mecanismos de ativação da resposta inflamatória encontram-se conservados nessa espécie.

Como resposta após uma lesão e afim de evitar o processo hemorrágico, ocorre uma vasoconstrição dos vasos, a hemostasia, que é seguida do influxo de células inflamatórias no tecido. Cada vez mais, os estudos mostram que células inflamatórias, determinam a cicatrização ou retardo após feridas e doenças fisiológicas (XU et al., 2019b). Neste trabalho, os animais tratados com óleo de peixe e linhaça apresentaram uma menor área com hemorragia, 1 DPI. Pereira (2017b) também notou maior processo hemorrágico em curimbas tratadas com ácidos graxos n6. Foi observada neste ensaio, maior infiltração de neutrófilos na área da lesão a partir do 1º DPI, se mantendo elevada até o 14º DPI, no grupo tratado com óleo de milho em comparação aos demais. Os macrófagos também foram mais numerosos no tratamento com óleo de milho, 7 e 14 DPI. Em oposição a esses dados, Pereira (2017b), não observou diferença significativa na infiltração de neutrófilos, 24 horas após a lesão, além disso, concentrações de linfócitos e macrófagos foram superiores nos peixes suplementados com óleo de milho nesse período. Essa divergência de resultados provavelmente está relacionada às espécies estudadas. A alta relação de células inflamatórias, como neutrófilos, pode representar disfunção e dano endotelial o que resulta em piores desfechos no cenário de feridas (TAM et al., 2015; UNLU et al., 2015). A magnitude e a duração das respostas inflamatórias são fatores que desempenham um papel importante na regeneração de feridas, e a limitação de tal processo evita a formação de cicatrizes crônicas (SEO et al., 2017). Os fagócitos, como neutrófilos e macrófagos, desempenham um papel importante na eliminação de patógenos no sistema imunológico inato. No entanto, o acúmulo excessivo de leucócitos e uma resposta inflamatória prolongada pode suprimir a biossíntese de componentes da matriz extracelular e gerar um efeito negativo na cicatrização de feridas (BARRIENTOS et al., 2008; XU et al., 2019). Xu et al., (2018) demonstraram que os neutrófilos são rapidamente recrutados, atingem o pico 1 dia após a injúria e se dispersam gradualmente após 4 dias. Em larvas de zebrafish, a inibição de neutrófilos acelera a regeneração de ferida na nadadeira e no fígado (LI et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013). Lobo et al. (2016) também observaram uma redução no recrutamento de neutrófilos para o local da inflamação quando tratados com n3.

Os macrófagos derivados de monócitos, sofrem diferenciação específica, dependendo do ambiente tecidual local. A ativação M1 resulta em um fenótipo de macrófago altamente inflamatório, que é mediado por citocinas pró-inflamatórias, e estão envolvidos no início e na sustentação da inflamação. Já a ativação M2 é mediada por citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, e fatores de crescimento, e participa da resolução da inflamação e da remodelação de tecidos (LOUISELLE et al., 2021). Ambos os fenótipos de macrófagos são importantes para a cicatrização de feridas, e alterações no equilíbrio imunomodulador entre M1 e M2, trazem consequências para o indivíduo. Após a formação da ferida, os macrófagos M1 geram um ambiente pró-inflamatório e removem as células mortas. Nos próximos estágios de reparo, o número de macrófagos M2 aumenta gradualmente, e esses macrófagos secretam citocinas que promovem a angiogênese e a cicatrização de feridas (MANTOVANI et al., 2013). Zhang e colaboradores (2018), demonstraram que a polarização de macrófagos M1 para o fenótipo M2 promove melhora na angiogênese e reparo de tecidos. Seraphim et al. (2020) notaram que em camundongos o fechamento da ferida é significativamente atrasado, pelo aumento da proporção de macrófagos M1, e pela diminuição das defesas antioxidantes e da angiogênese. Inúmeros trabalhos têm demonstrado que os LC-PUFA n3 promovem redução da inflamação através da mudança fenotípica de M1 para M2 (TITOS et al., 2011; SPENCER et al., 2013; BOER ET AL., 2014; 2015; 2016). Baseado nos resultados obtidos neste estudo é possível inferir que os animais suplementados com óleo de milho, fonte de AGs n6, apresentaram um retardo na mudança fenotípica de macrófagos. Outra função importante dos macrófagos é a síntese e harmonização de citocinas inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10, que levam à ativação de respostas sistêmicas (QING, 2017; NIU et al., 2021).

Nos teleósteos, o baço e o rim cranial são órgãos imunes essenciais, que desempenham um papel fundamental na hematopoiese e síntese de células de defesa (WU et al., 2021). Para maior compreensão do efeito dos ácidos graxos na resposta inflamatória, foram analisadas as citocinas representativas dessa fase, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α e COX-2, nesses órgãos e no plasma. A concentração de IL-1 β e IL-6, no baço e rim cranial, foram superiores nos animais suplementados com óleo de milho, o que indica alta taxa de resposta inflamatória. Também no plasma, os maiores níveis de TNF- α foram encontrados no grupo tratado com óleo de milho após 14 dias. Em contraste, as tilápias alimentadas com dietas a base de óleo de peixe e linhaça, apresentaram alta concentração de IL-10, no baço e rim cranial, sendo o pico observado 7 DPI, além de baixa concentração de IL-1 β e IL-6. Os maiores níveis de TNF- α no rim cranial foram observados no tratamento com óleo de peixe após 1 dia da lesão, coincidindo com o pico inflamatório. A IL-1 β é peça chave nas respostas inflamatórias e imunológicas. Sua atividade,

dirige uma cascata de sinais inflamatórios em resposta à detecção de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou DAMPs (OGURA et al., 2006). Diversos estudos apontam altos níveis de citocinas, IL-1 β , IL-6 e IL-8, um dia após a lesão, em resposta a liberação de DAMPs (GILLITZER e GOEBELER, 2001; PRZYBYLSKA-DIAZ et al., 2013). IL-1 β induz a expressão de múltiplos genes pró-inflamatórios, como IL-6, IL-8, fator de ativação plaquetária e eicosanoides (DINARELLO, 2018). Em peixes, a interleucina-6 (IL-6) é uma citocina imunorreguladora que desempenha um papel polifuncional na inflamação, metabolismo, regeneração e processos neurais (JIN et al., 2021). No entanto, a sinalização disfuncional de citocinas tem sido implicada em uma série de condições patológicas (OGRYZKO et al., 2014). Em carpas, a expressão de IL-1 β e IL-6 também aumentaram após a lesão, mas declinaram após a fase inflamatória (PRZYBYLSKA-DIAZ et al., 2013). Achados de Azuma et al. (2018), indicam que a administração oral com PUFAs n-3 pode modular a inflamação na periodontite apical em ratos, diminuindo o TNF- α , IL-6, IL-1 β e IL-17 e aumentando a expressão de IL-10. Semelhante aos resultados deste experimento, Montero et al. (2010) e An et al. (2020), notaram que a expressão de IL-1 β aumentou significativamente nos grupos com baixo teor de LC-PUFA n3. Tal resultado indica que os AGs n3 podem melhorar a resistência à doença e inibir a inflamação, pela diminuição de genes pró-inflamatórios e aumento de genes anti-inflamatórios (MONTERO et al., 2010; AN et al., 2019). Lobo e colaboradores (2016) concluíram que o óleo de peixe atenua a dor inflamatória persistente em ratos por meio da modulação de TNF- α e resolvinas. Por outro lado, a IL-10 é uma citocina anti-inflamatória e imunossupressora, importante na limitação das respostas imunológicas exacerbadas e na prevenção dos efeitos prejudiciais da inflamação (SABAT et al., 2010; OUYANG et al., 2011). No presente estudo, o efeito inibitório da IL-10 foi observado em relação a várias citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Huo et al., (2019) também constataram uma supressão na expressão dos genes IL-6, IL-1 β , IL-8, TNF- α e na produção de radicais livres de oxigênio em *Siniperca chuatsi*. Estudos indicam que a IL-10 pode induzir a polarização de macrófagos para o fenótipo M2, e tais macrófagos também secretam altos níveis dessa citocina (REY-GIRAUD et al., 2012; SICA e MANTOVANI, 2012; MARTINEZ e GORDON, 2014; DAM et al., 2017). Enfim, um ambiente pró-inflamatório devido ao excesso concomitante de citocinas pró-inflamatórias, déficit de citocinas anti-inflamatórias e polarização excessiva de macrófagos M1 no local da ferida podem exacerbar ainda mais o dano ao tecido (SERAPHIM et al., 2020).

Afim de manter a homeostase do corpo e prevenir o influxo indiscriminado de patógenos oportunistas, os teleósteos utilizam um processo de epitelização, denominado “reepitelização”, que ocorre em média um dia após a injúria (ASHLEY et al., 1975; QUILHAC e SIRE, 1999;

WAHLI et al., 2003; GUERRA et al., 2008; SVEEN et al., 2019) A velocidade de reepitelização é crucial para evitar infecções subsequentes e afeta diretamente a mortalidade (ELLIOTT, 2011). Nesse estudo, a análise histológica demonstrou que o processo de cicatrização se iniciou com a reepitelização da incisão por queratinócitos, 12 horas após a lesão. No entanto, essa camada de células epiteliais diferenciadas foi perdida em todos os tratamentos 1 DPI. Quilhac e Sire (1999) e Wahli et al. (2003) também observaram uma rápida diferenciação das células da camada basal da epiderme após o ferimento dos peixes.

Em peixes, o reparo dérmico é iniciado em média 6 DPI, concomitante com a formação de tecido de granulação (BRAIMAN-WIKSMAN et al., 2007; ESTEBAN 2012). Este estágio é acompanhado pela atenuação da resposta inflamatória e pelo início do estágio proliferativo. A análise histológica após 7 dias, mostrou que a superfície da ferida dos animais tratados com óleo de peixe e linhaça, estava completamente preenchida com uma espessa camada de células epiteliais, enquanto o grupo com óleo de milho, possuía apenas uma fina e incompleta camada de células na borda da ferida. A neovascularização de uma lesão restaura a circulação sanguínea e previne o dano tecidual induzido por isquemia, o que conseqüentemente beneficia o processo de reparo tecidual (OLCZYK et al., 2014). Esse processo de angiogênese persiste até que o tecido de granulação seja substituído pela matriz de colágeno (TONNESEN et al., 2000). Nesse estudo, a neovascularização estava completa no tratamento com óleo de peixe, 7 DPI. Os AGs n3 estimulam a migração de células endoteliais e potencializam os efeitos migratórios do fator de transformação do crescimento β (TGF- β) e de fibroblastos, sendo capazes de modular o processo de proliferação e reparo de lesões (KANAYASU et al., 1991; KANAYASU, MORITA e MUROTA, 1996; RUTHIG e MECKLING-GILL, 1999). Diferente do tratamento com óleo de milho, os demais grupos obtiveram uma menor relação de fibroblastos e neovascularização, após 14 dias, o que indica que o tecido de granulação regrediu rapidamente e acelerou o reparo da lesão. O nível de colágeno no tecido de granulação é um dos principais marcadores da cicatrização de feridas (DENG et al., 2021). Neste trabalho, a menor concentração de fibroblastos no grupo tratado com óleo de milho, após 7 dias, resultou em menor síntese de colágeno e menor reparo da derme após 14 dias. De modo semelhante, Pereira (2017b) constatou menor concentração de colágeno e atraso no processo de reparo da epiderme e da derme no grupo tratado com óleo de milho. O retardo na formação de colágeno prejudica e atrasa a processo de cicatrização (WAHLI et al., 2003). A fase de remodelação, envolve etapas sucessivas de síntese, digestão e orientação das fibras de colágeno, promovendo melhor resistência e configuração da cicatriz (ESTEBAN e CEREZUELA, 2015; CEBALLOS-FRANCISCO et al., 2017). Neste estudo, os animais suplementados com óleo peixe e linhaça,

apresentaram deposição organizada de colágeno, e menor vascularização e densidade celular, após 14 dias, o que indica melhor reparo das lesões.

5 CONCLUSÃO

A suplementação dietética com óleo de peixe e linhaça, fonte de ácidos graxos da série n-3, acelera o processo de regeneração de feridas cutâneas, através da intensificação de reparo da epiderme e da derme; estimulação da síntese/migração de fibroblastos e colágeno; imunomodulação do influxo de citocinas e células inflamatórias; e contração da ferida em *Oreochromis niloticus*. Esses resultados demonstram o papel nutracêutico dos ácidos graxos n3 e seu potencial como agente de tratamento para futuras terapias de cicatrização de feridas em peixes. Tais achados abrem novas possibilidades para substituição do óleo de peixe por fontes vegetais, como óleo de linhaça, na promoção do desenvolvimento sustentável da aquicultura.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelo Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS

- ABDEL-TAWWAB, M.; EL-ASHRAM, A.M.; TAHOUN, A.; ABDEL-RAZEK, N.; AWAD, S.M.M. Effects of dietary sweet basil (*Ocimum basilicum*) oil on the performance, antioxidant property, immunity welfare, and resistance of Indian shrimp (*Penaeus indicus*) against *Vibrio parahaemolyticus* infection. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, p. 1-11, 2021.
- ADESHINA, I.; ABDEL-TAWWAB, M.; TIJANI, Z.A.; TIAMIYU, L.O.; JAHANBAKHSI, A. Dietary *Tridax procumbens* leaves extract stimulated growth, antioxidants, immunity, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to monogenean parasitic infection. **Aquaculture**, v. 532, p. 736047, 2021.
- ADKINS, Y.; KELLEY, D.S. Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 21, p. 781-792, 2010.
- AGUILAR, A.J.; CONDE-SIEIRA, M.; POLAKOF, S.; MÍGUEZ, J.M.; SOENGAS, J.L. Central leptin treatment modulates brain glucosensing function and peripheral energy metabolism of rainbow trout. **Peptides**, v. 31, p. 1044-1054, 2010.
- ALHOUAYEK, M.; AMERAOU, H.; MUCCIOLI, G.G. Bioactive lipids in inflammatory bowel diseases – From pathophysiological alterations to therapeutic opportunities. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v.1866, 158854, 2020.
- AN, W.; DONG, X.; TAN, B.; YANG, Q.; CHI, S.; ZHANG, S.; LIU, H.; YANG, Y. Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids on growth, non-specific immunity, expression of some immune-related genes and resistance to *Vibrio harveyi* in hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 96, p. 86-96, 2019.
- ARAÚJO, F.G.; COSTA, D.V.; MACHADO, M.R.F.; PAULINO, R.R.; OKAMURA, D.; ROSA, P.V. Dietary oils influence ovary and carcass composition and embryonic development of zebrafish. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, 651-661, 2017.
- ARAUJO, B.C.; MATA-SOTRES, J.A.; VIANA, M.T.; TINAJERO, A.; BRAGA, A. Fish oil-free diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effects of DHA-EPA supplementation on juvenile growth performance and muscle fatty acid profile. **Aquaculture**, v. 511, p. 734276, 2019.
- ASHLEY, L.; HALVER, J.; SMITH, R. Ascorbic acid deficiency in rainbow trout and coho salmon and effects on wound healing. **Pathology of Fishes**, p. 769-786, 1975.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) **Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International** (16th edn.), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 2005.

AZUMA, M.M.; GOMES-FILHO, J.E.; ERVOLINO, E.; CARDOSO, C.B.M.; CINTRA, L.T.A. Omega3 Fatty Acids Reduce Inflammation in Rat Apical Periodontitis. **Journal of Endodontics**, v. 44, p. 604- 608, 2018.

BALTZEGAR, D.A.; READING, B.J.; DOUROS, J.D.; BORSKI, R.J. Role for leptin in promoting glucose mobilization during acute hyperosmotic stress in teleost fishes. **Journal of Endocrinology**, v. 220, p. 61-72, 2014.

BARRIENTOS, S.; STOJADINOVIC, O.; GOLINKO, M.S.; BREM, H.; TOMIC-CANIC, M. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 16, p. 585-601, 2008.

BELL, J.G.; HENDERSON, R.J.; TOCHER, D.R.; MCGHEE, F.; DICK, J.R.; PORTER, A.; SMULLEN, R.P.; SARGENT, J.R. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. **The Journal of Nutrition**, v.132, p. 222-230, 2002.

BELL, J.G.; MACKINLAY E.E.; DICK, J.R.; MACDONALD, D.J.; BOYLE, R.M.; GLEN, A.C.A. Essential fatty acids and phospholipase A2 in autistic spectrum disorders. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 71, p. 201-204, 2004.

BELL, M.V.; TOCHER, D. R. **Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions**. In: _____. *Lipids in aquatic ecosystems*. New York: Springer, 2009. p. 211-236.

BENES, L.B.B.; BASSI, N.S.; KALOT, M.A.; DAVIDSDON, M.H. Evolution of omega-3 fatty acid therapy and current and future role in the management of dyslipidemia. **Cardiology Clinics**, v. 36, p. 277-285, 2018.

BLANCHARD, G.; MAKOMBU, J.G.; KESTEMONT, P. Influence of different dietary 18:3n-3/18:2n-6 ratio on growth performance, fatty acid composition and hepatic ultrastructure in Eurasian perch, *Perca fluviatilis*. **Aquaculture**, v. 284, p. 144-150, 2008.

BOER, A.A.; MONK, J.M.; ROBINSON, L.E. Docosahexaenoic acid decreases pro-inflammatory mediators in an in vitro murine adipocyte macrophage co-culture model. **PLoS One**, v. 9, 2014.

BOER, A.A.; MONK, J.M.; LIDDLE, D.M.; POWER, K.A.; MA, D.W.; ROBINSON, L.E. Fish oil-derived long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids reduce expression of M1-associated macrophage markers in an ex vivo adipose tissue culture model, in part through adiponectin. **Frontiers in Nutrition**, v. 2, p. 31, 2015.

BOER, A.A.; MONK, J.M.; LIDDLE, D.M.; HUTCHINSON, A.L.; POWER, K.A.; MA, D.W.; ROBINSON, L.E. Fish-oil-derived n-3 polyunsaturated fatty acids reduce NLRP3 inflammasome activity and obesity-related inflammatory cross-talk between adipocytes and CD11b(+) macrophages. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 34, p. 61-72, 2016.

BOROW, K.M.; NELSON, J.R.; MASON, R.P. Biologic plausibility, cellular effects, and molecular mechanisms of eicosapentaenoic acid (EPA) in atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 242, p. 357-366, 2015.

BRAIMAN-WIKSMAN, L.; SOLOMONIK, I.; SPIRA, R.; TENNENBAUM, T. Novel insights into wound healing sequence of events. **Toxicologic Pathology**, v. 35, p. 767-779, 2007.

CALDER, P.C. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 1505S-1519S, 2006.

CALDER, P.C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1851, p. 469-484, 2015.

CALDER, P.C. Functional roles of fatty acids and their effects on human health. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 39, p. 18–32, 2015b.

CALDER, P.C. **Metabolism of polyunsaturated fatty acids by cells of the immune system.** In: BURDGE, G. Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism, p 135-155, 2018.

CAO, L.; CHEN, Y.; DONG, S.; HANSON, A.; HUANG, B.; LEADBITTER, D.; LITTLE, D.C.; PIKITCH, E.K.; QIU, Y.; SADOVY, Y.; SUMAILA, R.; WILLIAMS, M.L.; XUE, G.; ZHANG, W.; ZHOU, Y.; ZHUANG, P.; NAYLOR, R.L. Opportunity for marine fisheries reform in China. **PNAS**, v. 114, p. 435-442, 2017.

CEBALLOS-FRANCISCO, D.; CORDERO, H.; GUARDIOLA, F.A.; CUESTA, A.; ESTEBAN, M.A. Healing and mucosal immunity in the skin of experimentally wounded gilthead seabream (*Sparus aurata* L). **Fish and Shellfish Immunology**, v.71, p.210-219, 2017.

CHI, C.; GIRI, S.S.; JUN, J.W.; KIM, H.J.; YUN, S.; KIM, S.G.; PARK, S.C. Immunomodulatory effects of a bioactive compound isolated from *Dryopteris crassirhizoma* on the Grass Carp *Ctenopharyngodon idella*. **Journal of Immunology Research**, v. 2016, p. 1-10, 2016.

COWEY, C.B.; SARGENT, J.R. Fish nutrition. **Advances in Marine Biology**, v. 10, p. 383, 1972.

DAM, N.; HOCINE, H.R.; PALACIOS, I.; DELAROSA, O.; MENTA, R.; CHARRON, D.; BENSUSSAN, A.; EL COSTA, H.; JABRANE-FERRAT, N.; DALEMANS, W.; LOMBARDO, E.; AL-DACCAK, R. Human cardiac-derived stem/progenitor cells fine-tune monocyte-derived descendants activities toward cardiac repair. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1-16, 2017.

DENG, D.F.; JU, Z.Y.; DOMINY, W.G.; CONQUEST, L.; SMILEY, S.; BECHTEL, P.J. Effect of replacing dietary menhaden oil with pollock or soybean oil on muscle fatty acid composition and growth performance of juvenile Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*). **Aquaculture**, v. 422, p. 91-97, 2014.

DENG, P.; YAO, L.; CHEN, J.; TANG, Z.; ZHOU, J. Chitosan-based hydrogels with injectable, self-healing and antibacterial properties for wound healing. **Carbohydrate Polymers**, p. 118718, 2021.

DINARELLO, C.A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. **Immunological Reviews**, v. 281, p. 8-27, 2018.

DONOGHUE, V.; SCHLEICHER, G. K.; SPRUYT, M.G.L.; MALAN, L.; NEL, D.G.; CALDER, P.C.; BLAAUW, R. Four-oil intravenous lipid emulsion effect on plasma fatty acid composition, inflammatory markers and clinical outcomes in acutely ill patients: A randomised control trial (Foil fact). **Clinical Nutrition**, v. 38. p. 2583-2591, 2018.

ELLIOTT, D.G. **Functional morphology of the integumentary system in fish**. Farrel, A.P. (Ed.), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*, 1, Academic Press, San Diego, p. 476-488, 2011.

EMERY, J.A.; NORAMBUENA, F.; TRUSHENSKI, J.; TURCHINI, G.M. Uncoupling EPA and DHA in Fish Nutrition: Dietary Demand is Limited in Atlantic Salmon and Effectively Met by DHA Alone. **Lipids**, v. 51, p. 399-412, 2016.

ESTEBAN, M.A. An overview of the immunological defenses in fish skin. **ISRN Immunology**, p. 1-29, 2012.

ESTEBAN, M.A.; CERZUELA, R. Fish Mucosal Immunity: skin Mucosal Health. **Aquaculture**, p. 67- 93, 2015.

FABBRI, E.; CAPUZZO, A.; MOON, T.W. The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: an overview. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 120, p. 177-192, 1998.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura 2018, Cumplir los Objetivos de Desarrollo Sostenible**. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. FAO, Roma (2018).

FAST, M.D.; SIMS, D.E.; BURKA, J.F.; MUSTAFA, A.; ROSS, N.W. Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. **Comparative Biochemistry and Physiology. A**, v. 1. 132, p. 645–657, 2002.

FERREIRA, M.W.; COSTA, D.V.D.; LEAL, C.A.G.; FIGUEIREDO, H.C.P.; ROSA, P.V. Dietary Oil Sources on the Innate Immunity and Resistance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Streptococcus agalactiae* Challenge. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46, p. 252-262, 2015.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.

FONTENOT, D.K.; NEIFFER, D.L. Wound management in teleost fish: biology of the healing process, evaluation, and treatment. **Veterinary Clinics of North America**, v. 7, p. 57-86, 2004.

- FRANCIS, D.S.; TURCHINI, G.M. Retro-engineering the protein sparing effect to preserve n-3 LC-PUFA from catabolism and optimise fish oil utilisation: a preliminary case study on juvenile Atlantic salmon. **Aquaculture**, v. 468, p. 184-192, 2017.
- FRIESEN, E.N.; IKONOMOU, M.G.; HIGGS, D.A.; ANG, K.P.; DUBETZ, C. Use of Terrestrial Based Lipids in Aquaculture Feeds and the Effects on Flesh Organohalogen and Fatty Acid Concentrations in Farmed Atlantic Salmon. **Environmental Science & Technology**, v. 42, p. 3519–3523, 2008.
- GALLANI, S.U.; VALLADÃO, G.M.R.; ALVES, L.O.; JESUS, R.B.; KOTZENT, S.; HASHIMOTO, D.T.; WIEGERTJES, G.; PILARSKI, F. ETosis in tambaqui *Colossoma macropomum*: A programmed cell death pathway and approach of leukocytes immune response. **Microbial Pathogenesis**, v. 155, 104918, 2021.
- GALINA, J.; YIN, G.; ARDÓ, L.; JENEY, Z. The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, p. 669-676, 2009.
- GARCIA, F.; MORAES, F.R. Hematology and clinical signs of *Piaractus mesopotamicus* experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 31, p. 17-22, 2009.
- GILLITZER, R.; GOEBELER, M. Chemokines in cutaneous wound Healing. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 69, p. 513-521, 2001.
- GLENCROSS, B.D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 71–124, 2009.
- GLENCROSS, B.D.; TOCHER, D.R.; MATTHEW, C.; BELL, J.G. Interactions between dietary docosahexaenoic acid and other long-chain polyunsaturated fatty acids on performance and fatty acid retention in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 1213–1227, 2014.
- GRAVITZ, L. Skin. **Nature**, v. 563, p. 83, 2018.
- GUERRA, R.; SANTOS, N.; CECARELLI, P.; SILVA, J.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. Healing of skin wounds in the african catfish *Clarias gariepinus*. **Journal of Fish Biology**, v. 73, p. 572-583, 2008.
- GUERREIRO, I.; OLIVA-TELES, A.; ENES, P. Probiotics as functional ingredients: focus on Mediterranean fish aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, p. 800-832, 2018.
- HAI, N.V. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. **Aquaculture**, v. 446, p. 88-96, 2015.
- HASHIMOTO, D.; CHOW, A.; NOIZAT, C.; TEO, P.; BEASLEY, M.B.; LEBOEUF, M.; MERAD, M. Tissue resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. **Immunity**, v. 38, p. 792-804, 2013.
- HAVIXBECK, J.J.; BARREDA, D.R. Neutrophil development, migration, and function in teleost fish. **Biology**, v. 4, p. 715-734, 2015.

HENRIKSSON, P.J.; RICO, A.; TROELL, M.; KLINGER, D.H.; BUSCHMANN, A.H.; SAKSIDA, S.; CHADAG, M.V.; ZHANG, W. Unpacking factors influencing antimicrobial use in global aquaculture and their implication for management: a review from a systems perspective. **Sustainability Science**, v. 13, p. 1105-1120, 2018.

HERNÁNDEZ, A.J.; ROMERO, A.; GONZALEZ-STEGMAIER, R.; DANTAGNAN, P. The effects of supplemented diets with a phytopharmaceutical preparation from herbal and macroalgal origin on disease resistance in rainbow trout against *Piscirickettsia salmonis*. **Aquaculture**, v. 454, p. 109-117, 2016.

HIXSON, S.M.; PARRISH, C.C.; ANDERSON, D.M. Changes in tissue lipid and fatty acid composition of farmed rainbow trout in response to dietary camelina oil as a replacement of fish oil. **Lipids**, v. 49, p. 97-111, 2014.

HOSEINIFAR, S.H.; KHALILI, M.; RUFCHAEI, R.; RAEISI, M.; ATTAR, M.; CORDERO, H.; ESTEBAN, M.A. Effects of date palm fruit extracts on skin mucosal immunity, immune related genes expression and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 47, p. 706-711, 2015.

HOSEINIFAR, S.H.; RINGØ, E.; MASOULEH, A.S.; ESTEBAN, M.A. Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, v. 8, p. 89-102, 2016.

HOSEINIFAR, S.H.; SUN, Y.Z.; ZHOU, Z.; VAN DOAN, H.; DAVIES, S.J.; HARIKRISHNAN, R. Boosting immune function and disease bio-control through environment-friendly and sustainable approaches in finfish aquaculture: herbal therapy scenarios. **Reviews in Fisheries Science and Aquaculture**, v. 28, p. 303-321, 2020.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. **Hematology of fishes**. WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. (Eds.), Schalm's Veterinary Hematology: Iowa, 2010, 994-1003 p.

HUO, H.J.; CHEN, S.N.; LI, L.; NIE, P. Functional characterization of IL-10 and its receptor subunits in a perciform fish, the mandarin fish, *Siniperca chuatsi*. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 97, p. 64-75, 2019.

ISHIKAWA, A.N.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; LOMBARDI, J.V. Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe, *Oreochromis niloticus*. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, 2008.

JIN, R.M.; HUANG, H.Z.; ZHOU, Y.; WANG, Y.Y.; FU, H.C.; LI, Z.; FU, X.Z.; LI, N.Q. Characterization of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) IL-6 and IL-6 signal transducer and the association between their SNPs and resistance to ISKNV disease. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 113, p. 139-147, 2021.

KANAYASU, T.; MORITA, I.; NAKAO-HAYASHI, J.; ITO, H.; MUROTA, S.I. Enhancement of migration in bovine endothelial cells by eicosapentaenoic acid pretreatment. **Atherosclerosis**, v. 87, p. 57-64, 1991.

KANAYASU, T.; MORITA, I.; MUROTA, S. Docosapentaenoic acid (22:5,n-3), an elongation metabolite of eicosapentaenoic acid (20:5,n-3), is a potent stimulator of endothelial cell migration on pretreatment in vitro. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 54, p. 319–325, 1996.

KARALAZOS, V.; BENDIKSEN, E.Å.; DICK, J.R.; BELL, J.G. Effects of dietary protein, and fat level and rapeseed oil on growth and tissue fatty acid composition and metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared at low water temperatures. **Aquaculture Nutrition**, v. 13, p. 256-265, 2007.

KATZENBACK, B.A.; BELOSEVIC, M. Isolation and functional characterization of neutrophil-like cells, from goldfish (*Carassius auratus* L.) kidney. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 33, p. 601-611, 2009.

KENDALL, A.C.; NICOLAOU, A. Bioactive lipid mediators in skin inflammation and immunity. **Progress in Lipid Research**, v. 52, p. 141-64, 2013.

KITAGAWA, A.T.; COSTA, L.S.; PAULINO, R.R.; LUZ, R.K.; ROSA, P.V.; GUERRA-SANTOS, B.; FORTES-SILVA, R. Feeding behavior and the effect of photoperiod on the performance and hematological parameters of the pacamã catfish (*Lophiosilurus alexandri*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 171, 211-218, 2015.

LEENA, M.M.; SILVIA, G.; KANNADASAN, V.; MOSES, J.A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Synergistic potential of nutraceuticals: Mechanisms and prospects for futuristic medicine. **Food & Function**, v. 11, p. 9317-9337, 2020.

LI, L.; YAN, B.; SHI, Y.Q.; ZHANG, W.Q.; WEN, Z.L. Live imaging reveals differing roles of macrophages and neutrophils during zebrafish tail fin regeneration. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, p. 25353-25360, 2012.

LI, X.; ZHANG, X.; YANG, E.; ZHANG, N.; CAO, S.; ZHOU, Y. Fish oil-supplemented parenteral nutrition could alleviate acute lung injury, modulate immunity, and reduce inflammation in rats with abdominal sepsis. **Nutrition Research**, v. 35, p. 784–791, 2015.

LINDLEY, L.E.; STOJADINOVIC, O.; PASTAR, I.; TOMIC-CANIC, M. Biology and biomarkers for wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 138, p. 18S-28S, 2016.

LIU, C.Z.; HE, A.Y.; NING, L.J.; LUO, Y.; LI, D.L.; ZHANG, M.L.; CHEN, L.Q.; DU, Z.Y. Leptin selectively regulates nutrients metabolism in Nile tilapia fed on high carbohydrate or high fat diet. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 574, 2018.

LOBO, B.W.P.; LIMA, C.K.F.; TEIXEIRA, M.S.; SILVA, N.L.C.; TAKIYA, C.M.; RAMOS, M.F.S.; MIRANDA, A.L.P.; DELLAMORA-ORTIZ, G.M. Fish oil attenuates persistent inflammatory pain in rats through modulation of TNF- α and resolvins. **Life Sciences**, v. 152, p. 30-37, 2016.

LOGESH, D.; VALLIKKADAN, M.S.; LEENA, AM.M.; MOSES, J.A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Advances in microfluidic systems for the delivery of nutraceutical ingredients. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 501-524, 2021.

- LOUISELLE, A.E.; NIEMIEC, S.M.; ZGHEIB, C.; LIECHTY, K.W. Macrophage polarization and diabetic wound healing. **Translational Research**, 2021.
- MANKIEWICZ, J.L.; DECK, C.A.; TAYLOR, J.D.; DOUROS, J.D.; BORSKI, R.J. Epinephrine and glucose regulation of leptin synthesis and secretion in a teleost fish, the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 302, 113669, 2020.
- MANTOVANI, A.; BISWAS, S.K.; GALDIERO, M.R.; SICA, A.; LOCATI, M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. **The Journal of Pathology**, v. 229, p. 176-185, 2013.
- MARTIN, J.M.; STAPELTON, R.D. Omega-3 fatty acids in critical illness. **Nutrition Reviews**, v. 68, p. 531-541, 2010.
- MARTINEZ, F.O.; GORDON, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. **F1000Prime Reports**, v. 6, p. 1-13, 2014.
- MATA-SOTRES, J.A.; TINAJERO-CHAVEZ, A.; BARRETO-CURIEL, F.; PARES-SERRA, G.; RIO-ZARAGOZA, O.B.D.; VIANA, M.T.; ROMBENSO, A.N. DHA (22:6n3) supplementation is valuable in *Totoaba macdonaldi* fish oil-free diets containing poultry by-product meal and beef tallow. **Aquaculture**, v. 497, p. 440-451, 2018.
- MOHOLKAR, D.N.; SADALAGE, P.S.; PEIXOTO, D.; PAIVA-SANTOS, A.C.; PAWAR, K.D. Recent advances in biopolymer-based formulations for wound healing applications. **European Polymer Journal**, v. 160, p. 110784, 2021.
- MONTERO, D.; MATHLOUTHI, F.; TORT, L.; AFONSO, J.; TORRECILLAS, S.; FERNÁNDEZ-VAQUERO, A.; NEGRIN, D.; IZQUIERDO, M. Replacement of dietary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *Sparus aurata*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 29, p. 1073-1081, 2010.
- MONTERO, D.; SOCORRO, J.; TORT, L.; CABALLERO, M.J.; ROBAINA, L.E.; VERGARA, J.M. Glomerulonephritis and immunosuppression associated with dietary essential fatty acid deficiency in gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles. **Journal of Fish Diseases**, v. 27, p. 297-306, 2010b.
- NIU, J.; WU, F.; HUANG, Y.; TANG, J.; WANG, B.; LU, Y.; CAI, J.; JIAN, J. Identification and characterization of high-mobility group box 1 (HMGB1) from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Reports**, v. 19, 100573, 2021.
- NOBLE, C.; JONES, H.A.C.; DAMSGÅRD, B.; FLOOD, M.J.; MIDLING, K.Ø.; ROQUE, A.; SÆTHER, B.; COTTEE, S.Y. Injuries and deformities in fish: their potential impacts upon aquacultural production and welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 61-83, 2012.
- OBOH, A.; BETANCOR, M.B.; TOCHER, D.R.; MONROIG, O. Biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in the African catfish *Clarias gariepinus*: molecular cloning and

functional characterisation of fatty acyl desaturase (fads2) and elongase (elov12) cDNAs7. **Aquaculture**, v. 462, p. 70-79, 2016.

O'DONNELL, V.B.; MASKREY, B.; TAYLOR, G.W. Eicosanoids: generation and detection in mammalian cells. **Methods in Molecular Biology**, v. 462, p. 5-23, 2009.

OGURA, Y.; SUTTERWALA, F.; FLAVELL, R. The inflammasome: first line of the immune response to cell stress. **Cell**, v. 126, p. 659-662, 2006.

OGRYZKO, N.V.; RENSHAW, S.A.; WILSON, H.L. The IL-1 family in fish: Swimming through the muddy waters of inflammasome Evolution. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 46, p. 53- 62, 2014.

OLCZYK, P.; MENCNER, Ł.; KOMOSINSKA-VASSEV, K. The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

OLIVEIRA, S.; REYES-ALDASORO, C.C.; CANDEL, S.; RENSHAW, S.A.; MULERO, V.; CALADO, A. Cxcl8 (IL-8) mediates neutrophil recruitment and behavior in the zebrafish inflammatory response. **The Journal of Immunology**, v. 190, p. 4349-4359, 2013.

OUYANG, W.; RUTZ, S.; CRELLIN, N.K.; VALDEZ, P.A.; HYMOWITZ, S.G. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. **Annual Review of Immunology**, v. 29, p. 71-109, 2011.

PAULINO, R.R.; PEREIRA, R.T.; FONTES, T.V.; OLIVA-TELES, A.; PERES, H.; CARNEIRO, D.J.; ROSA, P.V. Optimal dietary linoleic acid to linolenic acid ratio improved fatty acid profile of the juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, 2018.

PEREIRA, R.T.; PAULINO, R.R.; ALMEIDA, C.A.L.; ROSA, P.V.; ORLANDO, T.M.; SILVA, R.F. Oil sources administered to tambaqui (*Colossoma macropomum*): growth, body composition and effect of masking organoleptic properties and fasting on diet preference. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 199, p. 103-110, 2017.

PEREIRA, B.C. **Efeito dos ácidos graxos da série ômega 3 e ômega 6 na regeneração de lesões cutâneas em *Prochilodus lineatus***. 2017. Dissertação (Mestrado em Genética Reprodução e Sanidade de Organismos Aquáticos) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2017b.

PIJANOWSKI, L.; GOLBACH, L.; KOLACZKOWSKA, E.; SCHEER, M.; VERBURG-VAN KEMENADE, B.M.L.; CHADZINSKA, M. Carp neutrophilic granulocytes form extracellular traps via ROS-dependent and independent pathways. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 34, p. 1244-1252, 2013.

POLAKOF, S.; PANSERAT, S.; SOENGAS, J.L.; MOON, T.W. Glucose metabolism in fish: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, p. 1015-1045, 2012.

PULKKINEN, K.; SUOMALAINEN, L.R.; READ, A.F.; EBERT, D.; RINTAMÄKI, P.; VALTONEN, E.T. Intensive fish farming and the evolution of pathogen virulence: the case of

columnaris disease in Finland. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 277, p. 593-600, 2010.

PRZYBYLSKA-DIAZ, D.A.; SCHMIDT, J.G.; VERA-JIMENEZ, N.I.; STEINHAGEN, D.; NIELSEN, M.E. Beta-glucan enriched bath directly stimulates the wound healing process in common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 35, p. 998-1006, 2013.

QING, C. The molecular biology in wound healing & non-healing wound. **Chinese Journal of Traumatology**, v. 20, p. 189-193, 2017.

QIU, H.; JIN, M.; LI, Y.; LU, Y.; HOU, Y.; ZHOU, Q. Dietary lipid sources influence fatty acid composition in tissue of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) by regulating triacylglycerol synthesis and catabolism at the transcriptional level. **PLoS One**, v.12, 2017.

QUILHAC, A.; SIRE, J. Spreading, proliferation, and differentiation of the epidermis after wounding a cichlid fish, *hemichromis bimaculatus*. **The Anatomical Record**. v. 254, p. 435-451, 1999.

RAMPINO, A.; ANNESE, T.; MARGARI, A.; TAMMA, R.; RIBATTI, D. Nutraceuticals and their role in tumor angiogenesis. **Experimental Cell Research**, v. 408, p. 112859, 2021.

REID, S.G.; BERNIER, N.J.; PERRY, S.F. The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 120, p. 1-27, 1998.

REVERTER, M.; BONTEMPS, N.; LECCHINI, D.; BANAIGS, B.; SASAL, P. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. **Aquaculture**, v. 433, p. 50-61, 2014.

REVERTER, M.; TAPISSIER-BONTEMPS, N.; SARTER, S.; SASAL, P.; CARUSO, D. Moving towards more sustainable aquaculture practices: a meta-analysis on the potential of plant-enriched diets to improve fish growth, immunity and disease resistance. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, p. 537-555, 2020.

REY-GIRAUD, F.; HAFNER, M.; RIES, C.H. In vitro generation of monocyte-derived macrophages under serum-free conditions improves their tumor promoting functions. **PLoS One**, 7, 2012.

RINGØ, E.; DOAN, H.V.; LEE, S.H.; SOLTANI, M.; HOSEINIFAR, S.H.; HARIKRISHNAN, R.; SONG, S.K. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, p. 116-136, 2020.

ROGERO, M.M.; CALDER, P.C. Obesity, inflammation, toll-like receptor 4 and fatty acids. **Nutrients**, v. 10, p. 432, 2018.

ROH, H.J.; KIM, A.; KANG, G.S.; KIM, B.S.; KIM, D. Blue light-emitting diode light at 405 and 465 nm can inhibit a miamiensis avidus infection in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v. 493 (2018), pp. 176-185, 2018.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido.

Memórias do Instituto Butantan, v. 20, 329-334, 1947.

ROMBENSO, A.N.; TRUSHENKI, J.T.; JIRSA, D.; DRAWBRIDGE, M. Docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (ARA) are essential to meet LC-PUFA requirements of juvenile California Yellowtail (*Seriola dorsalis*). **Aquaculture**, v. 463, p. 123-134, 2016.

RUTHIG, D.J.; MECKLING-GILL, K.A. Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. **The Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1791-8, 1999.

RUYTER, B.; MOYA-FALCÓN, C.; ROSENLUND, G.; VEGUSDAL, A. Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects of temperature and dietary soybean oil. **Aquaculture**, v. 252, p. 441-452, 2006.

SABAT, R.; GRÜTZ, G.; WARSZAWSKA, K.; KIRSCH, S.; WITTE, E.; WOLK, K.; GEGINAT, J. Biology of interleukin-10. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 21, p. 331-344, 2010.

SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. **The lipids**. in: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Ed.), *Fish nutrition*, 3rd Edition. Academic Press, 2002, 181-257 p.

SCHMIDT, J.G.; ANDERSEN, E.W.; ERSBOLL, B.K.; NIELSEN, M.E. Muscle wound healing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 48, p. 273-284, 2016.

SEGNER, H.; SUNDH, H.; BUCHMANN, K.; DOUXFILS, J.; SUNDELL, K.S.; MATHIEU, C.; RUANE, N.; JUTFELT, F.; TOFTEN, H.; VAUGHAN, L. Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 85-105, 2012.

SEO, S.B.; DANANJAYA, S.H.S.; NIKAPITIYA, C.; PARK, B.K.; GOONERATNE, R.; KIM, T.Y.; LEE, J.; KIM, C.H.; DE ZOYSA, M. Silver nanoparticles enhance wound healing in zebrafish (*Danio rerio*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 68, p. 536-545, 2017.

SERAPHIM, P.M.; LEAL, E.C.; MOURA, J.; GONÇALVES, P.; GONÇALVES, J.P.; CARVALHO, E. Lack of lymphocytes impairs macrophage polarization and angiogenesis in diabetic wound healing. **Life Sciences**, v. 254, p. 117813, 2020.

SERHAN, C.N.; SAVILL, J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. **Nature Immunology**, v. 6, p. 1191-1197, 2005.

SERHAN C.N. Systems approach to inflammation resolution: Identification of novel antiinflammatory and pro-resolving mediators. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 7, p. 44-48, 2009.

- SGHAYYAR, H.N.M.; LIM, S.S.; AHMED, I.; LAI, J.Y.; CHEONG, X.Y.; CHONG, Z.W.; LIM, A.F.X.; LOH, H.S. Fish biowaste gelatin coated phosphate-glass fibres for wound-healing application. **European Polymer Journal**, v.122, 109386, 2019.
- SICA, A.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, p. 787-795, 2012.
- SIMOPOULOS, A.P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v. 233, p. 674-688, 2008.
- SPENCER, M.; FINLIN, B.S.; UNAL, R.; ZHU, B.; MORRIS, A.J.; SHIPP, L.R.; LEE, J.; WALTON, R.G.; ADU, A.; ERFANI, R.; CAMPBELL, M.; MCGEHEE JR, R.E.; PETERSON, C.A.; PHILIP A KERN, P.A. Omega-3 fatty acids reduce adipose tissue macrophages in human subjects with insulin resistance. **Diabetes**, v. 62, p. 1709-1717, 2013.
- SONNWEBER, T.; PIZZINI, A.; NAIRZ, M.; WEISS, G.; TANCEVSKI, I. Arachidonic acid metabolites in cardiovascular and metabolic diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 3285, 2018.
- SPRAGUE, M.; DICK, J.; TOCHER, D. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006–2015. **Scientific Reports**, v. 6, p. 21892, 2016.
- STOECKLEIN, V.M.; OSUKA, A.; LEDERER, J.A. Trauma equals danger—damage control by the immune system. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 92, p. 539-551, 2012.
- SVEEN, L.R.; TIMMERHAUS, G.; KRASNOV, A.; TAKLE, H.; HANDELAND, S.; YTTEBORG, E. Wound healing in post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Scientific Reports**, v. 9, p. 1-16, 2019.
- TALPUR, A.D.; IKHWANUDDIN, M.; BOLONG, A.; ABOL-MUNAFI, M.; ALPUR, A.D. Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on immune response of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, v. 400–401, p. 46-52, 2013.
- TAM, J.C.; KO, C.H.; LAU, K.M.; TO, M.H.; KWOK, H.F.; SIU, W.S.; LAU, C.P.; CHAN, W.Y.; LEUNG, P.C.; FUNG, K.P. Enumeration and functional investigation of endothelial progenitor cells in neovascularization of diabetic foot ulcer rats with a Chinese 2-herb formula. **Journal of Diabetes**, v. 7, p. 718-728, 2015.
- TAN, X.Y.; LUO, Z.; XIE, P.; LIU, X.J. Effect of dietary linolenic acid/linoleic acid ratio on growth performance, hepatic fatty acid profiles and intermediary metabolism of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**, v. 296, p. 96-101, 2009.
- TIAN, J.J.; LEI, C.X.; JI, H. Influence of dietary linoleic acid (18:2n-6) and α -linolenic acid (18:3n-3) ratio on fatty acid composition of different tissues in freshwater fish Songpu mirror carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture Research**, v. 47 (2016), pp. 3811-3825, 2016.

- TITOS, E.; RIUS, B.; GONZALEZ-PERIZ, A.; LOPEZ-VICARIO, C.; MORAN-SALVADOR, E.; MARTINEZ-CLEMENTE, M.; ARROYO, V.; CLÀRIA, J. Resolvin D1 and its precursor docosahexaenoic acid promote resolution of adipose tissue inflammation by eliciting macrophage polarization toward an M2-like phenotype. **The Journal of Immunology**, v. 187, p. 5408-5418, 2011.
- TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. Rio de Janeiro: Elsevier, ed. 8, 2009.
- TOCHER, D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, p. 107–184, 2003.
- TOCHER, D.R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 717-732, 2010.
- TOCHER, D.R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v. 449, p. 94-107, 2015.
- TOCHER, D.R.; GLENCROSS, B.D. **Lipids and fatty acids**. L. Cheng-Sheng, L. Chhorn, G.I. DelbertM, C.D. Webster (Eds.), Dietary Nutrients, Additives and Fish Health, 2015, 47 p.
- TONNESEN, M.G.; FENG, X.; CLARK, R.A. Angiogenesis in wound healing. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, p. 40-46, 2000.
- TURCHINI, G.M.; FRANCIS, D.S.; DE SILVA, S.S. Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balance method. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 144, p. 110-118, 2006.
- TURCHINI, G.M. Fish oils, misconceptions and the environment. **American Journal of Public Health**, v. 103, p. 4, 2013.
- TURCHINI, G.; HERMON, K.; CLEVELAND, B.; EMERY, J.; RANKIN, T.; FRANCIS, D. Seven fish oil substitutes over a rainbow trout grow-out cycle: I) Effects on performance and fatty acid metabolism. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, p. 82-94, 2013.
- TURCHINI, G.M.; HERMON, K.M.; FRANCIS, D.S. Fatty acids and beyond: Fillet nutritional characterisation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed different dietary oil sources. **Aquaculture**, v. 491, p. 391-397, 2018.
- UNLU, M.; ARSLAN, Z. The relation between neutrophil-lymphocyte ratio and endothelial dysfunction. **Angiology**, v. 66, p. 694, 2015.
- VALLEJOS-VIDAL, E.; REYES-LÓPEZ, F.; TELES, M.; MACKENZIE, S. The response of fish to immunostimulant diets. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 56, p. 34-69, 2016.
- VASEEHARAN, B.; THAYA. R. Medicinal plant derivatives as immunostimulants: an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. **Aquaculture International**, v. 22, p. 1079-1091, 2014.

VAROL, C.; MILDNER, A.; JUNG, S. Macrophages: development and tissue specialization. **Annual Review of Immunology**, v. 33, p. 643-675, 2015.

VIJAYAN, M.M.; MOON, T.W. The stress response and the plasma disappearance of corticosteroid and glucose in a marine teleost, the sea raven. **Canadian Journal of Zoology**, v. 72, p. 379-386, 1994.

WAHLI, T.; VERLHAC, V.; GIRLING, P.; GABAUDAN, J.; AEBISCHER, C. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 225, p. 371-386, 2003.

WALKER, P.J.; WINTON, J.R. Emerging viral diseases of fish and shrimp. **Veterinary Research**, v. 41, p. 51, 2010.

WITESKA, M.; LUGOWSKA, K.; KONDERA, E. Reference values of hematological parameters for juvenile *Cyprinus carpio*. **Bulletin- European Association of Fish Pathologists**, v. 36, p. 169-180, 2016.

WITESKA, M.; KONDERA, E.; ŁUGOWSKA, K.; BOJARSKI, B. Hematological methods in fish – Not only for beginners. **Aquaculture**, v. 547, p. 737498, 2021.

WU, F.; TING, Y.; CHEN, H. Dietary docosahexaenoic acid is more optimal than eicosapentaenoic acid affecting the level of cellular defence responses of the juvenile grouper *Epinephelus malabaricus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 14, p. 223-238, 2003.

WU, S.; DUAN, C.; KONG, L.; TU, X.; WANG, L.; GUO, Z.; YE, J. Interleukin-10 (IL-10) participates in host defense against bacterial pathogens and promotes IgM antibody production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 531, p. 735829, 2021.

WYNN, T.A.; VANNELLA, K.M. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. **Immunity**, v. 44, p. 450-462, 2016.

XU, S.; WANG, S.; ZHANG, L.; YOU, C.; LI, Y. Effects of replacement of dietary fish oil with soybean oil on growth performance and tissue fatty acid composition in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus*. **Aquaculture Research**, v. 43, p. 1276-1286, 2012.

XU, Z.; PARRA, D.; GOMEZ, D.; SALINAS, I.; ZHANG, Y.A.; VON GERSDORFF JORGENSEN, L.; HEINECKE, R.D.; BUCHMANN, K.; LAPATRA, S.; SUNYER, J.O. Teleost skin, an ancient mucosal surface that elicits gut-like immune responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 13097-13102, 2013.

XU, S.; WEBB, S.E.; LAU, T.C.K.; CHENG, S.H. Matrix metalloproteinases (MMPs) mediate leukocyte recruitment during the inflammatory phase of zebrafish heart regeneration. **Scientific Reports**, v. 8, p. 7199, 2018.

XU, S.; LIU, C.; XIE, F.; TIAN, L.; MANNO, S.H.; MANNO, F.A.M.; FALLAH, S.; PELSTER, B.; TSE, G.; CHENG, S.H. Excessive inflammation impairs heart regeneration in zebrafish breakdance mutant after cryoinjury. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 89, p. 117-126, 2019.

XU, S.; XIE, F.; TIANA, L.; MANNO, S.H.C.; MANNO, F.A.M.; CHENG, S.H. Prolonged neutrophil retention in the wound impairs zebrafish heart regeneration after cryoinjury. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 94, p. 447-454, 2019b.

YANG, S.; YAN, T.; WU, H.; XIAO, Q.; FU, H.M.; LUO, J.; ZHOU, J.; ZHAO, L.L.; WANG, Y.; YANG, S.Y.; SUN, J.L. Acute hypoxic stress: effect on blood parameters, antioxidant enzymes, and expression of HIF-1 alpha and GLUT-1 genes in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 67, p. 449-458, 2017.

YOUSEFI, M.; SHABUNIN, S.V.; VATNIKOV, Y.A.; KULIKOV, E.V.; ADINEH, H.; HAMIDI, M.K.; HOSEINI, S.M. Effects of lavender (*Lavandula angustifolia*) extract inclusion in diet on growth performance, innate immunity, immune-related gene expression, and stress response of common carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture**, v. 515, p. 734588, 2020.

YOUSEFI, M.; FARSANI, M.N.; GHAFARIFARSANI, H.; HOSEINIFAR, S.H.; VAN DOAN, H. The effects of dietary supplementation of mistletoe (*Viscum album*) extract on the growth performance, antioxidant, and innate, immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 536, p. 736385, 2021.

YUNIARTI, W.M.; LUKISWANTO, B.S. Effects of herbal ointment containing the leaf extracts of madeira vine (*Anredera cordifolia* (ten.) steenis) for burn wound healing process on albino rats. **Veterinary World**, v. 10, p. 808-813, 2017.

ZHANG, S.; LIU, Y.; ZHANG, X.; ZHU, D.; QI, X.; CAO, X.; FANG, Y.; CHE, Y.; HAN, Z.-C.; HE, Z.-X.; HAN, Z.; LI, Z. Prostaglandin E(2) hydrogel improves cutaneous wound healing via M2 macrophages polarization. **Theranostics**, v. 8, p. 5348-5361, 2018.

ZHANG, X.; YAO, D.; ZHAO, W.Y.; ZHANG, R.; YU, B.R.; MA, G.P.; XU, F.J. Engineering platelet-rich plasma based dual-network hydrogel as a bioactive wound dressing with potential clinical translational value. **Advanced Functional Materials**, v. 31, p. 2009258, 2021.

ZHANG, Z.; FULGONI, V.L.; KRIS-ETHERTON, P.M.; MITMESSER, S.H. Dietary intakes of EPA and DHA omega-3 fatty acids among US childbearing-age and pregnant women: An analysis of NHANES 2001-2014. **Nutrients**, v. 10, 2018.

ZUO, R.; AI, Q.; MAI, K.; XU, W.; WANG, J.; XU, H.; LIU, Z.; ZHANG, Y. Effects of dietarydocosahexaenoic to eicosapentaenoic acid ratio (DHA/EPA) on growth, non-specific immunity, expression of some immune related genes and disease resistance of large yellow croaker (*Larmichthys crocea*) following natural infestation of parasites (*Cryptocaryon irritans*). **Aquaculture**, v. 334-337, p. 101-109, 2012.