

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS



**ADICIÓN DE UN EXTRACTO HERBAL EN DIETAS
PARA CERDOS EN ESTRÉS POR CALOR:
INTEGRIDAD DEL EPITELIO INTESTINAL Y
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

TESIS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL EN CLIMAS
CÁLIDOS**

PRESENTA

ALEJANDRA JAQUELIN GÓMEZ ROMERO

DIRECTORA

DRA. REYNA LUCERO CAMACHO MORALES

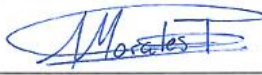
Ejido Nuevo León, Mexicali, B.C.

Junio 2025

La presente tesis titulada “ADICIÓN DE UN EXTRACTO HERBAL EN DIETAS PARA CERDOS EN ESTRÉS POR CALOR: INTEGRIDAD DEL EPITELIO INTESTINAL Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE” fue realizada por C. **Alejandra Jaquelin Gómez Romero**, dirigida por la **Dra. Reyna Lucero Camacho Morales**, ha sido evaluada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado como requisito parcial para obtener el grado de: **Maestro en Ciencias en Producción Animal en Climas Cálidos**.

COMITÉ PARTICULAR

DIRECTORA 
Dra. Reyna Lucero Camacho Morales

SINODAL 
Dra. Adriana Morales Trejo

SINODAL 
Dr. Miguel Cervantes Ramírez

SINODAL 
Dr. Ernesto Avelar Lozano

SINODAL 
Dr. Néstor Arce Vázquez

“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”

Ejido Nuevo León, Mexicali Baja California, México; 20 de junio del 2025

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, por permitirme estudiar en el Instituto de Ciencias Agrícolas.

A CONAHCYT por la obtención de mi beca para poder realizar mis estudios de posgrado.

A cada uno de los doctores e integrantes del CANA: Dr. Miguel Cervantes, Dra. Adriana Morales, Dr. Néstor Arce y Dr. Ernesto Avelar, por su apoyo, sus consejos, por creer en mí y permitirme vivir la experiencia de cursar una maestría, por transmitirme su conocimiento y su pasión por la ciencia. Especialmente a mi directora de tesis; Dra. Reyna Lucero Camacho, por ser mi guía a lo largo de este camino de la investigación, por su paciencia y por siempre estar dispuesta a ayudarme ante cualquier circunstancia, sin importar se tratará de situaciones académicas o personales.

A mis amigos y compañeros, María Cisneros, Moisés Soto y German Castillo, por todas esas noches en vela estudiando para los exámenes, haciendo tareas e incluso por los momentos de diversión. Gracias por compartir conmigo su conocimiento, y sobre todo, por brindarme su amistad y compañía.

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de vivir y la capacidad para lograr cada meta que me propongo.

A mis padres, José Antonio Gómez Borbón y Yolanda Romero Sánchez, cuyo amor y constante sacrificio han iluminado cada paso de mi trayectoria académica. Su ejemplo de perseverancia ha sido mi mayor inspiración.

A mis hermanos, quienes han crecido a mi lado y han compartido conmigo risas, preocupaciones y triunfos a lo largo de este viaje.

A la memoria de mis amadas abuelas, quienes en vida fueron ejemplos de sabiduría, amor y fortaleza. Su presencia y enseñanzas siguen presentes en mi camino, incluso en su ausencia física.

A mi grupo de danza Aketzally, por regalarme momentos de felicidad y relajación, por su apoyo incondicional y por permitirme disfrutar de su amistad.

A todos ustedes, seres queridos y amigos cercanos, les dedico este logro con profunda gratitud y reconocimiento. Este trabajo es tan suyo como mío, por formar parte de mi vida y contribuir a mi crecimiento en todos los aspectos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

COMITÉ PARTICULAR.....	i
DEDICATORIA	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Porcicultura en México.....	3
2.2 Calentamiento global	4
2.3 Estrés por calor sobre el ganado porcino	6
2.3.1 Efectos del estrés causado por calor en la ingesta de alimentos y en el desarrollo.....	8
2.3.2 Efectos del estrés por calor a nivel celular	9
2.4 Fisiología intestinal del cerdo.....	9
2.4.1 Intestino delgado.....	10
2.4.1.1 Duodeno.....	11
2.4.1.2 Yeyuno	12
2.4.1.3 Íleon	13
2.4.2 Células epiteliales	13
2.4.3 Proteínas de unión estrecha	15
2.4.4 Enzimas Antioxidantes.....	21
2.5 Estrategias nutricionales.....	27
2.5.1 <i>Capsicum spp</i> (chile)	28
2.5.2 <i>Zingiber officinale</i> (jengibre).....	29
2.5.3 <i>Piper nigrum</i> (pimienta negra)	30

III. JUSTIFICACIÓN	31
IV. HIPÓTESIS	32
V. OBJETIVOS	32
5.1. Objetivo general	32
5.2. Objetivos específicos	32
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	33
6.1 Localización	33
6.2 Selección de animales y manejo experimental	33
6.3 Determinación de la capacidad antioxidante del extracto herbal	35
6.4 Recolección de muestras.....	36
6.5 Análisis enzimático.....	37
6.5.1 Actividad de la enzima Catalasa.....	37
6.5.2 Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa	38
6.5.3 Actividad de la enzima Glutación Peroxidasa	39
6.6 Análisis histológico.....	40
6.7 Extracción de ARN total.....	41
6.9 Proteínas de unión estrecha	43
VII. RESULTADOS	47
7.1.1 Actividad de Catalasa	47
7.1.2 Actividad de Superóxido Dismutasa	48
7.1.3 Actividad de Glutación Peroxidasa	49
7.2. Histología intestinal de los cerdos	50
7.3. Análisis de expresión relativa	56
VIII. DISCUSIÓN.....	60
IX. CONCLUSIÓN	70
X. LITERATURA CITADA.....	71

ÍNDICE DE CUADROS

<i>Cuadro 1.</i> Clasificación de las proteínas en las uniones estrechas.....	16
<i>Cuadro 2.</i> Características de Ocludina.....	17
<i>Cuadro 3.</i> Características y funciones de las Claudinas.....	18
<i>Cuadro 4.</i> Características de las ZO.	19
<i>Cuadro 5.</i> Características de las SOD.	23
<i>Cuadro 6.</i> Características de Catalasa.....	24
<i>Cuadro 7.</i> Características de GPx.....	25
<i>Cuadro 8.</i> Composición de las dietas experimentales.	35
<i>Cuadro 9.</i> Oligonucleótidos específicos para proteínas de unión estrecha y actina.	43
<i>Cuadro 10.</i> Condiciones de amplificación para análisis de las muestras mediante PCR cuantitativo.	45
<i>Cuadro 11.</i> Actividad de enzimas antioxidantes en suero de cerdos en los diferentes tratamientos.	50
<i>Cuadro 12.</i> Morfología intestinal (duodeno, yeyuno, e íleon) de cerdos en termoneutralidad alimentados con una dieta testigo (TN+T), cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o adicionada con extracto herbal (EC+EH).	55
<i>Cuadro 13.</i> Análisis de las proteínas de unión estrecha en segmentos intestinales (yeyuno, e íleon) de cerdos en termoneutralidad alimentados con una dieta testigo (TN+T), cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o adicionada con extracto herbal (EC+EH).	59

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Principales estados productores de carne de cerdo en México.	4
<i>Figura 2.</i> Cambio climático global 2023.	6
<i>Figura 3.</i> Mecanismos de liberación térmica en cerdos.	7
<i>Figura 4.</i> Izquierda. Cerdo en estrés. Derecha. Cerdo sin estrés por calor.	7
<i>Figura 5.</i> Esquema de las capas intestinales.	11
<i>Figura 6.</i> Composición del epitelio intestinal.	15
<i>Figura 7.</i> Estructura de las uniones estrechas.	20
<i>Figura 8.</i> Alteración de las uniones estrechas.	21
<i>Figura 9.</i> Mecanismo de acción de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx.	27
<i>Figura 10.</i> Actividad de la enzima CAT.	38
<i>Figura 11.</i> Esquema del ensayo de SOD.	39
<i>Figura 12.</i> Esquema del ensayo de GPx.	39
<i>Figura 13.</i> Sitios histológicos en el intestino delgado que fueron utilizados para llevar a cabo análisis morfométricos.	41
<i>Figura 14.</i> Actividad de Catalasa en suero de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH). ..	47
<i>Figura 15.</i> Actividad de la enzima SOD en suero de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).	48
<i>Figura 16.</i> Actividad de la enzima GPx en suero de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).	49
<i>Figura 17.</i> Altura de vellosidades intestinales en cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).	51
<i>Figura 18.</i> Profundidad de la cripta intestinal de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T); estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T); o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).	53

<i>Figura 19.</i> Relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta intestinal (A:P) de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T); estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T); o con la dieta enriquecida con extracto herbal (EC+EH).	54
<i>Figura 20.</i> Expresión de las proteínas de unión estrecha en yeyuno de cerdos en condiciones de termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).	57
<i>Figura 21.</i> Expresión de las proteínas de unión estrecha en íleon de cerdos en condiciones de termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).	58

LISTA DE ABREVIATURAS

°C. – Grados Celsius

μl. -Microlitro

μm. - Micras

A:P .– Relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta

ADN .– Ácido desoxirribonucleico

ADNc .– Ácido desoxirribonucleico complementario

AP-1 .- Proteína activadora 1

ARN .– Ácido ribonucleico

ARNm .– Ácido ribonucleico mensajero

AV .– Altura de vellosidades

CAT .– Catalasa

Cdx .- Homeobox tipo caudal

CEES .– Células enteroendócrinas

CLAU1 .– Claudina-1

CLAU2 .– Claudina-2

Cm .- Centímetros

CUL3 .- Proteína cullin-3

DNTP's .- Desoxirribonucleótidos trifosfatados

EC .– Estrés por calor

EH .– Extracto herbal

EO .– Estrés oxidativo

g .- Gravedades

GPx .– Glutación peroxidasa

GR .– Glutación reductasa

Gr .– Gramos

GSS .– Glutación sintasa

GSSG .– Glutación oxidado

h .- Horas

H₂O₂ .- Peróxido de hidrogeno

HPLC .- Cromatografía Liquida de Alta Resolución

IPEC-J2 .- Células epiteliales del intestino delgado de cerdo

KEAP1 .- Proteína 1 asociada a ECH similar a Kelch

Kg .– kilogramos

LPS .- Liposacáridos

min .– Minuto/ minutos

ml .- Mililitro

mm .– Milímetro

NADP+ .– Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NADPH .– Fosfato dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido

NF- κ B .– Factor nuclear potenciador de la cadena ligera kappa de células B activadas

Nm .– Nanómetros

Nmol .– Nanomoles

Nrf2 .– Factor Nuclear Eritroide 2

OCLU .– Ocludina

PC .– Profundidad de la cripta

PCR .– Reacción en cadena de la polimerasa

PKC .– Proteína quinasa C

PV .– Peso vivo

qPCR .– Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

ROS .– Especies reactivas del oxígeno

rpm .– Revoluciones por minuto

SOD .– Superóxido dismutasa

STAT .– Transductor de señal y activador de la transcripción

T .– Testigo

TAC .– Células amplificadoras de tránsito

T-AOC .- Capacidad antioxidante total

TN .- Termoneutral

TNF- α .- Factor de necrosis tumoral alfa

TRL4 .- Receptor 4 tipo toll

U .- Unidades

UCP2 .- Proteína desacopladora 2

ZO .- Familia zónula occludens

ZONO .- Zónula occludens-1

RESUMEN

El estrés por calor (EC) durante el verano representa un desafío para la industria animal que compromete la eficiencia y el rendimiento de los animales. Dos consecuencias importantes del EC son el estrés oxidativo y el incremento en la permeabilidad del intestino. Se realizó un experimento con la finalidad de analizar los efectos que resultan de adicionar un extracto de plantas basado en *Capsicum spp*, *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* sobre la integridad del epitelio intestinal y la actividad antioxidante de cerdos expuestos al estrés por calor. Se utilizaron 42 cerdos cruzados de 25 (± 2) kg PV, distribuidos en 3 tratamientos: 1. Condiciones termoneutrales alimentados con una dieta testigo (TN+T), 2. Condiciones de estrés por calor alimentados con una dieta testigo (EC+T) y 3. Condiciones de estrés por calor alimentados con la dieta testigo adicionada del 0.2% del extracto herbal (EC+EH). Anterior a la fase experimental se brindó a los cerdos un período de adaptación al manejo de siete días, seguido de ocho días de experimentación. Los animales tuvieron libre acceso al agua y alimento, y al finalizar se realizó el sacrificio, colecta de muestras de los tres segmentos de intestino delgado, y muestras de sangre. Los cerdos del tratamiento EC+EH demostraron un incremento en la actividad enzimática de catalasa comparados con los que se encontraban en el tratamiento EC+T ($p < 0.05$). La actividad enzimática de superóxido dismutasa disminuyó en los cerdos bajo el tratamiento EC+T ($p < 0.05$) comparados con los que se encontraban en el tratamiento TN+T, pero la inclusión del extracto herbal (EC+EH) permitió una recuperación en la actividad de dicha enzima ($p < 0.05$). La actividad de la enzima glutatión peroxidasa fue similar entre tratamientos ($p > 0.05$). La altura de vellosidades fue similar en el segmento de duodeno ($p > 0.05$). En el yeyuno de los cerdos en EC+T se redujo la altura de vellosidades en comparación con los cerdos del tratamiento TN+T ($p < 0.05$); no obstante, la inclusión del extracto herbal en la dieta permitió una recuperación en la altura de vellosidades de los animales EC+EH ($p < 0.05$). En íleon se redujo la altura de vellosidades de los cerdos EC+EH comparados con

el grupo TN+T ($p<0.05$). La profundidad de las criptas se redujo en los 3 segmentos intestinales: duodeno, yeyuno e íleon en el grupo EC+EH comparado con los cerdos en TN+T ($p<0.05$). Por el contrario, la relación altura de vellosidad y profundidad de la cripta aumentó significativamente en los tres segmentos en el grupo EC+EH comparados con TN+T ($p<0.05$). La adición del extracto herbal incrementó la expresión de las proteínas ocludina y claudina-2 en el yeyuno de los cerdos en EC ($p<0.05$); la proteína zónula occludens-1 no presentó cambios en su expresión ($p>0.05$). En el íleon, el extracto herbal provocó una reducción en expresión de ocludina ($p<0.05$). En resumen, la inclusión de un extracto a base de plantas en dietas de cerdos en crecimiento mejora la integridad del epitelio intestinal y la actividad antioxidante, contribuyendo a reducir los efectos nocivos del estrés por calor.

Palabras clave. Actividad antioxidante, estrés oxidativo, estrés por calor, extracto herbal, integridad intestinal, proteínas de unión estrecha.

ABSTRACT

Heat stress (HS) during summer represents a challenge for the animal industry, compromising animal efficiency and performance. Two important consequences of HS are oxidative stress and increased intestinal permeability. An experiment was conducted to analyze the effects of adding a plant extract based on *Capsicum spp*, *Piper nigrum* and *Zingiber officinale* on the integrity of the intestinal epithelium and the antioxidant activity of pigs exposed to heat stress. Forty-two crossbred pigs weighing 25 ($\pm$ 2) kg LW were used, distributed in 3 treatments: 1. Thermoneutral conditions fed with a control diet (TN+T), 2. Heat stress conditions fed with a control diet (HS+T) and 3. Heat stress conditions fed with the control diet added with 0.2% of the herbal extract (HS+EH). Prior to the experimental phase, pigs were given a seven-day adaptation period to management, followed by an eight-day experimental period. The animals had free access to water and feed, and at the end of the experimental phase, they were sacrificed, and blood samples were collected from the three small intestine segments. Pigs receiving the EC+EH treatment showed an increase in catalase enzyme activity compared to those receiving the EC+T treatment ($p<0.05$). Superoxide dismutase enzyme activity decreased in pigs receiving the EC+T treatment ($p<0.05$) compared to those receiving the TN+T treatment, but the inclusion of the herbal extract (EC+EH) allowed a recovery in the activity of said enzyme ($p<0.05$). Glutathione peroxidase enzyme activity was similar between treatments ($p>0.05$). Villus height was similar in the duodenal segment ($p>0.05$). In the jejunum of pigs receiving EC+T, villus height was reduced compared to pigs receiving TN+T treatment ($p<0.05$); however, the inclusion of the herbal extract in the diet allowed villus height to recover in EC+EH pigs ($p<0.05$). In the ileum, villus height was reduced in EC+EH pigs compared to the TN+T group ($p<0.05$). Crypt depth was reduced in all three intestinal segments: duodenum, jejunum, and ileum in the EC+EH group compared to pigs receiving TN+T ($p<0.05$). In contrast, the villus height: crypt depth ratio was significantly increased in all

three segments in the EC+EH group compared to TN+T ($p<0.05$). Jejunal expression of occludin and claudin-2 proteins from EC+EH pigs were higher compared to EC+T pigs ($p<0.05$); the expression of zonula occludens-1 protein remained unchanged ($p>0.05$). In the ileum, the herbal extract reduced occludin expression ($p<0.05$). In summary, the inclusion of a herbal extract in the diets of growing pigs improves intestinal epithelial integrity and antioxidant activity, contributing to a reduction in the harmful effects of heat stress.

Keywords. Antioxidant activity, heat stress, herbal extract, intestinal integrity, oxidative stress, tight junction proteins.

INTRODUCCIÓN

Las altas temperaturas durante el verano, junto al aumento de la población que exige más productos de origen animal, representan un desafío para el sector ganadero (Escarcha *et al.*, 2018). La región de Baja California está conformada en su mayoría por zonas áridas que experimentan temperaturas extremas que provocan estrés por calor (EC) en los animales (Theusme *et al.*, 2021), afectando su fisiología, metabolismo y comportamiento (Huynh *et al.*, 2005). La zona termoneutral de los cerdos se encuentra entre los 18 a 25 °C (Renaudeau *et al.*, 2007). Cuando se supera este rango se reduce el consumo de alimento, y los animales activan mecanismos para disipar el calor, uno de ellos es el redireccionamiento del flujo sanguíneo desde el interior hacia las zonas periféricas del cuerpo (Collin *et al.*, 2001). Sin embargo, este mecanismo reduce la aportación de nutrientes que van al epitelio intestinal, que se considera uno de los tejidos más vulnerables al EC (Baumgard *et al.*, 2013), y, en consecuencia, puede observarse desbalance en la microbiota, incremento de la permeabilidad del intestino, estrés oxidativo y daños en las microestructuras del epitelio de la mucosa (Mayorga *et al.*, 2020; Patra *et al.*, 2021).

Actualmente el EC puede combatirse, al menos parcialmente, con la manipulación de la nutrición de los animales (Bejaoui *et al.*, 2023). Para el caso de la industria porcina es necesario implementar estrategias comercialmente viables para mitigar el estrés (Liu *et al.*, 2020). De esta manera, el uso de aditivos en dietas de animales se ha convertido en una alternativa para mejorar la productividad de los cerdos que padecen EC (Cottrell *et al.*, 2015). La comprensión de los impactos del estrés causado por el calor sobre fisiología, la nutrición y el metabolismo de los cerdos ha facilitado el desarrollo de aditivos en la industria porcina (Cottrell *et al.*, 2015); por ejemplo, los aditivos de origen vegetal, que además de ser estimulantes de consumo, también han

demostrado tener impactos positivos sobre la fisiología de los animales, lo que favorece su salud y rendimiento (Sampath *et al.*, 2020).

Es por ello que se decidió probar un aditivo alimenticio formulado principalmente con *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* los cuales han demostrado tener propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes entre algunos otros (Adaszek *et al.*, 2019; Ogbuewu *et al.*, 2023; Siregar *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Porcicultura en México

El aumento de la población reclama una cantidad mayor de productos de origen animal. Esto, aunado al impacto climático, representa un desafío para la sostenibilidad de la producción ganadera (Escarcha *et al.*, 2018). Durante el 2023 el consumo mundial de carne aumentó en comparación con el año anterior sumando 272 millones 249 mil toneladas, con la carne de cerdo como la de mayor consumo. Asimismo, la producción de carne también aumentó con 276 millones 978 mil toneladas (COMECARNE, 2024).

En México el consumo de carne está ligado al precio de cada tipo de carne y a la solvencia económica de la población para adquirirla. Otro aspecto de importancia es la cultura gastronómica, la cual influye en el aumento del consumo de carne según la región (Estévez-Moreno *et al.*, 2022). Este país consume 9 millones 566 mil toneladas de carne anualmente (considerando carne de res, pollo y cerdo), equivalente al 3.5% del consumo mundial de carne y se posiciona como el 6to consumidor a nivel global. En 2023 México produjo 7 millones 645 mil toneladas de carne, de los cuales 1 millón 570 mil toneladas fueron de carne proveniente del cerdo situando a México como el 6to productor de este tipo de carne a nivel mundial. La carne de cerdo ocupa el 2do lugar en consumo a nivel nacional, con un consumo per cápita de 1.969 kilos al mes. Para satisfacer las necesidades de esta demanda, México tuvo que aumentar sus importaciones de carne, ocupando el 3er lugar mundialmente en volumen de carne de cerdo importada. A pesar de la alta demanda por la carne de cerdo, las exportaciones por parte de México disminuyeron un 11.5 % por tercer año consecutivo lo que se atribuye a la reducción en las compras de Japón y Estados Unidos (COMECARNE, 2024).

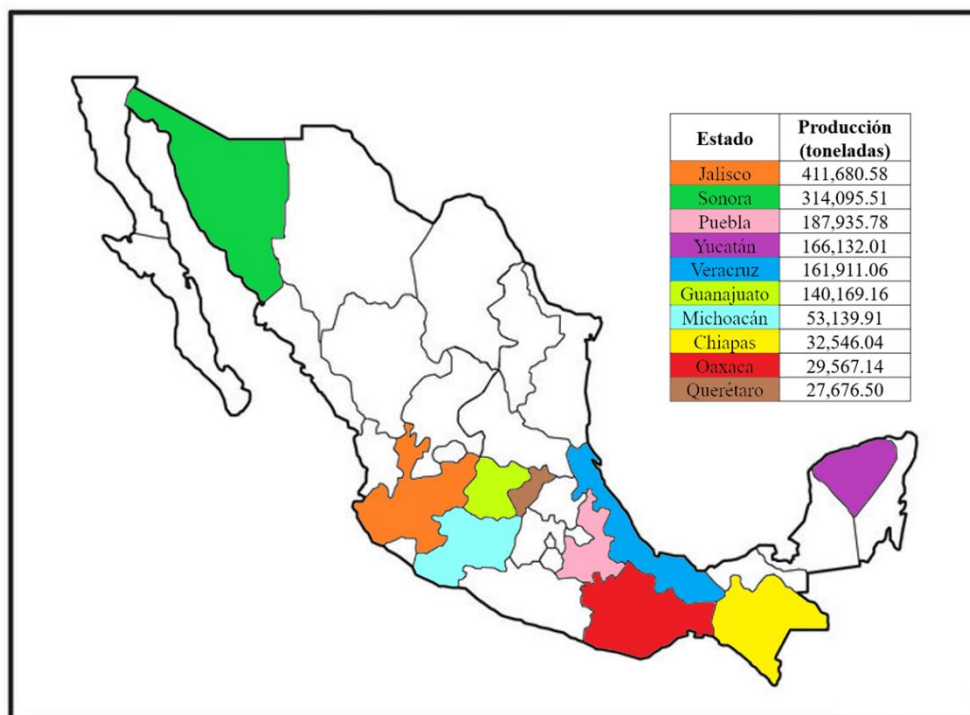


Figura 1. Principales estados productores de carne de cerdo en México, elaboración propia con datos obtenidos de (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2023).

2.2 Calentamiento global

Los gases de efecto invernadero que se presentan de forma excesiva en la atmosfera como metano, dióxido de carbono, óxido nitroso, clorofluorocarbonos y vapor de agua causan el calentamiento global dificultando la pérdida de calor irradiado desde la tierra hasta el espacio (Al-Ghussain, 2019). Se ha demostrado que las actividades de la humanidad son las responsables del aumento de la temperatura atmosférica, desencadenando una reacción donde la atmósfera retiene más humedad al intentar lograr un estado de equilibrio; elevando aún más la temperatura (Dobruskin, 2023).

El año 2023 llegó a un récord, convirtiéndose en el más caluroso registrado hasta hoy debido al aumento en la temperatura promedio mundial. Según la NASA los registros térmicos se incrementaron hasta 1.2 °C por encima del

promedio, tomando como referencia análisis previos que se enfocaron en las temperaturas desde el año 1951 hasta 1980. Este incremento confirma la tendencia al aumento del calentamiento global y con ello a todas sus consecuencias (Bardan, 2024).

La producción ganadera es afectada por el calentamiento global, enfrentándose a desafíos como enfermedades y la poca disponibilidad de agua especialmente en zonas áridas y semiáridas. Estos problemas comprometen la seguridad alimentaria disminuyendo la calidad y producción de alimentos (Rojas-Downing *et al.*, 2017; Godde *et al.*, 2021).

El cambio climático afecta a México (Rodríguez *et al.*, 2021). En el estado de Baja California se realizó un estudio donde se evaluaron y predijeron variables climáticas y su impacto en los animales de producción en una zona árida (específicamente en el Valle de Mexicali) en comparación con una zona costera. Esta zona (árida) manifestó temperaturas extremas, causando EC en animales como los cerdos (Theusme *et al.*, 2021). Este tipo de estrés, causado por el aumento de la temperatura, afecta negativamente la productividad de los animales. Por esta razón existe una necesidad inmediata de investigar y comprender las respuestas de los animales hacia esta condición con la finalidad de contrarrestar las consecuencias nocivas del estrés causado por el calor en la industria animal (Sejian *et al.*, 2018).

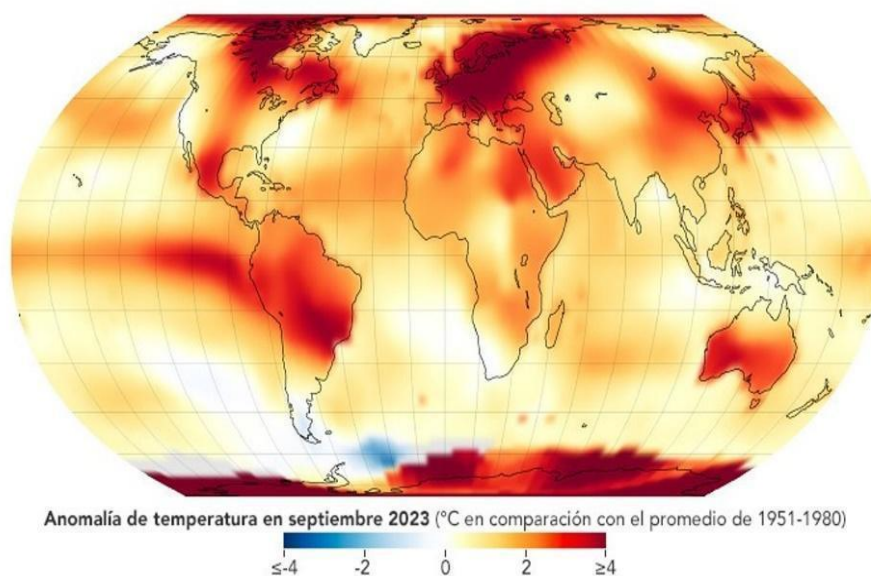


Figura 2. Cambio climático global 2023 (NASA, 2025).

2.3 Estrés por calor sobre el ganado porcino

El estrés causado por el calor se puede definir como una serie de cambios en los mecanismos fisiológicos y conductuales de animales que son expuestos a altas temperaturas (Huynh *et al.*, 2005). Estas condiciones extremas superan la zona termoneutral de los animales, y es agravada por factores como el aire, la precipitación y la humedad, así como la radiación (Mayorga *et al.*, 2019). En condiciones normales, el calor producido por las funciones productivas y de mantenimiento se equilibran con la disipación de calor hacia el ambiente sin incrementar el calor metabólico de los animales lo que permite un crecimiento óptimo y eficiente (Mayorga *et al.*, 2019) La zona termoneutral en la etapa de crecimiento y finalización de los cerdos se estableció entre los 18 a 25 °C (Renaudeau *et al.*, 2007). Sin embargo, cuando las temperaturas superan este rango, los animales comienzan a experimentar EC, lo que resulta en un balance energético negativo (Cui *et al.*, 2019), causado por el intento de compensar las variaciones en la temperatura ambiente ideal, modificando el consumo de alimento, el metabolismo y la liberación térmica mediante

conducción, convección y radiación, también disminución de temperatura por evaporación de las vías respiratorias y la piel (Mayorga *et al.*, 2019).

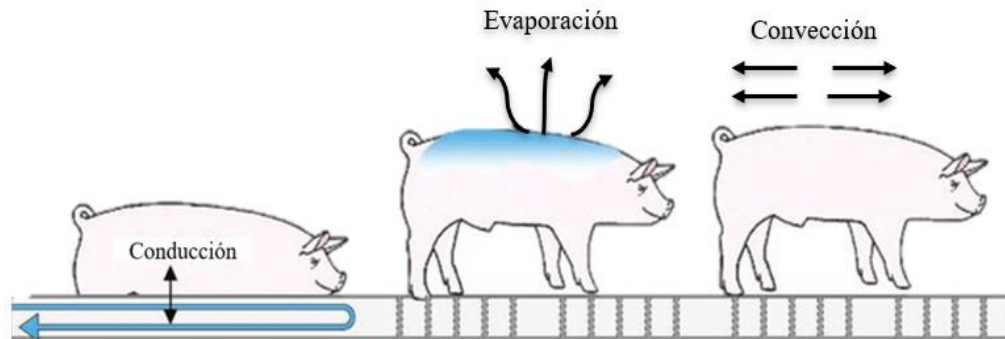


Figura 3. Mecanismos de liberación térmica en cerdos, editado de (Mayorga *et al.*, 2019).

Los cerdos son animales con alta susceptibilidad al estrés causado por el calor, ya que cuentan con un número limitado de glándulas sudoríparas funcionales para ayudarles a disiparlo (Renaudeau *et al.*, 2006). Esto representa un gran desafío para la producción animal que afecta su sostenibilidad y la rentabilidad, comprometiendo la salud y el desempeño productivo de los animales (Mayorga *et al.*, 2020). De ello surge la necesidad de comprender las estrategias de adaptación al EC para mitigar sus impactos nocivos (Cui *et al.*, 2019).

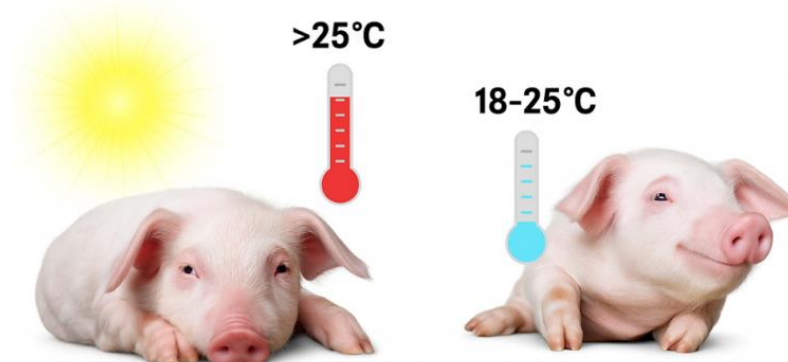


Figura 4. Izquierda. Cerdo en estrés. Derecha. Cerdo sin estrés por calor (Sánchez *et al.*, 2023).

2.3.1 Efectos del estrés causado por calor en la ingesta de alimentos y en el desarrollo

Como se ha mencionado, la producción animal enfrenta el desafío del estrés por calor, que se ve reflejado en pérdidas económicas en la ganadería debido a sus efectos perjudiciales en el crecimiento y bienestar de los animales (Ross *et al.*, 2017; Mayorga *et al.*, 2020). Los cerdos intentan regular el calor corporal dentro del rango óptimo de temperatura termoneutral mediante adaptaciones conductuales, fisiológicas y metabólicas (Quiniou *et al.*, 2001; Renaudeau *et al.*, 2011). En situaciones de calor excesivo los cerdos redireccionan el flujo sanguíneo desde el interior hacia la periferia del cuerpo, como la piel y las orejas (Collin *et al.*, 2001). Aumentando su temperatura rectal y cutánea, así como la frecuencia respiratoria y el consumo de agua para mejorar la disipación de calor y disminuir el calor producido por el metabolismo (Oliveira *et al.*, 2024). El bajo consumo de alimento también se asocia con estos mecanismos (Campos *et al.*, 2017; de Oliveira *et al.*, 2024). Sin embargo, esto reduce la disponibilidad de nutrientes en el organismo, lo que perjudica el rendimiento en el crecimiento y la ganancia de peso de los cerdos (Pearce, *et al.*, 2013; Ross *et al.*, 2015; Roach *et al.*, 2024).

Otros efectos perjudiciales en los animales son la alteración de la fisiología intestinal y el metabolismo postabsortivo de los nutrientes (Pearce *et al.*, 2013a; Mayorga *et al.*, 2020). El intestino es uno de los órganos que experimenta mayor impacto debido al EC sufriendo alteraciones fisiológicas que posteriormente desencadenan una cascada de efectos adversos, como cambios en la composición de la microbiota intestinal, mayor permeabilidad intestinal, acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), y deterioro de la integridad del epitelio mucoso (Mayorga *et al.*, 2020; Patra *et al.*, 2021). El malfuncionamiento de la defensa intestinal puede ocurrir debido a diversas situaciones donde se experimente estrés. Una es la activación del sistema nervioso parasimpático que libera hormonas y metabolitos mediante el estrés psicológico. El estrés físico y el EC también contribuyen a esta disfunción

debido a las reducciones del flujo sanguíneo que provocan hipoxia tisular, agotamiento de ATP, estrés oxidativo, muerte de los enterocitos, cambio en el rendimiento enzimático de la digesta y la síntesis de proteínas (Lambert *et al.*, 2002; Lambert, 2009; Patra *et al.*, 2021).

Estos efectos perjudican la estabilidad de las proteínas que participan en las uniones estrechas facilitando la entrada de patógenos y macromoléculas no deseadas que provocan inflamaciones sistémicas y respuesta inmune en el animal (Lambert, 2009; Patra *et al.*, 2021).

2.3.2 Efectos del estrés por calor a nivel celular

El EC causa estrés oxidativo (Liu *et al.*, 2016). Este se puede definir como una alteración en la señalización redox que genera ROS como los radicales anión, superóxido, hidroxilo, alcoxilo, peroxilo lipídico, óxido nítrico y peroxinitrito de manera excesiva (Pisoschi *et al.*, 2015). Al ocurrir esto la capacidad de neutralización antioxidante del organismo se ve afectada al no poder mantener un equilibrio entre los ROS y los antioxidantes. Como consecuencia se generan daños en tejidos y órganos del sistema gastrointestinal lo que puede llevar a inflamaciones y afectar la permeabilidad intestinal (Kim *et al.*, 2012). Estos daños naturalmente resultan en más precursores que aumentan el estrés oxidativo, afectando las membranas y la estructura proteica (Pisoschi *et al.*, 2015).

2.4 Fisiología intestinal del cerdo

El tracto gastrointestinal es fundamental para la nutrición (Xiong *et al.*, 2019). Este proceso inicia en la cavidad bucal, sitio donde se ingiere la comida, y sigue a través del estómago hacia el intestino delgado, donde se llevan a cabo mecanismos enzimáticos y mecánicos que facilitan la digestión y absorción de los nutrientes (Chiba, 2023).

2.4.1 Intestino delgado

La absorción de nutrientes se concentra principalmente en el intestino delgado. En cerdos de edad adulta, este órgano tubular tiene longitud de 20 metros aproximadamente (Adeola *et al.*, 2006; Chiba, 2023). Se ubica en el lado derecho del abdomen y se extiende desde el estómago hasta el intestino grueso (Adeola *et al.*, 2006).

La pared del intestino delgado está conformada por cuatro capas que van desde el exterior hacia el lumen intestinal: la capa serosa, la muscular, la submucosa y la mucosa respectivamente (Bartsch *et al.*, 2006).

La capa externa se denomina serosa, está conformada por un epitelio escamoso y forma el mesenterio donde se encuentran elementos vasculares, fibras de tejido y nervios. La siguiente capa de fibras musculares está formada por dos subcapas, una externa conformada por fibras musculares posicionadas de manera longitudinal, y la capa interna donde se encuentran músculos de forma circular (Everaert *et al.*, 2017). La contracción coordinada de estas subcapas determina la motilidad intestinal, misma que se refiere a la velocidad en la que los alimentos pasan por el intestino delgado. En la submucosa, se encuentran nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, todas estas estructuras organizadas por tejido conectivo (Bartsch *et al.*, 2006). La capa más interna se denomina mucosa, está dividida en 3 capas pequeñas: muscular de la mucosa; la cual tiene fibras músculos longitudinales internas y externas; lámina propia, que contiene vasos sanguíneos, tejido linfático y neuronas; y epitelio, formado por pliegues, células epiteliales, criptas secretoras y vellosidades intestinales que aumentan la capacidad de contacto con el alimento (Mowat *et al.*, 2014; Chiba, 2023).

Las vellosidades intestinales están formadas por enterocitos los cuales son células columnares que en su membrana apical cuentan con microvellosidades que intensifican aún más la capacidad de absorción de nutrientes desde el lumen (Mowat *et al.*, 2014). El tamaño de las vellosidades

es constante tanto en duodeno como en yeyuno, no obstante, al llegar al íleon esta disminuye ligeramente (Chiba, 2023). Además, el intestino delgado cuenta con cuatro tipos más de células en el epitelio las cuales están especializadas para realizar una función específica: células de Goblet, células de Tuft, células de Paneth y células enteroendócrinas (Bartsch *et al.*, 2006).

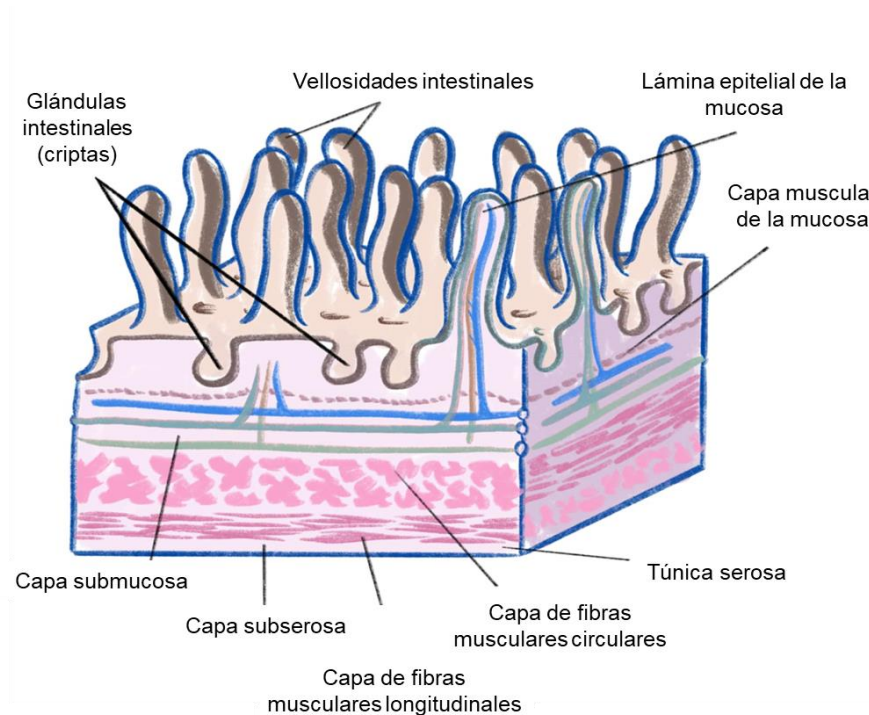


Figura 5. Esquema de las capas intestinales. Elaboración propia (modificado de (Gelberg, 2014).

El intestino delgado se encuentra dividido en tres segmentos: duodeno, yeyuno y, por último, el íleon. El duodeno e íleon representan aproximadamente el 5% cada uno de la longitud total del intestino delgado, mientras que el yeyuno es la parte más extensa, representando el 90% de su longitud total (Adeola *et al.*, 2006).

2.4.1.1 Duodeno

El duodeno corresponde al primer segmento del intestino delgado, participa en pequeña medida en la absorción de nutrientes libres, en cerdos tiene una

longitud de 70 a 95 cm, va desde el píloro del estómago hasta la unión duodeno-íleon (Mohammadpour, 2011).

Este órgano participa en la tercera etapa del proceso digestivo, después de la digestión química y enzimática que ocurre en la boca y el estómago. En él, se incorporan los jugos digestivos esenciales para la actividad digestiva, como los ácidos biliares y las enzimas del páncreas que acceden mediante un conducto denominado hepatopancreático común, que al unirse con los jugos digestivos se forma la papila duodenal mayor a pocos centímetros del píloro del estómago (Chiba, 2023). El pH es importante para la digestión enzimática, por ello, el duodeno cuenta con un tipo de glándulas denominadas Brunner que se encuentran en la submucosa del duodeno y ayudan a regular el pH, manteniéndolo entre 6.1 a 6.4. También cuenta con células secretoras de CCK para facilitar la digestión (Chiba, 2023).

2.4.1.2 Yeyuno

El yeyuno comienza en la unión duodeno-yeyunal y termina en el inicio del íleon. Se caracteriza por ser el segmento más largo del intestino delgado y el primer sitio de absorción de nutrientes. En cerdos maduros tiene una longitud de entre 14 y 19 metros, posee alta vascularización, lo que le asegura una buena irrigación sanguínea para la entrega de oxígeno y nutrientes (Chiba, 2023). Se caracteriza por tener un pH de 6.4 durante la parte inicial que va aumentando hasta 6.6 y desciende a 6.4 antes de inicial el íleon, además, en su mucosa cuenta con vellosidades intestinales y criptas profundas de Lieberkühn, las cuales contienen gran cantidad de células Paneth encargadas de funciones antimicrobianas (Celi *et al.*, 2017). Las válvulas de Kerckring, pliegues de forma circular paralelos en la mucosa aumentan la capacidad de absorción de nutrientes (Chiba, 2023). Este segmento intestinal también cuenta con las llamadas glándulas Brunner que están distribuidas hasta la parte proximal del yeyuno, estas se aseguran de que las secreciones alcalinas neutralicen la acidez antes de la absorción completa (Chen *et al.*, 2015).

En la submucosa yeyunal de los cerdos se sitúa tejido linfoide vinculado al intestino, que contiene placas de Peyer y folículos linfoides compuestos por células B y T (Chiba, 2023).

2.4.1.3 Íleon

El último segmento del intestino delgado es el íleon, mide entre 0.7 y 1 metros en cerdos adultos, su vascularización es menor a la del yeyuno (Chiba, 2023). Su pH es de 6.4 al inicio, después aumenta hasta 6.7 en los segmentos medios y posteriormente desciende a 6.4 nuevamente cerca de la unión ileocecal. En el punto de unión del intestino delgado con el intestino grueso se encuentra la válvula ileocecal. Su función es regular el paso del contenido digerido en el intestino delgado hacia el intestino grueso y evitar el regreso de fluido intestinal que contiene microbios hacia el intestino delgado (Chiba, 2023).

A diferencia con el duodeno y el yeyuno, el íleon realiza una digestión mínima y se enfoca principalmente en la asimilación de nutrientes, ya que cuenta con una pared intestinal delgada, lo que disminuye la distancia recorrida por los nutrientes para ser absorbidos (Chiba, 2023). El freno ileal es un mecanismo activado por los lípidos en la porción inicial del intestino delgado, que ayuda a regular el ritmo de la digestión y absorción al reducir la velocidad del paso de los alimentos que no están digeridos por completo hacia el intestino grueso (Moran *et al.*, 2021).

La submucosa del íleon en los cerdos también contiene placas Peyer, no obstante, la composición de estas en este segmento es diferente, el 90% de las células inmunes que las conforman son linfocitos B (Chiba, 2023).

2.4.2 Células epiteliales

Como se mencionó antes, el epitelio intestinal está conformado principalmente por enterocitos y cuatro formas celulares especializadas: células de Goblet, células Tuft, células de Paneth y células enteroendócrinas (Chiba, 2023).

Los enterocitos forman las vellosidades intestinales que aumentan la superficie intestinal. Estos se desarrollan a partir de las células progenitoras que se encuentran en el inferior de las criptas (Liu *et al.*, 2020). A medida que maduran, los enterocitos se desplazan por encima del tercio basal de las vellosidades, donde activan sus funciones digestivas. La capacidad máxima de absorción se alcanza en el punto medio o superior de las vellosidades donde su ciclo de vida termina al desprenderse hacia el lumen (Chiba, 2023).

Las células caliciformes o células de Goblet secretan moco que lubrica y protege el epitelio intestinal. Estas células están ubicadas en la capa epitelial rodeadas por enterocitos. La mayor presencia de células caliciformes se encuentra en el íleon mientras en duodeno y yeyuno existe una menor densidad de ellas (Chiba, 2023).

Las células de Tuft se caracterizan por ser células quimiosensoriales que se encuentran en el revestimiento tanto en la porción delgada como en la porción gruesa del intestino. Su función principal es alertar al sistema inmunológico cuando detecta alteraciones fisiológicas en el lumen intestinal como infecciones parasitarias (Chiba, 2023). En respuesta a estas infecciones, las células de Tuft pueden aumentar su número hasta 10 veces si es necesario. Estas células liberan IL-25 que desencadena un mecanismo donde se activan las células linfoides innatas del grupo 2 (ILC2) provocando una respuesta inflamatoria mediante la generación de IL-5, IL-9 e IL-13 (Chiba, 2023).

En el fondo de las criptas de Lieberkühn se encuentran las células de Paneth, cuya función principal es regular la relación entre el huésped y microbiota en el intestino mediante la producción de defensinas, lisozimas y proteínas con actividad antimicrobiana (Gassler, 2017).

Las CEEs o células enteroendócrinas responden a nutrientes específicos presentes en el lumen intestinal secretando péptidos que facilitan la relación entre el eje intestino-cerebro del sistema nervioso central (Chiba, 2023).

- Recibir y transmitir señales celulares que actúan sobre la función y el comportamiento de células y tejidos.

Desde el punto de vista estructural las uniones estrechas están formadas por proteínas que se agrupan según su localización y función en 2 categorías principales como se muestra en el *Cuadro 1* (Suzuki, 2013a). La primera clase de proteínas, denominadas transmembrana, interaccionan con células adyacentes funcionando como una puerta y barrera que regula el paso de sustancias. Por otro lado, las proteínas de andamiaje intracelular conectan las uniones estrechas al citoesqueleto de actina, y algunas participan en funciones reguladoras (Günzel *et al.*, 2012). A continuación, el *Cuadro 1* muestra la clasificación de las proteínas de uniones estrechas.

Cuadro 1. Clasificación de las proteínas en las uniones estrechas (Suzuki, 2013b; Lee, 2015).

Clasificación	Proteínas	Ubicación	Función
Transmembrana	Ocludina Claudinas JAM Tricelulina	Membrana plasmática	Sellan los espacios intercelulares mediante contacto con proteínas homólogas de células vecinas.
Andamiaje intracelular	ZO-1 ZO-2 ZO Cingulina	Citoplasma	Conectan proteínas transmembrana al citoesqueleto de actina, dando estructura y organización.

En 1993, se identificó la primera proteína de membrana integral de aproximadamente 65 kDa, extraída a partir de hígado de pollo, a la que denominaron ocludina (Furuse *et al.*, 1993). Años más tarde, se realizaron estudios para la identificación de ocludina en mamíferos, los cuales demostraron hasta 90% de similitud en los aminoácidos que forman ocludina entre especies de mamíferos como el humano, perro y ratón, no obstante, esta similitud fue muy baja cuando se comparó con la ocludina encontrada en aves

(Ando-Akatsuka *et al.*, 1996). Las características de ocludina se muestran a continuación en el *Cuadro 2*.

Cuadro 2. Características de Ocludina (Feldman *et al.*, 2005).

Características	Detalles
Estructura	Compuesta por cuatro dominios específicos: - Extremo COOH - Extremo N-terminal - Dominios extracelulares y transmembrana - Dominio de superenrollamiento (COOH-terminal)
Regulación	Fosforilación y desfosforilación, regulada por las vías de señalización de: - PKC - GTPasas pequeñas - Citocinas
Interacciones con otras proteínas	Se asocia con proteínas de unión estrecha como: ZO-1, ZO-2, ZO-3, JAM, VAP-33, JEAP, CLMP

Las claudinas, son una familia de proteínas que participa en la estructura y las funciones de las uniones estrechas detectadas en células epiteliales y endoteliales (Furuse *et al.*, 1998a; Heiskala *et al.*, 2001) . Estas proteínas están relacionadas con la formación de barreras paracelulares y la selectividad iónica (Otani *et al.*, 2020). Hasta el momento se han identificado 27 proteínas de la familia claudina, no obstante, se deben de realizar más estudios acerca de su localización en diversos tejidos (Mineta *et al.*, 2011). En el siguiente cuadro se muestran las características y funciones de las

claudinas (*Cuadro 3*).

Cuadro 3. Características y funciones de las Claudinas (*Furuse et al., 1998a; Heiskala et al., 2001; Mineta et al., 2011; Otani et al., 2020*).

Características	Detalles
Estructura	Están compuestas por 4 dominios transmembrana, 2 bucles extracelulares (ECL1 y ECL2), un bucle intracelular, extremos N y C citoplasmáticos.
Interacciones	Se unen principalmente a proteínas transmembrana como ocludina y JAM.
Funciones	- Formación de hebras de uniones estrechas. - Determinación de la selectividad iónica del canal paracelular. - Formación de barreras paracelulares.

La claudina-2 es una proteína transmembrana identificada por primera vez en 1998, formada por cuatro dominios que atraviesan la membrana plasmática (*Furuse et al., 1998a*). Su masa molecular es de 24.5 kDa, y está compuesta por 230 aminoácidos. Al igual que las demás claudinas, se forma por dos bucles extracelulares, un bucle intracelular y extremos N y C terminales (*Furuse et al., 1998a; Furuse et al., 1998b*). Claudina-2 trabaja en conjunto con las demás proteínas de la familia de claudinas participando en la estructura de las cadenas de unión estrecha y permitiendo el paso de cationes mediante canales especializados (*Luettig et al., 2015*).

Las ZO son una familia de proteínas de andamiaje encargadas de unir al citoesqueleto de actina las proteínas de membrana que forman parte de las uniones estrechas (*Otani et al., 2020*). Pertenecen a la familia MAGUK. Su estructura les permite interactuar con otras proteínas mediante los dominios PDZ N- terminal, SH3, GUK y una región de actina que se encuentra en el C-

terminal (Otani *et al.*, 2020). A continuación, se muestra un cuadro con las características de las proteínas ZO (*Cuadro 4*).

Cuadro 4. Características de las ZO (Anderson *et al.*, 1995; Otani *et al.*, 2020).

Características	Detalles
Regulación	Fosforilación de tirosina.
Isoformas	ZO-1, ZO-2, ZO-3.
Funciones	- Señalización celular. - Organización de proteínas en el citoesqueleto de actina. - Anclaje de actina asociada a la membrana.

ZO-1 es una proteína de andamiaje que está en contacto con el citosol. Su estructura consta de dominios especializados que facilitan su interacción con otras proteínas como las de andamiaje, transmembrana, entre ellas claudinas y ocludina, así como las de adhesión celular y citoesqueleto. Entre estos dominios destacan PDZ, SH3, una región que se une a actina y ZU5 (Anderson *et al.*, 1995; Yu *et al.*, 2023).

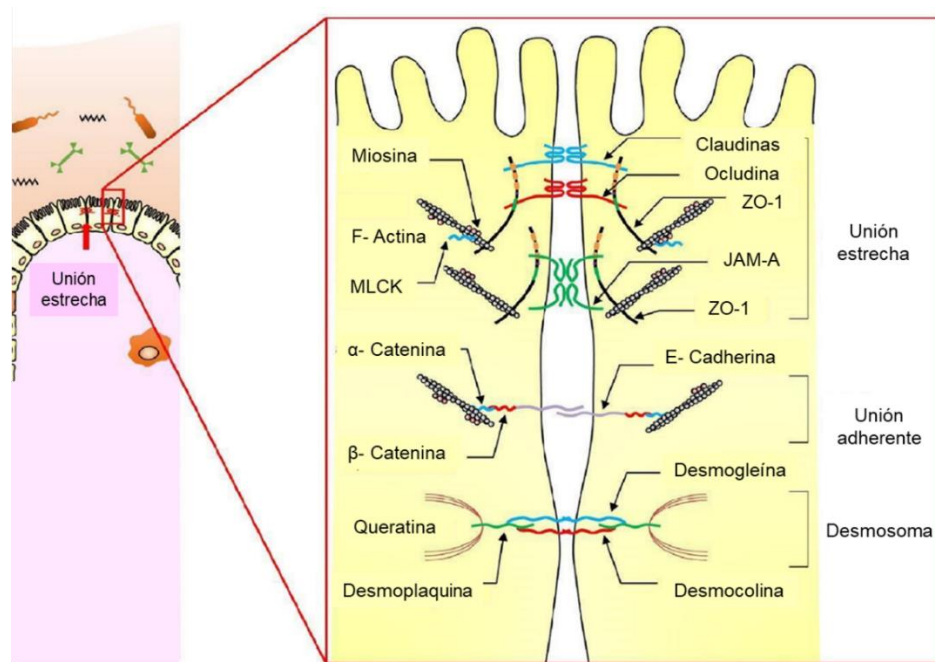


Figura 7. Estructura de las uniones estrechas (tomado de Wu *et al.*, 2023).

Las alteraciones en la función o expresión de las proteínas de unión estrecha pueden llegar a comprometer la integridad de la defensa intestinal, mediante un incremento en la permeabilidad, dejando pasar sustancias no deseadas a la circulación sistémica que pueden desencadenar inflamaciones (García *et al.*, 2017). Está demostrado que el EC debilita la función protectora contra patógenos o cuerpos extraños, ya que reduce la producción de proteínas de unión estrecha y la resistencia transepitelial dando lugar a una disfunción en la barrera intestinal, permitiendo el paso de endotoxinas al sistema sanguíneo y provocando una respuesta del sistema inmune (Ortega *et al.*, 2021).

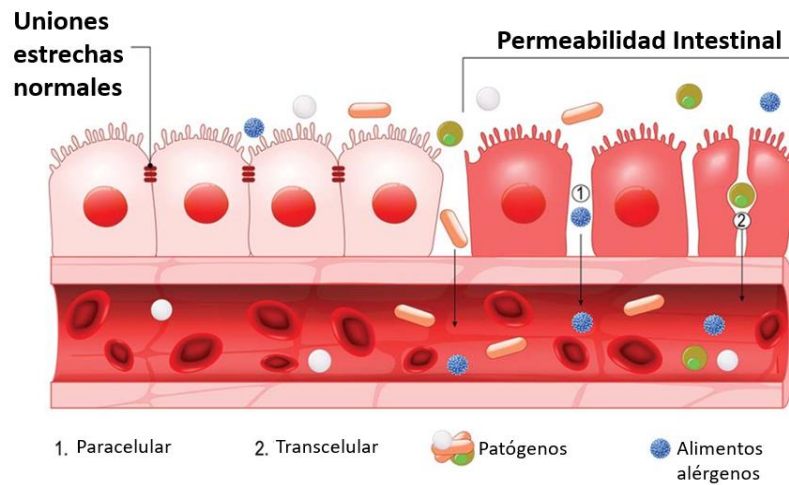


Figura 8. Alteración de las uniones estrechas (Knudsen et al., 2021).

2.4.4 Enzimas Antioxidantes

Los radicales libres son moléculas inestables y altamente reactivas que tienen electrones desapareados. Cuando estos radicales provienen del oxígeno, se les conoce como especies reactivas de oxígeno (ROS) (Halliwell, 1992; Burton *et al.*, 2011). Las principales ROS en células eucariotas son el anión superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) generados en la membrana mitocondrial interna durante el proceso de la cadena de transporte de electrones (Juan *et al.*, 2021). Las enzimas antioxidantes tienen como objetivo la reducción de la molécula de oxígeno para la producción de agua (Juan *et al.*, 2021).

La acumulación excesiva de ROS puede causar daños en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos al inducir estrés oxidativo; no obstante, también funcionan como moléculas de señalización esenciales para mantener la homeostasis redox (Hong *et al.*, 2024).

El mecanismo redox es el primero en actuar en defensa contra la acumulación de ROS en las células (Aguilar *et al.*, 2016). Regula el equilibrio entre la producción de ROS y la defensa antioxidante para mantener la salud celular, apoyado del sistema antioxidante de las células presente en el citoplasma y los orgánulos celulares dividido en 2 tipos (Kozlov *et al.*, 2024):

Antioxidantes enzimáticos (Kozlov *et al.*, 2024)

- Superóxido dismutasa
- Catalasa
- Glutación peroxidasa
- Glutación reductasa.

Antioxidantes no enzimáticos (Kozlov *et al.*, 2024)

- Glutación
- Ubiquinona
- Vitamina C
- Vitamina E
- Acido alfa-lipoico
- Tiorredoxinas

Aunque es verdad que un desequilibrio en la homeostasis redox celular puede causar daño oxidativo en las células alterando procesos fisiológicos y patológicos que involucran el sistema de defensa, también es importante considerar el estado de salud del organismo, el lugar de formación, la cantidad producida y el tipo de ROS, pues de acuerdo con estas consideraciones será el efecto que tendrán los antioxidantes (Kozlov *et al.*, 2024).

Las enzimas superóxido dismutasa (SOD) convierten el radical superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, contribuyendo a la homeostasis redox (Borgstahl *et al.*, 2018). Se forman principalmente por proteínas y cofactores metálicos (Zhao *et al.*, 2021). Se consideran necesarias para las células aeróbicas y generalmente, se encuentran en células procariotas y algunas células eucariotas distribuidas en diversos organelos (Zhao *et al.*, 2021). Existen 3 tipos de SOD, que se diferencian principalmente por su ubicación, estructura y cofactor como se muestra en el *Cuadro 5* (Borgstahl *et al.*, 2018).

Cuadro 5. Características de las SOD (Borgstahl et al., 2018).

Isoforma	Cofactor principal	Ubicación celular	Número de subunidades
Cu/ZnSOD	Cobre y Zinc	Citosol	2
MnSOD	Manganeso	Mitocondria	4
FeSOD	Hierro	Espacio extracelular	2

Se descubrió una cuarta SOD determinada como NiSOD, no obstante, su capacidad redox no es la adecuada para poder degradar el anión superóxido en agua por si sola (Uudsemaa *et al.*, 2003; Ryan *et al.*, 2010). En el caso de las Cu/ZnSOD cada subunidad cuenta con un centro activo donde Cu actúa cofactor como catalizador y Zn como estabilizador (Beem *et al.*, 1974). Por otro lado, las MnSOD en células eucariotas contienen en cada unidad un centro activo con Mn como cofactor, coordinado por 3 ligandos de histidina y uno de ácido aspártico, junto con una molécula que contiene agua. En la capa externa del centro activo se encuentran los residuos de aminoácidos His30, Tyr34, Phe77, Trp78, Trp123, Gln143, Trp161 y Glu162, que son esenciales para confirmar su actividad enzimática (Azadmanesh *et al.*, 2017). De manera similar FeSOD tiene un centro activo con Fe como cofactor en cada unidad, coordinados también por 3 residuos de histidina, uno de ácido aspártico y una molécula que contiene agua (Lah *et al.*, 1995).

La catalasa (CAT), es una enzima antioxidante encargada de degradar el peróxido de hidrógeno mediante un proceso electroquímico (Heck *et al.*, 2010). Se localiza principalmente en los peroxisomas, aunque tiene la capacidad de ser transportada al citoplasma y las mitocondrias con la finalidad de proteger otros componentes celulares de daños oxidativos (Glorieux *et al.*, 2017; Jomova *et al.*, 2024) .

Puede desempeñar dos funciones de acuerdo con el nivel de H_2O_2 presente:

1. A niveles elevados de H_2O_2 actúa descomponiéndolo en oxígeno y agua.
2. En cambio, si las concentraciones de H_2O_2 son bajas, pero hay compuestos disponibles que puedan donar hidrogeno, esta enzima actúa como peroxidasa descomponiendo los dos compuestos del H_2O_2 al mismo tiempo (Ścibior *et al.*, 2006).

Cuadro 6. Características de Catalasa (Loewen *et al.*, 2000; Chioti & Zervoudakis, 2017).

Isoforma	Origen	Cofactor / Estructura	Función principal
Monofuncional	Animales, plantas, hongos, bacterias	Grupo hemo (hemo b con Fe)	Descompone H_2O_2 en H_2O y O_2 .
Bifuncional	Bacterias y hongos	Grupo hemo; actividad peroxidasa	Catalasa-peroxidasa: descompone H_2O_2 y oxida compuestos usando donadores de hidrógeno.
Pseudocatalasa	Bacterias	Manganeso (Mn); sin grupo hemo	Descompone H_2O_2 en H_2O y O_2 mediante un mecanismo redox no hemo dependiente de manganeso.

Las catalasas monofuncionales están formadas por 4 subunidades acompañadas de un grupo hemo que contiene hierro. La catalasa humana y

la bovina contienen una molécula de NADPH por cada subunidad (Kirkman *et al.*, 1984). Aunque este cofactor no es esencial para la eliminación del H₂O₂, funciona como método de protección para que la catalasa no sea inactivada por el H₂O₂ (Kirkman *et al.*, 1984). La catalasa se produce durante la etapa de fase estacionaria de crecimiento celular donde el recambio proteico es elevado, no obstante, esto no afecta su actividad, pues su estructura estable la hace más resistente a desnaturalización por calor, a variaciones de pH y a la proteólisis, lo que le permite mantenerse funcional en condiciones adversas comparada con las demás enzimas antioxidantes (Goyal *et al.*, 2010).

Glutación peroxidasa, degrada tanto el peróxido de hidrógeno como hidroperóxidos orgánicos dando como resultado agua y alcoholes. En mamíferos se han identificado ocho isoformas de la familia GPx, estos van desde GPx1 hasta GPx8 (Pei *et al.*, 2023), identificadas de acuerdo a su ubicación, secuencia de aminoácidos y el nivel de especificidad a su sustrato (Herbette *et al.*, 2007; Bosello-Travain *et al.*, 2013). A continuación, en el *Cuadro 7* se muestran las características de la familia GPx.

Cuadro 7. Características de GPx (Margis *et al.*, 2008; Pei *et al.*, 2023).

GPx	Residuo Activo	Estructura	Localización	Función Principal
GPX1	Selenocisteína	Tetramérica	Citosol	Defensa antioxidante general con GSH.
GPX2	Selenocisteína	Tetramérica	Tracto gastrointestinal	Protección epitelial intestinal.
GPX3	Selenocisteína	Tetramérica	Plasma (extracelular)	Defensa antioxidante plasmática.

GPX4	Selenocisteína	Monomérica	Membranas celulares	Reduce hidroperóxidos lipídicos; clave en ferroptosis.
GPX5	Cisteína	Tetramérica	Epidídimo	Protege espermatozoides y ADN del estrés oxidativo.
GPX6	Sec/Cis (según especie)	Tetramérica	Epitelio olfativo	Función redox específica poco estudiada.
GPX7	Cisteína	Monomérica	Retículo endoplásmico	Plegamiento oxidativo de proteínas.
GPX8	Cisteína	Monomérica	Retículo endoplasmático	Regula Ca ²⁺ del RE y plegamiento proteico.

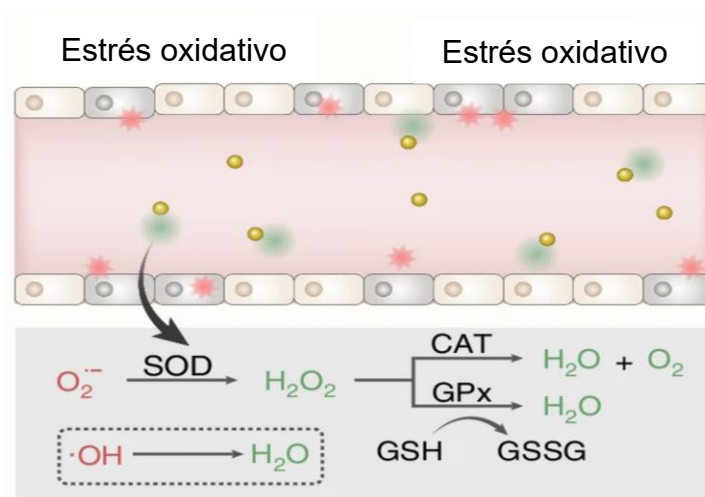


Figura 9. Mecanismo de acción de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx (editado de Liu *et al.*, 2020).

2.5 Estrategias nutricionales

El EC ha impulsado a los investigadores a desarrollar nuevas técnicas que aumenten la producción y garanticen el bienestar animal (Johnson, 2018). El uso de buenas prácticas sanitarias y de manejo son puntos clave para asegurar el éxito en la producción animal (Bejaoui *et al.*, 2023). Actualmente existen diversas estrategias contra el EC, no obstante, en muchas de ellas no se da la importancia que se debe a modificar las técnicas de manejo a las características regionales específicas, como la variabilidad del clima, la raza de los animales y la posibilidad de optimizar los beneficios mediante la combinación de diferentes medidas estratégicas (SKI, 2016). Dentro de las estrategias de mayor importancia utilizadas para mitigar el EC se encuentran las modificaciones de la genética de los animales, las medidas reproductivas, las modificaciones del entorno físico y la manipulación de la nutrición de los animales (Bejaoui *et al.*, 2023). A pesar de que estas prácticas han demostrado tener efectos eficaces contrarrestando los impactos del EC, la industria porcina necesita ampliar las estrategias comercialmente viables para su implementación (Liu *et al.*, 2022).

El uso de aditivos en dieta animal se ha convertido en una alternativa primordial para mejorar la productividad de los cerdos que padecen EC (Cottrell *et al.*, 2015). La reciente comprensión de los impactos del EC sobre la fisiología, la nutrición y el metabolismo de los cerdos ha facilitado el desarrollo de aditivos en la industria porcina. Estos aditivos están diseñados para abordar diversas problemáticas, como beneficios a la capacidad antioxidante, la susceptibilidad a la insulina, los osmolitos y la reducción de la energía necesaria para mantenimiento (Cottrell *et al.*, 2015). Los aditivos de origen vegetal, derivados de plantas, no solo funcionan como estimulantes de consumo, sino que también tienen impactos positivos sobre la fisiología de los animales, lo que favorece su salud y rendimiento (Sampath *et al.*, 2020).

2.5.1 *Capsicum spp* (chile)

El chile es un cultivo perteneciente a la familia botánica de las solanáceas producido y utilizado mundialmente debido a las propiedades medicinales y farmacológicas que se le atribuyen a sus componentes bioactivos y antioxidantes (Rajhans *et al.*, 2021). El género *Capsicum spp.* tiene su origen en América siendo uno de los cultivos más antiguos que contiene más de doscientas especies. Las características morfológicas y composición química del fruto entre especies son diferentes en cuanto a picor, sabor y forma, no obstante, son muy ricos en capsaicinoides, carotenoides, flavonoides, vitaminas y minerales (Batiha *et al.*, 2020). La capsaicina es el principal componente del chile, esta sustancia alcaloide con valor clínico tiene diversos efectos como antiinflamatorio, analgésico, termogénico y antioxidante destacando sus beneficios sobre el sistema gastrointestinal (Adaszek *et al.*, 2019; W. Zhang *et al.*, 2024). Además de la capsaicina contiene otras sustancias como la vitamina C, ácido ascórbico, betacarotenos y oleorresinas (Herath *et al.*, 2021). Al ser utilizada en polvo se intensifica su capacidad antioxidante y otros compuestos que alivian la diarrea, calambres, gases intestinales y problemas digestivos en general (Madala & Nutakki, 2020). El mecanismo de acción es estimular los jugos gástricos y a la vez actuar contra

la acidez del tracto digestivo (Madala & Nutakki, 2020). Años atrás se creía que el consumo de chile causaba irritaciones en el sistema gastrointestinal, no obstante, la capsaicina tiene un efecto antiirritante en el estómago, dando pauta a ser utilizada para el tratamiento de úlceras estomacales (Zhang *et al.*, 2024). Los beneficios en la salud gastrointestinal asociados a la capsaicina se deben, en gran parte, a la activación de su receptor vaniloide 1 (TRPV1), identificado por primera vez en neuronas del ganglio de la raíz dorsal en ratas en 1996 (Oh *et al.*, 1996). El contacto de este receptor con capsaicina impulsa la actividad y expresión del mismo, activando un canal catiónico no selectivo que aumenta el calcio en las células (Zhang *et al.*, 2024). Además, este receptor participa en la señalización celular relacionada a la sensación de calor y dolor, regula la temperatura corporal y modula el metabolismo energético al reducir la actividad de las vías de fosforilación oxidativa, lo que disminuye la cantidad de oxígeno utilizado por las mitocondrias (Zhang *et al.*, 2024). En el intestino, su activación causa la emisión de neuropéptidos que actúan en la protección y conservación de la mucosa intestinal, como el péptido asociado a la calcitonina, que promueve la microcirculación y ayuda a la regeneración del tejido mucoso (Zhang *et al.*, 2024). Por otro lado, la sustancia P controla la motricidad intestinal y contribuye a la respuesta inflamatoria local. Asimismo, se emite óxido nítrico, el cual aumenta la circulación de sangre en el revestimiento del estómago, fortaleciendo sus sistemas de protección. En conjunto, estos mediadores contribuyen a mantener la integridad y el rendimiento del sistema digestivo frente a diversos estímulos perjudiciales (Zhang *et al.*, 2024).

2.5.2 *Zingiber officinale* (jengibre)

El *Zingiber officinale*, conocido comúnmente como jengibre, es una especie utilizada en la medicina tradicional. Sus propiedades le otorgan la capacidad de ofrecer beneficios para mejorar el bienestar y el rendimiento del ganado (Siregar *et al.*, 2024). Contiene compuestos bioactivos nutracéuticos como aceites esenciales, gingerol, zingibereno, fenol, flavonoide, oleorresina,

zingiberol y shogaolina los cuales poseen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes, adaptógenas y antigástricas entre otras, por lo que puede considerarse como un antibiótico natural que no causa resistencia ni residuos en el organismo a diferencia de los antibióticos sintéticos (Siregar *et al.*, 2024).

2.5.3 *Piper nigrum* (pimienta negra)

La pimienta negra o *Piper nigrum* es una planta de importancia comercial pues sus frutos dan lugar a especias utilizadas a nivel mundial, además, se ha utilizado en la medicina por sus efectos positivos en la salud asociados a su composición química que incluye piperina, vitaminas, minerales, carotenoides y flavonoides (Saleem *et al.*, 2022). En la industria pecuaria se puede usar para reemplazar a los antibióticos como estimulante del crecimiento, ya que estimula la digestión y mejora la palatabilidad de las dietas, además favorece el equilibrio de la microbiota intestinal, la respuesta inmune, y la morfología del tracto digestivo (Ogbuewu *et al.*, 2023).

El uso de extractos herbales derivados de *Capsicum spp*, *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* en la dieta de animales ha sido estudiado por diversos investigadores donde documentan los beneficios hacia la salud animal provenientes de las propiedades que comparten estas plantas. Debido a esto, en el presente estudio se decidió analizar el impacto combinado de estos aditivos, empleando *Capsicum spp*. como componente principal sobre la salud de cerdos que experimentan estrés por calor.

III. JUSTIFICACIÓN

Uno de los efectos más notorios del EC, es la reducción de la ingesta de alimento, lo que repercute en la salud, el bienestar y rendimiento de los animales, dando lugar a pérdidas económicas en la industria porcina en zonas con temperaturas extremas. En este contexto, surge la necesidad de buscar alternativas que ayuden a mitigar sus efectos, y una opción es el uso de extractos herbales, los cuales, según estudios científicos, son beneficiosos para la salud, pues poseen algunas propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y antioxidantes que podrían contribuir a reducir los efectos negativos del EC en los cerdos (Cottrell *et al.*, 2015; Sampath *et al.*, 2020). Entre los extractos estudiados destacan aquellos derivados de plantas como el chile, la pimienta y el jengibre (Ogbuewu *et al.*, 2023; Siregar *et al.*, 2024). Estos contienen componentes bioactivos como capsaicina, piperina, gingeroles y shogaoles que les otorgan propiedades medicinales, tales como la reducción de la inflamación y la protección contra el daño celular (Saleem *et al.*, 2022; Siregar *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024). Por este motivo se decidió probar un extracto herbal formulado principalmente a base de *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* en la dieta de cerdos en crecimiento bajo condiciones de EC como alternativa para combatir los efectos adversos causados por las altas temperaturas, buscando una mejora de la salud y el rendimiento productivo de los animales.

IV. HIPÓTESIS

La inclusión de un extracto herbal formulado principalmente a base de *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* en dietas para cerdos mejora la integridad del epitelio intestinal y aumenta el desempeño de las enzimas antioxidantes en cerdos en crecimiento expuestos a estrés por calor.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de un extracto herbal formulado principalmente a base de *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* a la dieta de cerdos en crecimiento expuestos a estrés por calor sobre la integridad del epitelio intestinal y la actividad de enzimas antioxidantes.

5.2. Objetivos específicos

- Evaluar la actividad de las enzimas antioxidantes catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa en el suero sanguíneo de cerdos en crecimiento expuestos a condiciones de estrés por calor.
- Analizar la morfología de las vellosidades intestinales, considerando parámetros como la altura de vellosidades, profundidad de las criptas, y la relación altura de vellosidades y profundidad de las criptas utilizando cortes histológicos del duodeno, yeyuno e íleon.
- Analizar la expresión relativa del ARN mensajero para las proteínas de unión estrecha ocludina, claudina-2 y zónula occludens-1 en muestras de raspado de la mucosa intestinal del yeyuno e íleon.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localización

El experimento se llevó a cabo en el verano de 2022, en los meses de julio y agosto en la Unidad de Metabolismo y Fisiología Animal del Instituto de Ciencias Agrícolas, UABC, ubicado en el Valle de Mexicali, Baja California. Durante esta temporada la temperatura ambiente en el sitio oscila entre 28 y 45 °C (CONAGUA, 2024).

6.2 Selección de animales y manejo experimental

Se utilizaron 42 cerdos cruzados (Landrace x Duroc x Yorkshire) con un peso promedio de 25 ± 1 kg de la granja porcina del Instituto de Ciencias Agrícolas, UABC. Los animales fueron ubicados individualmente en corrales de 1.2×1.2 metros y asignados aleatoriamente a tres grupos de tratamiento. Antes de iniciar el experimento, los animales permanecieron en un periodo de adaptación de siete días; a continuación, el período experimental fue de ocho días, en donde los cerdos se asignaron a los tratamientos correspondientes, al finalizar se realizó el sacrificio para la toma de muestras. En todo momento los cerdos tuvieron libre acceso al agua y alimento. Todos los procedimientos se llevaron a cabo conforme a las disposiciones de la NOM-033-zoo-1995, que regula el sacrificio humanitario de animales domésticos y silvestres.

Los cerdos se distribuyeron en tres tratamientos, con diferentes condiciones ambientales y dieta.

- Tratamiento 1 (TN+T): Condiciones de termoneutralidad, donde los cerdos fueron alimentados con la dieta testigo.
- Tratamiento 2 (EC+T): Condiciones de estrés por calor, donde los cerdos fueron alimentados con la dieta testigo.

- Tratamiento 3 (EC+EH): Condiciones de estrés por calor, donde los cerdos fueron alimentados con la dieta testigo adicionada con el extracto herbal (dieta experimental).

La dieta testigo consistió en una mezcla de trigo, pasta de soya, algunos aminoácidos libres y vitaminas para cubrir los requisitos nutricionales de los cerdos según las tablas de NRC (2012). La dieta experimental fue enriquecida con un 0.2% de extracto herbal formulado principalmente base de *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* (Cuadro 8).

Las condiciones de termoneutralidad se establecieron en un ambiente controlado con un termostato a 24 °C y el grupo de los cerdos estresados por calor fueron sometidos a las condiciones ambientales naturales (28-45 °C).

Cuadro 8. Composición de las dietas experimentales.

Ingrediente, %	Testigo	+EH
Trigo	86.40	86.20
Pasta de soya, 48 %	10.00	10.00
L-Lisina HCl	0.56	0.56
L-Treonina	0.17	0.17
DL-Metionina	0.06	0.06
Extracto Herbal	-	0.20
Carbonato de calcio	1.40	1.40
Fosfato dicálcico	0.65	0.65
Sal yodada	0.35	0.35
Premezcla de vitaminas y minerales	0.40	0.40

+EH extracto herbal formulado principalmente a base de *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale*.

6.3 Determinación de la capacidad antioxidante del extracto herbal

El potencial antioxidante del extracto se confirmó mediante una prueba utilizando el radical ABTS siguiendo la metodología descrita por Shah *et al.*, (2015). Esta técnica de colorimetría se fundamenta en la formación del cromóforo ABTS azul/verde, generado por la reacción entre el ácido 2,2'-azino-bis-3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) y persulfato de potasio (K₂S₂O₈). Al asociarse antioxidantes al catión formado se reduce a ABTS de acuerdo con la concentración y la duración de la reacción, dejando como resultado una decoloración que se comparó con la reactividad de la vitamina E (succinato de polietilenglicol de D- α -tocoferol) como control positivo, un antioxidante biológico capaz de neutralizar los radicales libres (Re *et al.*, 1999;

Trigo *et al.*, 2006). Este compuesto alcanzó 92.19% de inhibición del radical ABTS. Al aplicar la prueba al extracto herbal, este obtuvo una inhibición del 51.82%, demostrando su capacidad antioxidante, aunque en menor medida comparado con la vitamina E.

6.4 Recolección de muestras

Al finalizar el experimento se sacrificaron 6 cerdos de cada tratamiento en el Taller de Carnes del Instituto de Ciencias Agrícolas, UABC, utilizando una descarga eléctrica para insensibilizarse. Después, se desangraron y evisceraron para obtener las muestras destinadas a los análisis correspondientes de cada objetivo.

Se recolectaron muestras sanguíneas durante el sacrificio, en tubos estériles vacutainer de 10 ml sin anticoagulante (previamente identificados). Los tubos se colocaron en una cama de hielo y se trasladaron al laboratorio de nutrición animal del Instituto de Ciencias Agrícolas, donde se centrifugaron a 1,500 g durante 10 min a 4 °C para separar el suero de las células sanguíneas y transferirlo a tubos de rosca estériles de 2 ml rotulados. El suero fue utilizado para realizar la determinación de actividad de las enzimas antioxidantes.

Para el análisis de la morfología intestinal se identificaron cada una de las secciones intestinales de duodeno, yeyuno e íleon, y se colectaron fragmentos de aproximadamente 5 cm de longitud de cada una. Las muestras de duodeno se tomaron 5 cm después de la llegada del conducto pancreático, las de yeyuno justo en la mitad del intestino y las de íleon 90 cm antes del final del intestino delgado.

Cada muestra fue lavada con solución salina isotónica de cloruro de sodio al 0.09% para preservar la integridad del epitelio intestinal y reducir los cambios en la estructura celular que podrían ser causados por la recolección y manipulación de los segmentos. Posteriormente se conservaron en tubos

cónicos de 50 ml con una solución buffer de formaldehído al 10% para realizar el análisis histológico.

Para los análisis de expresión de las proteínas de unión estrecha ocludina, claudina-2 y zónula occludens-1, se recolectaron 2 muestras de aproximadamente 0.5 gr de raspado de mucosa de yeyuno e íleon utilizando un portaobjetos. Las muestras se colocaron en tubos de polipropileno de 2 ml previamente identificados y se guardaron en nitrógeno líquido.

Al finalizar, todas las muestras se trasladaron al laboratorio de biología molecular para ser almacenadas hasta su análisis a -80 °C, excepto las muestras destinadas al estudio de la morfología intestinal, las cuales fueron almacenadas a temperatura ambiente.

6.5 Análisis enzimático

Los sueros fueron procesados con kits de la marca Cayman Chemical siguiendo las indicaciones del fabricante.

Para los análisis de catalasa y GPx, las muestras fueron preparadas de la siguiente manera: se diluyó el plasma en una relación 1:2 utilizando un buffer de muestra, posteriormente se retiraron los leucocitos al remover la capa superior. Los eritrocitos fueron lisados con 4 ml de agua fría grado HPLC. Después se realizó una centrifugación a 10,000 x g durante 15 min a 4 °C y se recolectó el sobrenadante para llevar a cabo el análisis.

Para SOD, se siguió un procedimiento similar al mencionado anteriormente, excepto por la dilución del plasma, que fue en una relación de 1:5.

6.5.1 Actividad de la enzima Catalasa

La evaluación de la actividad enzimática de la catalasa (CAT) (EC 1.11.1.6) se llevó a cabo mediante el empleo del kit comercial de Cayman Chemical (No. de catálogo 707002) (Cayman Chemical, 2025a). La lectura del resultado se realizó a una longitud de onda de 540 nm, conforme a las indicaciones del

fabricante. Se evaluó la capacidad enzimática de CAT a partir de su capacidad peroxidativa, mediante un método que se basa en la interacción de CAT con metanol en encuentro con H_2O_2 . La producción de formaldehído se cuantificó con colorimetría utilizando el compuesto 4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1,2,3-triazol como reactivo colorante, este reacciona con aldehídos que hacen que cambie la coloración de incoloro a violeta al ocurrir una oxidación.

Una unidad de la actividad de CAT se define como la cantidad de enzima que produce 1.0 nmol de formaldehído por min a una temperatura de 25 °C.

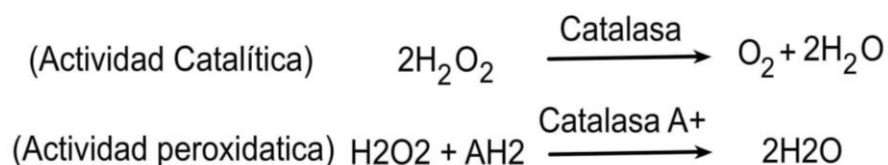


Figura 10. Actividad de la enzima CAT (Cayman Chemical, 2025a).

6.5.2 Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa

La actividad enzimática del superóxido dismutasa (SOD) (EC 1.15.1.1) se evaluó con el kit comercial de Cayman Chemical (No. de catálogo 706002) (Cayman Chemical, 2025c). La lectura del resultado se realizó a una longitud de onda de 440 nm, siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Este análisis cuantifica las 3 diferentes variedades de SOD (Cu/Zn, Mn y FeSOD) identificando los radicales superóxidos producidos por la xantina oxidasa y la hipoxantina empleando sal de tetrazolio (*Figura 3*).

La unidad de SOD se considera como la cantidad de enzima necesaria para causar el 50% de dismutación del radical superóxido.

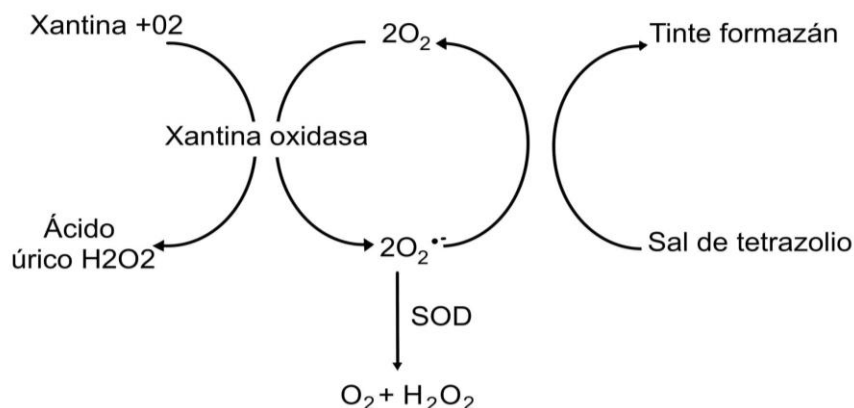


Figura 11. Esquema del ensayo de SOD (Cayman Chemical, 2025c).

6.5.3 Actividad de la enzima Glutación Peroxidasa

Se utilizó un kit comercial de Cayman Chemical (GPx) (No. de catálogo 703102) para evaluar la actividad enzimática de glutatión peroxidasa (EC 1.11.1.9) (Cayman Chemical, 2025b). La lectura del resultado se realizó a una longitud de onda de 340 nm, como lo menciona el fabricante. Para ello se realizó un cálculo indirecto donde se considera una reacción con el glutatión reductasa (GR).

El proceso implica la descomposición de hidroperóxido por parte de la GPx, generando glutatión oxidado (GSSG), que luego es reconvertido a su forma reducida por la GR y el NADPH.

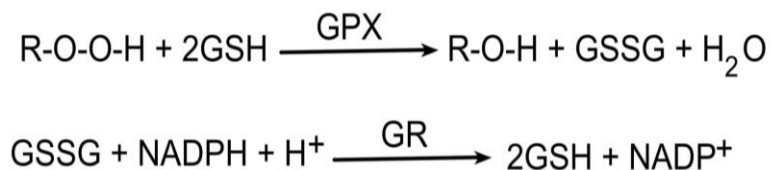


Figura 12. Esquema del ensayo de GPx (Cayman Chemical, 2025b).

El cambio de NADPH a NADP⁺ se asocia con una reducción en la absorbancia de 340 nm. Cuando la actividad de GPx es el factor limitante, la disminución en

la A340 refleja la actividad enzimática en la muestra. Una unidad GPx equivale a la cantidad de enzima que provoca la oxidación de 1.0 nmol de NADPH a NADP⁺ por un min a 25 °C.

6.6 Análisis histológico

Se evaluó la morfología intestinal siguiendo la técnica propuesta por Moeser *et al.* (2012). Se tomaron cortes longitudinales y transversales de 0.5 cm de espesor aproximadamente de cada una de las muestras de yeyuno e íleon que habían sido preservadas en una solución PBS con un 10% de formaldehído. Estos cortes fueron colocados en un casete histológico y embebidos en parafina, seccionados en cortes de 3 µm de espesor, y procesados para teñirlos con hematoxilina y eosina según el método descrito por O'Driscoll & Ryan (1978). Se fijaron dos cortes transversales y uno longitudinal en un portaobjetos y se calculó el promedio de la altura de las vellosidades, la profundidad de la cripta y la relación entre ambas de cada uno de los tratamientos.

La observación de los segmentos se realizó utilizando un microscopio óptico (Primo Star Zeiss, México). Se obtuvieron múltiples fotografías de diferentes secciones de los segmentos intestinales utilizando una cámara fotográfica adaptada de la marca VELAB (VE-LX1000, México), garantizando la visión completa de las vellosidades intestinales.

Se midió la altura de vellosidades y la profundidad de las criptas intestinales en píxeles y posteriormente se convirtió a µm, utilizando el software Image J (Arena *et al.*, 2017). Este software posibilita obtener las medidas de las estructuras histológicas a partir de las imágenes capturadas.

Para la medición de distancias en la imagen, se empleó una escala calibrada a una relación de 606 píxeles/mm. La calibración se llevó a cabo mediante una fotografía de una regla física, seguida de un ajuste de la relación de píxeles en el software de análisis de imágenes. Este procedimiento garantizó la exactitud y precisión necesarias para las mediciones realizadas en el estudio.

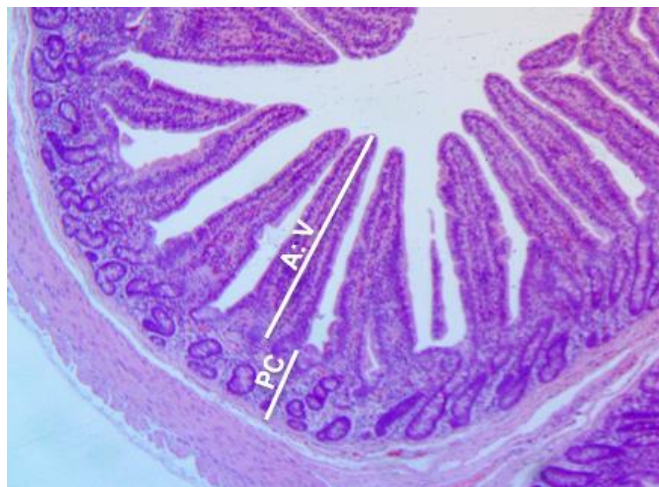


Figura 13. Sitios histológicos en el intestino delgado que fueron utilizados para llevar a cabo análisis morfométricos (AV, altura de vellosidades; PC, profundidad de cripta), según lo descrito en el estudio por de Conto *et al.* (2010).

Las mediciones morfométricas de cada corte histológico se llevaron a cabo en al menos 10 vellosidades de cada muestra por segmento. Estas mediciones incluyeron la altura de las vellosidades, la profundidad de las criptas y la relación entre ambas, siguiendo el procedimiento descrito por Marion *et al.* (2002). Para medir la altura de la vellosidad (AV), se dibuja una línea desde el punto medio de la base hasta el punto más alto. La profundidad de las criptas (PC) se calcula midiendo desde la base de la cripta hasta la base de la vellosidad más cercana. Para obtener la relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas (A:P) se necesita dividir el valor de la altura de la vellosidad entre el valor de la profundidad de la cripta.

6.7 Extracción de ARN total

Las muestras de mucosa intestinal fueron pulverizadas en un mortero con nitrógeno líquido, y posteriormente se utilizó como solución de lisis el reactivo Trizol (Invitrogen, Corp., Carlsbad, CA, EE. UU.), y el kit comercial Direct-zol RNA Microprep (Kit R2052, Zymo Research, Irvine, CA, EE. UU.).

De cada muestra se utilizaron aproximadamente 50 mg de tejido pulverizado que fueron colocados y homogeneizados en un microtubo de dos ml con 530 μ l de Trizol frío (Invitrogen). La muestra se centrifugó a 10,000 rpm durante dos min y se recuperó el sobrenadante que se transfirió a un microtubo nuevo de 2.0 ml. El sobrenadante se mezcló con 500 μ l de etanol (90-95%) y fue transferido a una columna del kit comercial (Direct-zol RNA Microprep). A partir de este paso se siguió el protocolo descrito por el fabricante. La preparación se centrifugó a 10,000 rpm durante un min, y se descartó el tubo colector. La columna se colocó en un tubo nuevo de colección y se le añadieron 400 μ l de buffer de prelavado para posteriormente centrifugarse a 10,000 rpm durante un min y se descartó el sobrenadante; y se repitió este procedimiento. Se añadieron 700 μ l de buffer de lavado a la columna para centrifugar a 10,000 rpm durante dos min. Posteriormente, se transfirió la columna a un microtubo libre de nucleasas y se añadieron 30 μ l de agua libre de nucleasas directamente a la columna. Tras centrifugar a 10,000 rpm durante un min, el ARN purificado se almacenó a -80°C. Finalmente, se verificó la integridad del ARN mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.2%, teñido con bromuro de etidio para su visualización.

6.8 Transcripción Inversa

Para cada muestra de ARN se realizó una transcripción inversa. Se tomaron de 2 a 4 μ l de ARN y se colocaron en tubos de 500 μ l. A estos se les añadió 6 μ l de buffer de transcripción inversa 5x, 0.5 μ l de enzima ADNasa I (1 U/ μ l Thermo Scientific, EE. UU.) y agua libre de nucleasas para alcanzar un volumen total de 30 μ l, todo bajo condiciones de frío. La reacción se incubó inicialmente a temperatura ambiente durante 15 min, seguido de 5 min a 70 °C en un baño seco. Luego se agregó 1 μ l de hexámeros de oligonucleótidos al azar concentrados a 5 μ M (Thermo Scientific) y 1 μ l de DNTP's a concentración de 10 μ M. Se añadieron 2 μ l de buffer de transcripción inversa 5x, 3 μ l de agua libre de nucleasas, y 1 μ l de inhibidor de ribonucleasa (40 U/ μ L; RiboLock,

Thermo Scientific). Tras homogeneizar la mezcla, se incubó a 42 °C durante 2 min. Se procedió a añadir 1 µl de transcriptasa reversa (200 U/µL; RevertAid, Thermo Scientific). La reacción se homogeneizó nuevamente y se incubó a 42 °C durante 50 min. Para finalizar, se incubó la muestra a 70 °C durante 15 min. El ADN complementario (ADNc) obtenido se almacenó a -20 °C para su uso posterior.

El ADNc se diluyó a una concentración de 50 ng/µl mediante la cuantificación mediante lecturas de espectrofotómetro a longitudes de onda de 260 y 280 nm. Los datos obtenidos se utilizaron para calcular la cantidad de ADNc que debía ser diluida en agua libre de nucleasas, con el objetivo de obtener en 100 µl de ADNc diluido a la concentración deseada 50 ng/µl.

6.9 Proteínas de unión estrecha

Se analizó la expresión del ARNm de las proteínas de unión estrecha ocludina, claudina-2, zónula occludens-1, y actina en mucosa de yeyuno e íleon mediante PCR cuantitativo utilizando oligonucleótidos específicos que se diseñaron de acuerdo con sus secuencias publicadas en el GenBank (*Cuadro 9*). Para verificar los productos amplificados por PCR y estandarizar la técnica de amplificación de cada ARNm se llevaron a cabo pruebas de PCR en punto final.

Cuadro 9. Oligonucleótidos específicos para proteínas de unión estrecha y actina.

ARNm	Oligonucleótido	Secuencia del oligonucleótido	Fragmento amplificado (pb)
CLDN2. <i>Sus scrofa</i> claudin 2, mRNA (NM_001161638.1)			
	Sentido 1	ATCTAGCGCCATCTCCTCGT	170

	Sentido 2	AGCTGGCGAACGAGTTCTTA	343
	Antisentido	TCCCATGAAGATTCCACGCA	
OCLN. <i>Sus scrofa</i> occludin, mRNA (NM_001163647.2)			
	Sentido	AGGCGTCAGGGTCTCTCTAC	347
	Antisentido	CTCCGCATAGTCCGAAAGGG	
TJP1 PREDICTED: <i>Sus scrofa</i> tight junction protein 1, (zonoccludin) transcript variant X1, mRNA (XM_021098827.1)			
	Sentido	TGGTATGGGTTTCTGAGGGGA	251
	Antisentido	AGGCTCAGAGGACCGTGTA	
Beta actin. <i>Sus scrofa</i> cytoskeletal, mRNA, partial cds (AY550069.1)			
	Sentido	ACAGCAGTCGGTTGGATGG	311
	Antisentido	TGCCCACTCAAATAAACCAA C	

Secuencias de oligonucleótidos específicos obtenidos de la base de datos GenBank.

Los análisis de PCR cuantitativo para cada una de las proteínas ocludina, claudina-2, y zónula occludens-1 se llevaron a cabo utilizando reacciones con un volumen final de 25 µl. Cada reacción contenía 1.5 µl de ADNc (50 ng/µl), 3 µl (3 µM) de una mezcla de oligonucleótidos específicos, 12.5 µl de SYBR Green/ROX qPCR (2x; Thermo Scientific), y el volumen restante se completó con agua libre de nucleasas.

Se utilizó un termociclador CFX96 Touch, versión 3.0 (Bio-Rad, Herefordshire, England) para llevar a cabo las reacciones. Se utilizaron platos de 78 pocillos, donde en la primera columna se colocaron los controles negativos los cuales fueron preparados de la siguiente manera en un volumen total de 25 µl:

- Pocillos 1 y 2: Reacción sin ADN, con una mezcla de agua libre de nucleasas, oligonucleótidos y SYBR Green mix.
- Pocillos 3 y 4: Reacción sin oligonucleótidos, con una mezcla de agua libre de nucleasas, ADN y SYBR Green mix.
- Pocillos 5 y 6: Reacción sin SYBR Green mix, con una mezcla de agua libre de nucleasas, ADN y oligonucleótidos.

En los 72 pocillos restantes se colocaron las 18 muestras (6 muestras de cada tratamiento) que fueron analizadas por duplicado utilizando como gen de referencia actina. En el *Cuadro 10* se muestran las condiciones de amplificación de las muestras para los análisis de PCR cuantitativo.

***Cuadro 10.* Condiciones de amplificación para análisis de las muestras mediante PCR cuantitativo.**

Ciclos	Etapas	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
	Desnaturalización inicial	10:00	95
45 ciclos	Desnaturalización	0:15	95
	Alineación	0:15	58
	Elongación	0:45	72
	Curva de desnaturalización	0:31	65-95
	Incubación	10:00	10

Al finalizar cada ciclo, se determinó la cantidad de ADN amplificada de cada muestra y se midió la fluorescencia cada 0.5 °C durante la curva de desnaturalización, tanto para los productos de actina, como de cada una de las proteínas de interés. Los resultados se calcularon mediante ΔC_t , la técnica

más utilizada para el análisis de cuantificación relativa en qPCR, donde se ajustaron los cambios en la expresión del gen de cada una de las proteínas de unión estrecha con la expresión en el gen de actina (Livak & Schmittgen, 2001).

6.10 Análisis estadístico

El experimento se llevó a cabo bajo un diseño de bloques completos al azar, donde se consideró el peso y sexo de los animales para asignarlos aleatoriamente a los tratamientos. Cada tratamiento tuvo un total de 6 repeticiones. Para el análisis estadístico, se crearon tres contrastes no ortogonales donde se evaluó el efecto de EC+T vs TN+T, EC+T vs EC+EH, y EC+EH vs TN+T. Todos los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico Statistix.

VII. RESULTADOS

7.1 Actividad de enzimas antioxidantes

7.1.1 Actividad de Catalasa

La *Figura 14*, muestra los resultados de la actividad de la enzima catalasa en los sueros sanguíneos analizados. Los promedios fueron 137.13, 114.52 y 152.05 nmol/min/ml para los tratamientos TN+T, EC+T y EC+EH respectivamente. No se observaron diferencias significativas en la actividad enzimática de la catalasa, entre los cerdos sometidos a estrés por calor y alimentados con la dieta testigo en comparación con los cerdos en condiciones de termoneutralidad. El extracto herbal en la dieta de los cerdos expuestos a estrés por calor, incrementó la actividad de catalasa hasta 152.05 nmol/min/ml ($p=0.041$).

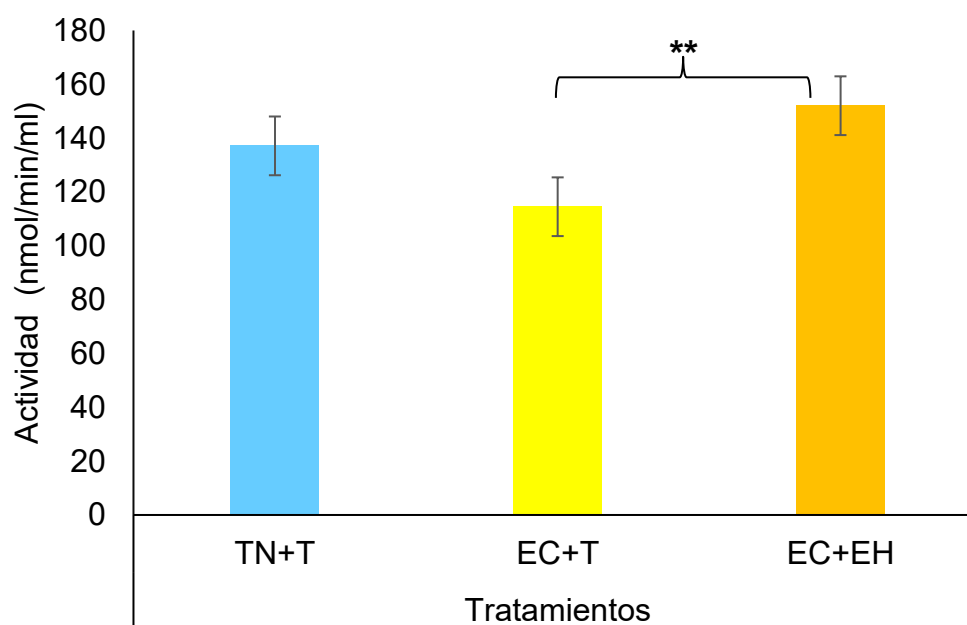


Figura 14. Actividad de Catalasa en suero de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).

**EC+T vs EC+EH: $p=0.041$.

7.1.2 Actividad de Superóxido Dismutasa

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) fue de 1.91, 2.51 y 2.48 U/ml en los tratamientos de EC+T, TN+T y EC+EH, respectivamente. La actividad de SOD disminuyó un 24% en los cerdos sometidos a EC alimentados con la dieta testigo en comparación con los cerdos en condiciones de termoneutralidad ($p=0.013$; *Figura 15*). No obstante, adicionar el extracto herbal a la dieta de los cerdos expuestos a EC, incrementó la actividad de la enzima, indicando una recuperación significativa en la actividad de SOD ($p=0.018$).

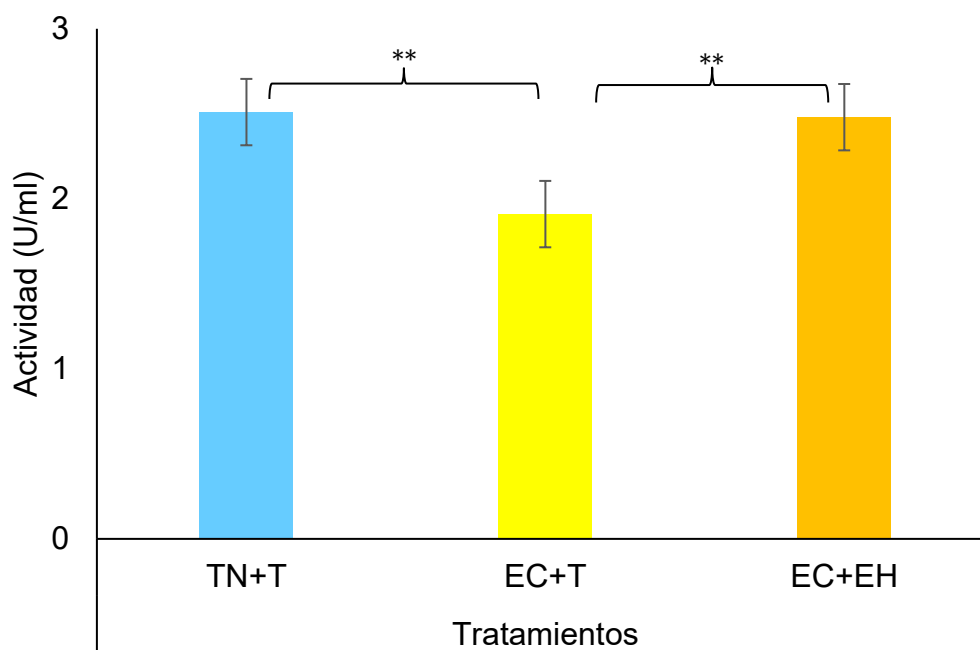


Figura 15. Actividad de la enzima SOD en suero de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).
**TN+T vs EC+T: $p=0.013$; **EC+T vs EC+EH: $p=0.018$.

7.1.3 Actividad de Glutación Peroxidasa

La actividad en suero de la enzima glutación peroxidasa (GPx) fue en promedio de 911, 1015 y 1023 nmol/min/ml en los cerdos sujetos a los tratamientos TN+T, EC+T y EC+EC respectivamente. No se encontró diferencia en la actividad de esta enzima entre los distintos tratamientos. Sin embargo, se pudo observar una tendencia a aumentar la actividad de GPx, en los cerdos sometidos a estrés por calor y alimentados con la dieta testigo enriquecida con extracto herbal en comparación con los cerdos en condiciones de termoneutralidad ($p=0.086$; *Figura 16*).

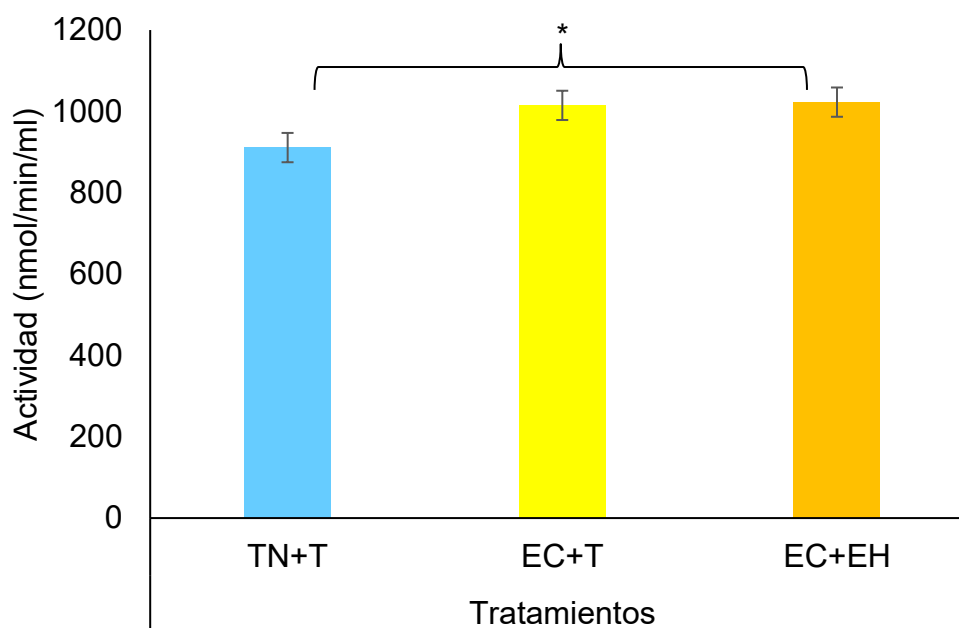


Figura 16. Actividad de la enzima GPx en suero de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH).
*TN+T vs EC+EH: $p=0.086$.

En el *Cuadro 11* se resumen los resultados de la actividad enzimática de CAT, SOD y GPx en suero de cerdos en condiciones de termoneutralidad alimentados con una dieta testigo y en condiciones de estrés por calor, adicionados o no con el extracto herbal.

Cuadro 11. Actividad de enzimas antioxidantes en suero de cerdos en los diferentes tratamientos.

Enzima	Unidad de medida	Tratamientos			Contrastes, valor de <i>p</i>		
					TN+T vs	EC+T vs	TN+T vs
		TN+T	EC+T	EC+EH	EC+T	EC+EH	EC+EH
CAT	nmol/min/ml	137.13	114.52	152.05	0.2186	<0.0418	0.4319
SOD	U/ml	2.51	1.91	2.48	<0.0130	<0.0179	0.8857
GPx	nmol/min/ml	911	1014.8	1022.8	0.1289	0.9044	0.0864

TN+T, Termoneutral con dieta testigo; EC+T, Estrés por calor con dieta testigo; EC+EH, Estrés por calor con dieta testigo adicionada con extracto herbal.

7.2. Histología intestinal de los cerdos

La altura de las vellosidades en el duodeno de los cerdos sujetos a los tres tratamientos analizados en este trabajo, no fue diferente. Sin embargo, en yeyuno, se observó una reducción en la altura de vellosidades intestinales de los cerdos sometidos a estrés por calor que fueron alimentados con la dieta testigo, con un promedio de 570 μm , en comparación con los cerdos en condiciones de termoneutralidad ($p=0.001$), cuya altura promedio fue de 664 μm . La adición del extracto herbal a la dieta de los cerdos expuestos al estrés por calor, permitió una recuperación en la altura de las vellosidades, con un promedio de 662 μm ($p=0.001$; *Figura 17*).

La altura de las vellosidades en íleon de los cerdos expuestos a estrés por calor, ya sea con o sin la adición del extracto herbal en la dieta fue en promedio de 496 μm y 502 μm respectivamente, reduciendo hasta un 10.5% en comparación con los cerdos en condiciones de termoneutralidad cuya altura promedio fue de 554 μm ($p<0.005$). A pesar de ello, la altura de las vellosidades en los diferentes tratamientos en condiciones de calor no fue diferente (*Figura 17*).

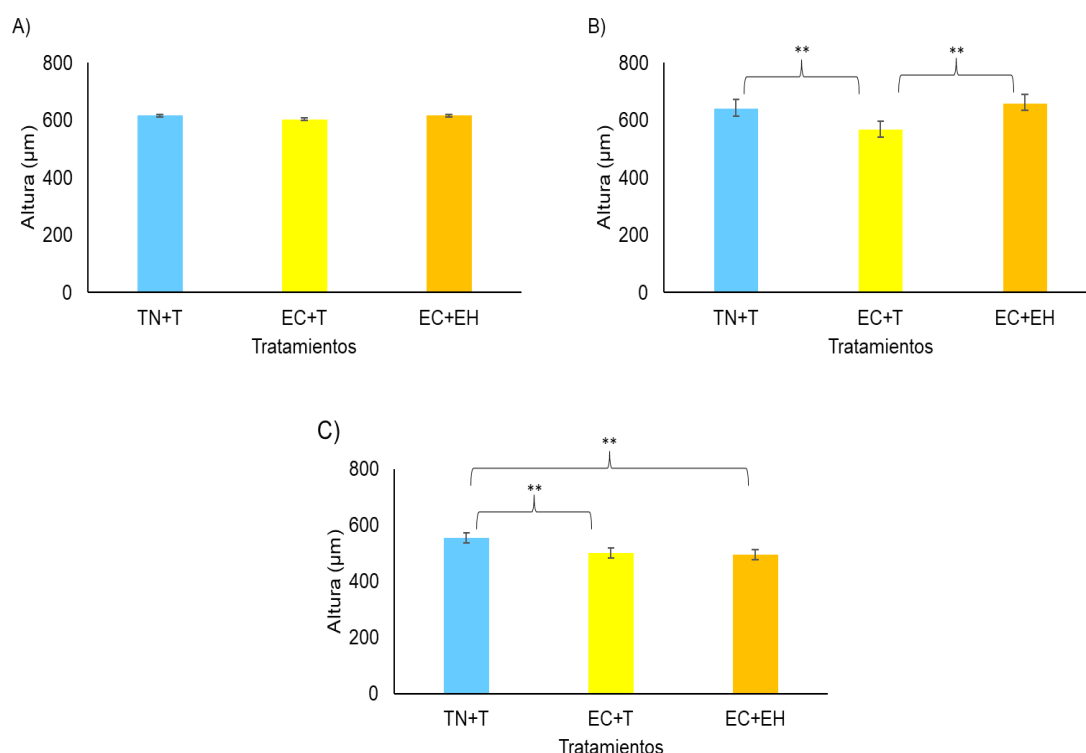


Figura 17. Altura de vellosidades intestinales en cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH). A) Duodeno, B) Yeyuno, C) Íleon. ** $p<0.05$.

La profundidad de las criptas en el duodeno fue de 304 y 309 μm para los tratamientos EC+T y EC+EH respectivamente, demostrando una notable reducción en comparación con el tratamiento TN+T ($p=0.001$) cuya

profundidad promedio fue de 362 μm . No se observaron diferencias significativas en la profundidad de la cripta entre los tratamientos que se encontraban bajo estrés por calor ($p>0.05$; *Figura 18*).

En el yeyuno la profundidad de la cripta redujo en ambos tratamientos donde los cerdos se encontraban bajo condiciones de estrés por calor comparados con la profundidad de cripta de los cerdos que se encontraban en termoneutralidad ($p=0.001$); el tratamiento TN+T presento una profundidad de cripta de 319 μm , mientras que EC+T y EC+EH promediaron profundidades de 275 μm y 274 μm respectivamente, no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos bajo estrés por calor ($p>0.05$).

La profundidad de la cripta en el íleon de los cerdos en estrés por calor ya sea con o sin la adición del extracto herbal en la dieta, fue en promedio de 239 μm y 224 μm respectivamente, observándose una reducción de la profundidad de las criptas de los cerdos EC+T y EC+EH comparados con los cerdos bajo el tratamiento de termoneutralidad ($p=0.001$) cuya profundidad de cripta promedio fue de 278 μm . A pesar de esto la profundidad de la cripta en los cerdos de los tratamientos de estrés por calor no fue diferente ($p>0.05$).

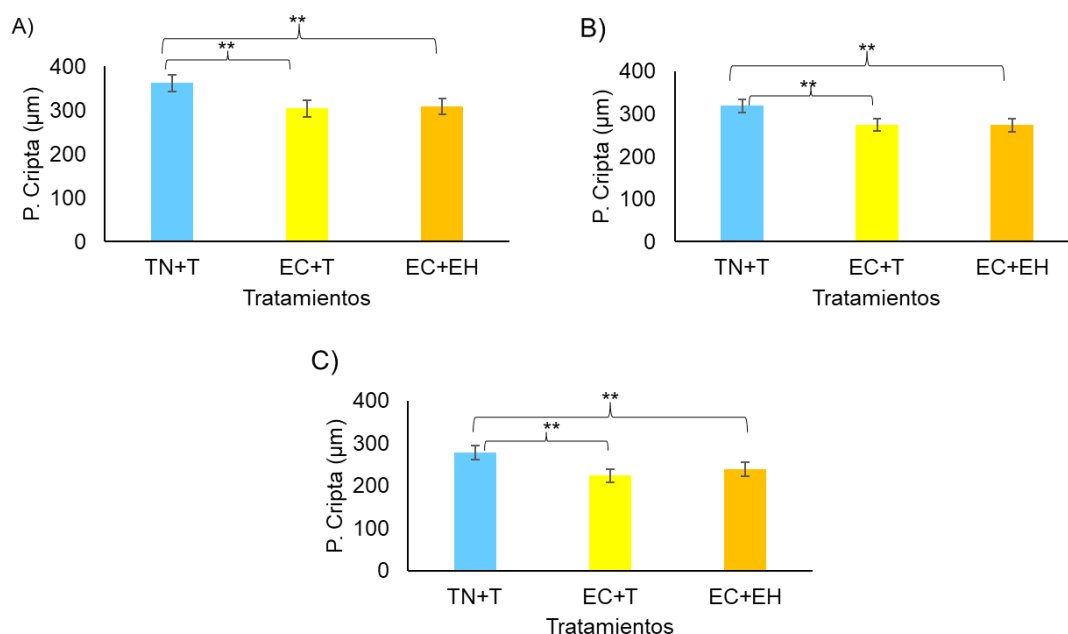


Figura 18. Profundidad de la cripta intestinal de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T); estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T); o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH). A) Duodeno, B) Yeyuno, C) Íleon. $**p < 0.05$.

En el duodeno la relación altura de vellosidades y la profundidad de las criptas registro promedios de 1.73, 2.07 y 2.06, en los cerdos bajo los tratamientos TN+T, EC+T y EC+EH respectivamente. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos donde los cerdos se encontraban bajo condiciones de estrés por calor ya sea con o sin la adición del extracto herbal ($p > 0.05$). Sin embargo, en comparación con los cerdos en termoneutralidad, la relación altura de vellosidad y profundidad de las criptas se incrementó en los cerdos que se encontraban en estrés por calor ($p = 0.001$; *Figura 19*).

En el segmento de yeyuno los promedios en la relación altura de vellosidades y profundidad de las criptas fue de 2.09, 2.13 y 2.49 en los cerdos sujetos a los tratamientos TN+T, EC+T y EC+EH. Se observó un aumento en la relación de altura de vellosidad y profundidad de cripta, en los cerdos expuestos al

estrés por calor alimentados con la dieta adicionada con el extracto herbal en comparación con los cerdos de los otros dos tratamientos ($p=0.001$).

En el íleon, se registraron promedios de 2.04, 2.31 y 2.19 en la relación altura de vellosidad y profundidad de las criptas para los tratamientos TN+T, EC+T y EC+EH respectivamente. En este segmento no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos donde los cerdos se encontraban bajo condiciones de estrés por calor ya fuera con o sin la adición del extracto herbal. Sin embargo, al ser comparados con los cerdos en termoneutralidad, se observó un aumento en la relación altura de vellosidad y profundidad de la cripta en ambos tratamientos donde los cerdos se encontraban en condiciones de estrés por calor ($p=0.03$; $p=0.001$).

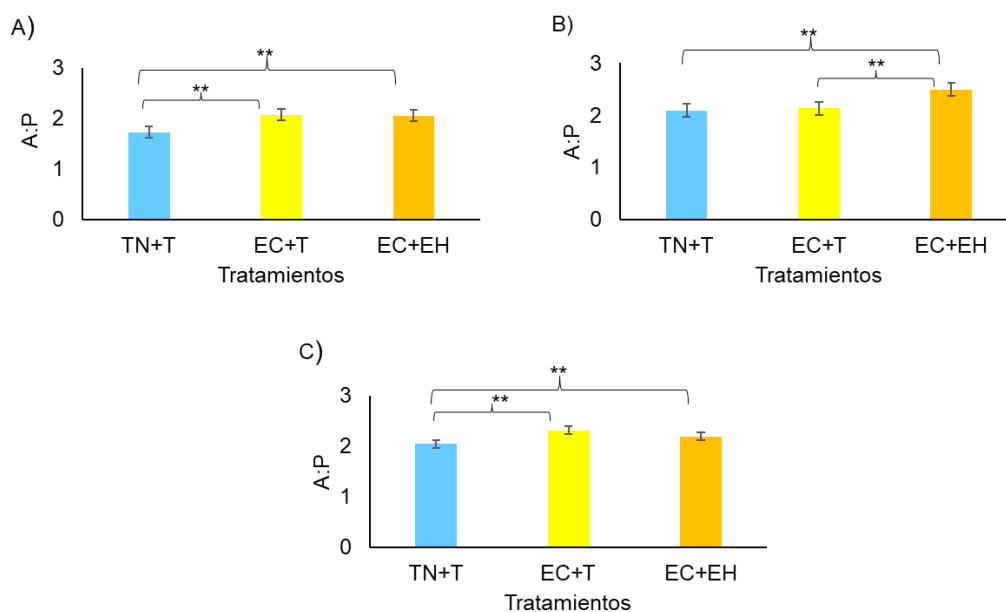


Figura 19. Relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de la cripta intestinal (A:P) de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T); estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T); o con la dieta enriquecida con extracto herbal (EC+EH). A) Duodeno, B) Yeyuno, C) Íleon. ** $p<0.05$.

Los resultados de morfología intestinal de duodeno, yeyuno e íleon mostrados anteriormente se resumen en el *Cuadro 12*.

Cuadro 12. Morfología intestinal (duodeno, yeyuno, e íleon) de cerdos en termoneutralidad alimentados con una dieta testigo (TN+T), cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o adicionada con extracto herbal (EC+EH).

	Tratamiento			Contrastes, valor de <i>p</i>		
	TN+T	EC+T	EC+EH	TN+T	EC+T	TN+T
				vs.	vs.	vs.
	TN+T	EC+T	EC+EH	EC+T	EC+EH	EC+EH
Duodeno						
Altura vellosidad	617	604	617	0.452	0.424	0.967
Profundidad de cripta	362	304	309	< 0.001	0.717	<0.001
Altura: Profundidad	1.73	2.07	2.06	<0.001	0.922	<0.001
Yeyuno						
Altura vellosidad	644	570	662	<0.001	<0.001	0.324
Profundidad de cripta	319	275	274	<0.001	0.975	<0.001
Altura: Profundidad	2.09	2.13	2.49	0.618	<0.001	<0.001
Íleon						
Altura vellosidad	554	502	496	<0.005	0.703	<0.003
Profundidad de cripta	278	224	239	<0.001	0.124	<0.001
Altura: Profundidad	2.04	2.31	2.19	<0.001	0.200	<0.030

7.3. Análisis de expresión relativa

Los resultados de la expresión relativa de las proteínas de unión estrecha se presentan en las *Figuras 20 y 21*; y en el *Cuadro 6*.

La expresión relativa del ARNm de la proteína ocludina en yeyuno de los cerdos que se encontraban en condiciones de estrés por calor, se redujo al 14 % en relación a la observada en los cerdos que se encontraban en termoneutralidad alimentados con la misma dieta ($p=0.02$). El extracto herbal adicionado a la dieta, permitió una recuperación del 15% en la expresión de esta proteína en cerdos bajo estrés por calor ($p=0.01$).

La expresión relativa de claudina-2 en yeyuno se incrementó alrededor de un 46 % en los cerdos que recibieron el extracto herbal criados en condiciones de estrés por calor, en comparación con los cerdos que se mantuvieron en condiciones termoneutrales ($p=0.02$). Los cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta testigo mostraron una tendencia a reducir al 87 % la expresión de claudina-2 en yeyuno en comparación con los cerdos en condiciones termoneutrales ($p=0.08$).

La expresión relativa de zónula occludens-1 en la mucosa de yeyuno de los cerdos no se vio afectada por la temperatura ambiental; a pesar de ello, se observó una tendencia a aumentar 11 % la expresión de zónula occludens-1 con la adición del extracto herbal a la dieta de los cerdos en estrés por calor en comparación con los cerdos en termoneutralidad ($p = 0.09$).

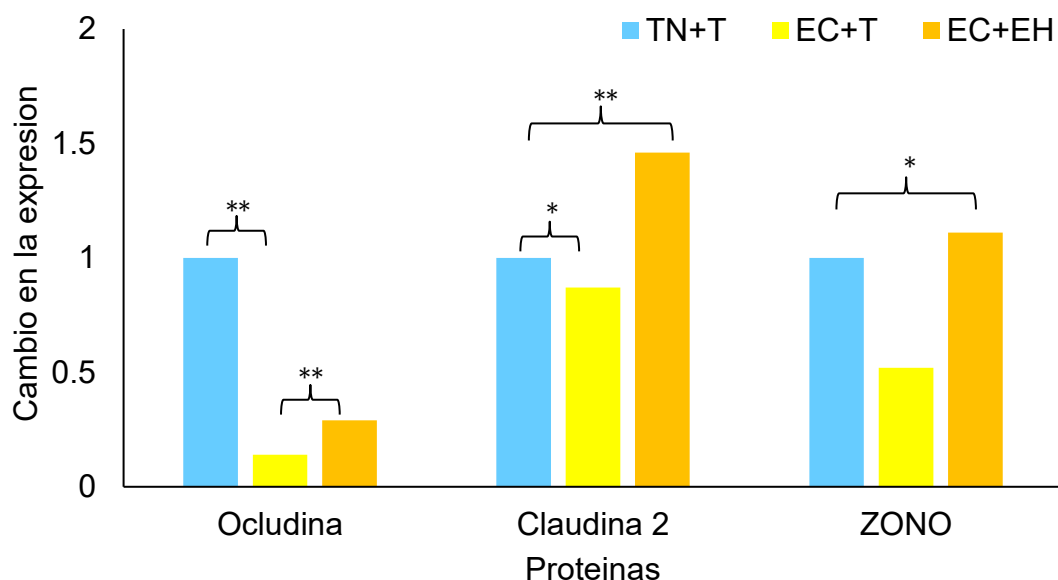


Figura 20. Expresión de las proteínas de unión estrecha en yeyuno de cerdos en condiciones de termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH). ** $p < 0.05$, y tendencia cuando * $p < 0.10$.

La expresión relativa del ARNm de la proteína ocludina en el íleon de los cerdos que se encontraban en condiciones de estrés por calor disminuyó al 67% en relación a la expresión observada en los cerdos que se encontraban en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo ($p=0.0$; *Figura 21*). Además, la expresión de esta proteína también disminuyó 51% en los cerdos adicionados del extracto herbal, en comparación con los que se encontraban en estrés por calor, pero alimentados con la dieta testigo ($p=0.03$). De la misma manera, la expresión de ocludina en los cerdos que se encontraban en estrés por calor alimentados con la dieta testigo fue 33% menor que en los cerdos que se encontraban en termoneutralidad alimentados con la dieta testigo ($p=0.0$).

La expresión relativa de ARNm de claudina-2 en el íleon de los cerdos no se vio afectada por la temperatura ambiental, ni por la adición del extracto herbal ($p>0.05$).

En cuanto a la expresión de zónula occludens-1, se registró una tendencia atribuible a la temperatura ambiental, con un aumento del 85% en su expresión en la mucosa del íleon de los cerdos bajo el tratamiento de estrés por calor alimentados con la dieta testigo en comparación con los cerdos en termoneutralidad ($p=0.07$).

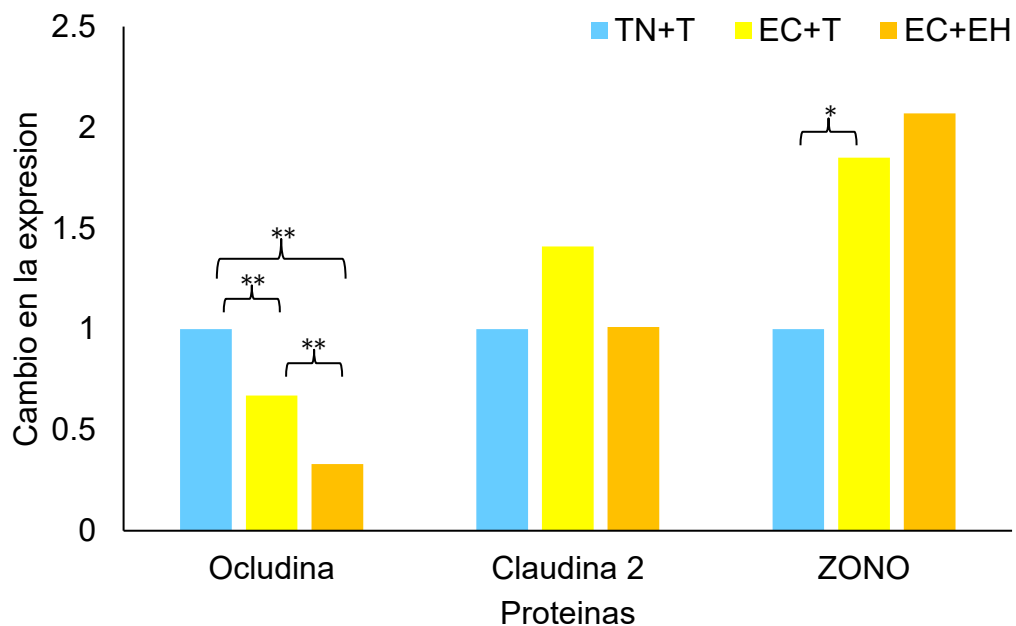


Figura 21. Expresión de las proteínas de unión estrecha en íleon de cerdos en condiciones de termoneutralidad alimentados con la dieta testigo (TN+T), estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o con la dieta enriquecida con el extracto herbal (EC+EH). ** $p<0.05$, y * $p<0.10$.

Cuadro 13. Análisis de las proteínas de unión estrecha en segmentos intestinales (yeyuno, e íleon) de cerdos en termoneutralidad alimentados con una dieta testigo (TN+T), cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC+T), o adicionada con extracto herbal (EC+EH).

	Tratamiento			Contrastes, valor de <i>p</i>		
	TN+T	EC+T	EC+EH	TN+T vs EC+T	EC+T vs EC+EH	TN+T vs EC+EH
Yeyuno						
Ocludina	1	0.14	0.29	<0.02	<0.01	0.16
Claudina-2	1	0.87	1.46	0.08	0.52	<0.02
Zónula occludens -1	1	0.52	1.11	0.80	0.14	0.09
Íleon						
Ocludina	1	0.67	0.33	0.00	<0.03	0.00
Claudina-2	1	1.41	1.01	0.97	0.18	0.19
Zónula occludens -1	1	1.85	2.07	0.07	0.12	0.78

VIII. DISCUSIÓN

El creciente aumento de la población exige mayor producción de carne para el abastecimiento de alimento, lo que sitúa a la industria ganadera en una situación problemática (Rojas-Downing *et al.*, 2017; Escarcha *et al.*, 2018; Godde *et al.*, 2021). Además, debido al calentamiento global, México es uno de los países más vulnerables al aumento de la temperatura ambiental (Rodríguez *et al.*, 2021). Como resultado los animales en producción experimentan EC (Sejian *et al.*, 2018) con lo que modifican sus conductas y fisiología en un intento por regular la temperatura corporal (Huynh *et al.*, 2005). Estos ajustes, pueden dar lugar a efectos perjudiciales para la salud, el rendimiento y crecimiento de los animales (Mayorga *et al.*, 2019, 2020).

Los cerdos que experimentan EC al ser sometidos a altas temperaturas presentan mayor producción de calor metabólico, además son capaces de acumular tejido adiposo en exceso y carecen de glándulas sudoríparas funcionales que les ayuden a facilitar la pérdida de calor corporal, lo que compromete su eficiencia termorreguladora (Renaudeau *et al.*, 2006; Baumgard *et al.*, 2013). El EC altera el equilibrio redox celular al acumular ROS, entre ellos anión superóxido (O_2^-), ion hidroxilo ($\cdot OH$) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2), lo que causa estrés oxidativo (Juan *et al.*, 2021). Esta condición compromete la función celular y la integridad de tejidos, dañando lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Hong *et al.*, 2024). Como mecanismo de defensa el organismo activa antioxidantes endógenos, principalmente enzimas antioxidantes que ayudan a neutralizar los radicales libres y reducir el daño causado por el estrés oxidativo (Montesinos-Cruz *et al.*, 2023). En este estudio se pudo observar que la adición del extracto herbal en la dieta de los cerdos en condiciones de estrés por calor provocó un aumento de la actividad de la enzima SOD. Sin embargo, la actividad de SOD disminuyó en los cerdos en estrés por calor sin adición del extracto. Por lo que se sugiere que el extracto herbal favoreció la actividad de esta enzima antioxidante. La SOD es la primer

enzima antioxidante en actuar ante el estrés oxidativo, convierte el radical superóxido en oxígeno y agua (Borgstahl *et al.*, 2018). La síntesis de las enzimas antioxidantes no ocurre de manera uniforme, el tipo de enzima sintetizada será acorde al grado de estrés oxidativo que se presente y al tipo de ROS producidos (Kozlov *et al.*, 2024). Estudios anteriores han confirmado que el uso de capsaicina en la dieta de animales como ratones tiene un efecto sobre la activación de Nrf2 (Li *et al.*, 2023). Nrf2 es un factor que se encuentra en el citosol inhibido por KEAP1 el cual esta enlazado con el mediante interacciones específicas en los dominios BTB, IVR y DGR de KEAP1 y el dominio Neh2 de Nrf2. KEAP1 actúa como adaptador para unir Nrf2 a la proteína CUL3 necesaria para la ubiquitinación y su degradación en el proteosoma. Cuando la célula se encuentra en estrés oxidativo KEAP1 sufre un cambio estructural en el dominio IVR mediante la oxidación de residuos de cisteína, lo que provoca que KEAP1 ya no pueda inhibir a Nrf2 liberándolo y causando su acumulación que posteriormente será trasladado al núcleo celular. Una vez en el núcleo Nrf2 se une a regiones denominadas elementos de respuesta antioxidante o ARE, los cuales activan la transcripción de enzimas antioxidantes (Kobayashi *et al.*, 2004; Suzuki *et al.*, 2013; Yamamoto *et al.*, 2018). Esto sugiere que el uso del extracto herbal basado en capsaicina pudo inducir la activación de Nrf2 lo que favoreció a la síntesis de SOD, dando lugar a una mejora en la capacidad de sistema antioxidante del organismo (Li *et al.*, 2023). Asimismo, la actividad de la enzima CAT solo aumento en el caso de los cerdos que se encontraban en condiciones de estrés por calor adicionados del extracto herbal. Se ha demostrado que el EC causa estrés oxidativo y disminuye la actividad de enzimas antioxidantes como SOD y CAT en el suero de cerdos en etapa de crecimiento (Lee *et al.*, 2025). Sin embargo, en estudios anteriores como los realizados por Ouyang *et al.* (2022), el EC agudo aumento la actividad de enzimas antioxidantes como GPx, SOD y CAT, y la T-AOC, mencionando que el EC puede aumentar la actividad de enzimas antioxidantes contra el daño oxidativo en pollos de engorda. De acuerdo con

Cervantes *et al.* (2024) el aumento en la actividad de la enzima CAT podría considerarse como una mejora en el sistema antioxidante por parte de los fitoquímicos que contiene el *Capsicum* spp., pues sus componentes como los capsaicinoides tienen la capacidad de activar respuestas antioxidantes mediante Nrf2 y la mejora en la producción de enzimas antioxidantes mitocondriales (Sahin *et al.*, 2017).

Cuando los cerdos experimentan estrés por calor redistribuyen el flujo sanguíneo hacia la periferia en un intento por reducir su temperatura corporal (Ogoh *et al.*, 2013), esto provoca que en órganos internos como el intestino disminuya la presencia de oxígeno y nutrientes lo cual repercute de manera negativa en la integridad intestinal y aumenta la apoptosis celular mediante la activación de la vía apoptótica lisosomal-mitocondrial (Pearce, *et al.*, 2013b; Yi *et al.*, 2017).

En duodeno se presentó una disminución en la profundidad de las criptas y un aumento en la relación A:P de los cerdos que se encontraban en el tratamiento de EC+EH. El estrés oxidativo causado por el EC induce inflamaciones y apoptosis celular (Hussain *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2024; Omotosho *et al.*, 2024). En ocasiones la disminución en la profundidad de las criptas se asocia con ausencia de capacidad para generar células que se requieren para suplir las células afectadas por el EC (Saeid., 2013; Ma *et al.*, 2024). No obstante, esta disminución de la profundidad de la cripta se acompañó de un aumento en la relación A:P en cerdos que fueron adicionados con el extracto herbal. Este efecto generalmente se relaciona con aumento de la superficie de absorción, ya que da lugar a vellosidades intestinales más largas y criptas menos profundas, y sugiere una menor necesidad de regeneración celular debido a una mucosa menos dañada (da Silva *et al.*, 2009; Prakatur *et al.*, 2019). Sin embargo, en este estudio esta respuesta podría estar relacionada con mecanismos de adaptación al EC, ya que no se encontraron diferencias entre los tratamientos EC con o sin la adición del extracto, pese a esto, se logró

contrarrestar la apoptosis celular mediante el mantenimiento de la altura de vellosidades. Nuestros datos concuerdan con los de Lin *et al.* (2020) quienes reportaron que la adición de un extracto a base de hierbas chinas en la dieta de cerdos adultos tendió a disminuir la profundidad de las criptas e incrementar la relación A:V en duodeno de cerdos adultos. Esta respuesta morfológica se asoció a una mejora en la capacidad digestiva y en la eficiencia para absorber nutrientes. Se sugiere que esta respuesta guarda relación con una acción protectora por parte del extracto herbal, ya que como hemos mencionado la capsaicina tiene gran capacidad antioxidante (Joung *et al.*, 2007), lo cual podría evitar la apoptosis celular inducida por el estrés oxidativo. Además, esta propiedad podría verse potenciada por otros componentes del extracto herbal como *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* que también presentan actividades antioxidantes y antiinflamatorias (Lee *et al.*, 2020; Alolga *et al.*, 2022), y evitar los daños causados por el EC en la integridad del epitelio intestinal en duodeno.

En yeyuno se observó un aumento en la altura de las vellosidades y en la relación A:P en el grupo de los cerdos que se encontraban bajo estrés por calor adicionados del extracto herbal comparados con los cerdos que se encontraban bajo estrés por calor alimentados con la dieta testigo. Esto podría deberse a que yeyuno es el segmento en donde se realiza la mayor absorción de nutrientes en el intestino delgado (Chiba, 2023; Zhang *et al.*, 2025), sugiriendo que probablemente consiguió aprovechar mejor los componentes bioactivos del extracto herbal aumentando la proliferación y diferenciación celular, y protegiendo la integridad intestinal, lo que resultó en una mayor altura de vellosidades. Namted *et al.* (2024) reportaron un aumento en la relación A:P en el yeyuno de cerdos en crecimiento suplementados con una inclusión del 0.02% de capsaicina en la dieta. Se consideró que este aumento contribuyó a mejorar en el funcionamiento intestinal, y refuerza nuestro resultado sobre el efecto benéfico sobre la morfología intestinal.

En el mismo segmento, disminuyó la profundidad de las criptas y aumento la relación A:P de los cerdos EC alimentados con la dieta adicionada con el extracto herbal comparados con los cerdos que se encontraban en termoneutralidad alimentados con dieta testigo. Posiblemente el uso del extracto herbal mejoró la función y morfología intestinal, lo que redujo la actividad y división de células en las criptas (Hamedi *et al.*, 2011). Los resultados del presente trabajo coinciden con lo observado en otro experimento realizado en ratones alimentados con dietas adicionadas con 0.4 mg de capsaicina bajo condiciones de estrés por calor, en los cuales se redujo la profundidad de las criptas, mientras aumentaba la altura de vellosidades y la relación A:P en el yeyuno (Li *et al.*, 2023). Esto sugiere que probablemente el extracto tuvo una función protectora ante el EC, y logró aumentar la superficie de absorción, sorprendentemente los cerdos que fueron suplementados con el extracto herbal bajo EC demostraron una integridad intestinal más favorable que aquellos que se encontraban en termoneutralidad sin la adición del extracto, indicando una posible respuesta moduladora del extracto sobre la integridad intestinal.

Al analizar los resultados de los segmentos anteriores, confirmamos que el íleon es una de los segmentos más dañados debido al EC (Ortega *et al.*, 2021). En este estudio el EC aumento la relación A:P y redujo la profundidad de la cripta, lo cual podría interpretarse como un efecto de adaptación, al reflejar una proliferación y recambio celular acelerado (Hamedi *et al.*, 2011; Prakatur *et al.*, 2019). Sin embargo, la altura de vellosidades disminuyó en esta condición, estos hallazgos concuerdan con los de Xiong *et al.* (2022) quienes documentaron que el EC causa afecciones en el íleon de cerdos en etapa de crecimiento y finalización. En este contexto se sugiere que el daño epitelial causado por el EC no pudo ser compensado por el sistema de renovación celular, comprometiendo la absorción de nutrientes en íleon. El uso de capsaicina mejoro la morfología intestinal en el íleon de lechones destetados (Long *et al.*, 2021). En nuestro estudio la adición del extracto herbal a la dieta

de los cerdos en EC aumento la relación A:P y disminuyo la profundidad de las criptas en íleon. Sin embargo, esto no fue suficiente para mantener la integridad de las vellosidades intestinales, pues se redujo el tamaño de las mismas comparadas con las vellosidades de los cerdos que se encontraban en TN. Esto refleja un intento por recuperar la integridad intestinal asociada a la capacidad antioxidante del extracto (Li *et al.*, 2023). Además, es posible que la dosis utilizada no fuera suficiente para mostrar un efecto más pronunciado en íleon.

El buen funcionamiento de las uniones estrechas juega un papel importante en la integridad del epitelio intestinal al mantener unidos los espacios intercelulares y actuar como una barrera selectiva para regular el paso de solutos y bloquear la entrada de microorganismos y toxinas a la sangre de los animales (Suzuki, 2020). Como se ha mencionado el EC compromete las uniones estrechas al afectar el epitelio mucoso y alterar la expresión de proteínas asociadas a estas uniones, repercutiendo negativamente sobre la salud intestinal (Patra *et al.*, 2021).

En yeyuno la expresión de ocludina disminuyó en los cerdos en estrés por calor, y fue parcialmente recuperada con la adición del extracto herbal. Las disfunciones de yeyuno causadas por el EC generalmente se asocian con inflamación del intestino (Li *et al.*, 2023). El estrés oxidativo y la inflamación son procesos que se relacionan y frecuentemente se presentan en conjunto (Hussain *et al.*, 2016). La ocludina es una proteína que participa de manera importante en la formación y fortalecimiento de las funciones de la barrera intestinal, esencial en las uniones estrechas (Ghulam Mohyuddin *et al.*, 2022), su funcionamiento está regulado mediante la fosforilación y desfosforilación, así como PKC y las GTPasas pequeñas que influyen con su interacción con otras proteínas como zónula occludens -1, -2, -3, y JAM (Feldman *et al.*, 2005). Se sugiere, que la baja expresión de ocludina en yeyuno debilita las uniones estrechas, lo que se asociaría con el daño observado en el epitelio intestinal

(Alhotan *et al.*, 2021; Ghulam Mohyuddin *et al.*, 2022). En un estudio realizado por Alhotan *et al.* (2021) se documentó una disminución en la expresión de ocludina debido al estrés por calor, causando un aumento en la permeabilidad intestinal en pollos. En este experimento al adicionar el extracto herbal a la dieta de los cerdos en estrés por calor se incrementó ligeramente la expresión de ocludina, ésta quedó a un tercio de su expresión en comparación con los cerdos en condiciones termoneutrales. Aunque esto no representa una recuperación completa de la permeabilidad intestinal, si refleja una respuesta positiva para recuperar la estructura de las uniones estrechas. Los resultados obtenidos se asemejan con los de Ren *et al.* (2022), quienes suplementaron a cerdos con orujo de *Aronia melanocarpa* durante 7 semanas, y observaron que el tratamiento con 4% de este extracto aumentó la expresión de ocludina en yeyuno. Sin embargo, en ese estudio los cerdos no se encontraban en EC y a diferencia de este trabajo, nuestra fase experimental solo tuvo una duración de 8 días, un periodo corto comparado con el de estos autores. Al igual que el *Capsicum spp.*, los productos y subproductos de *Aronia melanocarpa* son conocidos por sus aplicaciones en la medicina debido a su capacidad antioxidante (Jurendić *et al.*, 2021). La capsaicina es el compuesto bioactivo de *Capsicum spp.*, el cual aumento la expresión de genes antioxidantes regulados por las proteínas UCP2 y Nrf2 mediante las vías TRPV1/PKA/UCP2 y KEAP1/Nrf2. A su vez capsaicina inhibió los factores inflamatorios TNF- α , IFN- γ e IL-1 β y aumento los factores antiinflamatorios IL-10 y TGF- β 1 en el yeyuno de ratones en EC (Li *et al.*, 2023). Por lo tanto, el incremento de ocludina en el yeyuno de los cerdos adicionados con el extracto herbal puede interpretarse como un efecto protector sobre la integridad intestinal, atribuida a mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios como resultado de la acción de capsaicina.

En el mismo segmento se observó una tendencia a disminuir la expresión de claudina-2 en los cerdos del tratamiento EC+T comparados con los que se encontraban en TN+T. El EC altera la forma en la que están compuestas las

uniones estrechas de la barrera intestinal (Patra *et al.*, 2021). Estudios realizados por Vázquez *et al.* (2022) documentaron que en cerdos en crecimiento sometidos a EC por periodos cortos disminuyó la expresión de la proteína claudina-2 en duodeno e íleon, sin embargo, no obtuvieron cambios en la expresión de esta proteína en los cerdos sometidos a EC por periodos largos, refiriendo este resultado como una posible respuesta adaptativa. De manera similar Mohyuddin *et al.* (2021), observaron una disminución en la expresión de claudina-2 en tejidos colónicos de ratones expuestos a EC por un periodo de hasta 14 días.

Las claudinas, son componentes principales de la unión estrecha y determinantes del transporte de solutos paracelulares (Heiskala *et al.*, 2001). Existen 27 miembros de la familia de las claudinas distribuidas en diversos tejidos y cada una de ellas lleva a cabo tareas distintas (Mineta *et al.*, 2011); Claudina-2 se encarga de la permeabilidad paracelular en el epitelio intestinal, formando poros selectivos que permiten el paso de cationes (Luettig *et al.*, 2015). El aumento en la expresión de esta proteína reduce la rigidez de la barrera intestinal favoreciendo su permeabilidad (Furuse *et al.*, 2001). Debido a lo anterior, es posible que el EC afectara de manera negativa la barrera intestinal reduciendo la expresión de claudina-2 en el yeyuno de cerdos lo que implica una menor cantidad de poros para permitir el paso equilibrado de cationes (Furuse *et al.*, 2001). Por otro lado, la expresión de claudina-2 aumento en los cerdos del tratamiento EC+EH comparados con los cerdos que se encontraban en TN+T. La sobreexpresión de claudina-2 generalmente se asocia con un efecto negativo sobre la salud intestinal, pues esto causa una permeabilidad excesiva facilitando el paso de sustancias inflamatorias y patógenos al organismo de los animales y humanos (Oami *et al.*, 2024). Hasta ahora existe poca documentación científica sobre el análisis de la proteína claudina-2 en cerdos bajo EC en el segmento de yeyuno, no obstante, su estudio podría ser un indicador de la función de la barrera intestinal (Villanacci *et al.*, 2024). TRL4 es un receptor que se relaciona con la regulación de la

síntesis de las proteínas de unión estrecha según Mohyuddin *et al.* (2021). En sus estudios observaron un incremento en la expresión de TLR4, NF- κ B y TNF- α en el colon de ratas debido al EC, vinculando este mecanismo a posibles daños en los tejidos y aumento en la expresión génica. La expresión de claudina-2 está regulada por algunas vías de señalización como AP-1, NF- κ B, Cdx y STAT que son activadas por citocinas proinflamatorias como IL-13 y el factor TNF- α que modifican la expresión de las proteínas de las uniones estrechas contribuyendo a la disfunción de la barrera epitelial (Weber *et al.*, 2007). Semejante a nuestros resultados, el uso de aceite de árbol demostró aumentar la expresión de la proteína claudina-2 en tejidos colónicos de ratones en condiciones de EC enfatizando que su resultado contrasta con el observado en los ratones bajo condiciones de EC sin la adición del aceite de árbol (Mohyuddin *et al.*, 2021). Otros estudios han documentado el efecto antiinflamatorio de capsaicina en modelos in vitro de células IPEC-J2 desafiadas con LPS, al reducir significativamente la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-8 y TNF- α ; concluyendo que el uso de capsaicina podría utilizarse como aditivo para combatir la inflamación intestinal en lechones (Zhao *et al.*, 2021). El aumento en la expresión de claudina-2 puede relacionarse con diversos factores, desde la activación de alguna vía de señalización para la síntesis de esta proteína debido al extracto herbal, hasta los efectos causados por el EC (Mohyuddin *et al.*, 2021). Es importante mencionar que también se observó una tendencia a aumentar la expresión de la proteína zónula occludens-1 encargada de mantener unidas las proteínas de membrana al citoesqueleto de actina (Otani *et al.*, 2020), en el yeyuno de los cerdos adicionados del extracto herbal. Zhao *et al.* (2021) informaron que el uso de capsaicina aumenta la expresión de zónula occludens-1 en modelos in vitro de células IPEC-J2 desafiadas con LPS, además mencionan que este extracto puede evitar los efectos causados por inflamaciones mediante la vía de señalización TLR4/NF- κ B, no obstante, recomiendan profundizar la investigación en modelos in vivo. Por lo anterior, no tenemos la certeza de que

el extracto herbal actúe de forma negativa o positiva en la integridad de las uniones estrechas mediante la síntesis de claudina-2 y su posible relación con la tendencia observada al aumento en la expresión de zónula occludens-1. Esto resalta la necesidad de realizar más estudios que ayuden a comprender mejor el mecanismo de respuesta presentado en nuestra investigación.

En íleon solo se observó un cambio significativo en donde la expresión de ocludina disminuyó en los cerdos en EC. Comprobando que esta condición puede afectar la composición de las uniones estrechas, debilitando la barrera intestinal (Patra *et al.*, 2021). La reducción en la expresión de esta proteína fue más intensa incluso al administrar el extracto herbal a la dieta de los cerdos en EC. Contrario a estos resultados Mao *et al.* (2022) reportaron un aumento en la expresión de ocludina en el íleon de pollos en estrés por calor que fueron suplementados con diente de león. Estas diferencias podrían asociarse al extracto utilizado, la especie animal, la duración de la fase experimental o a la cantidad de extracto utilizada. Por lo que se sugiere que la adición del extracto herbal no beneficio la integridad de la barrera intestinal en el íleon de los cerdos en EC.

IX. CONCLUSIÓN

La inclusión de un extracto herbal formulado principalmente a base de *Capsicum spp.*, complementado con *Piper nigrum* y *Zingiber officinale* en la dieta de cerdos en etapa de crecimiento bajo condiciones de estrés por calor, aumento la actividad de las enzimas antioxidantes CAT y SOD en suero de cerdos. Además, demostró aumentar la altura de vellosidades y la relación A:P en yeyuno, así como aumentar la expresión de ocludina en dicho segmento intestinal. A partir de estos resultados se concluye que el uso del extracto herbal contribuyó a la mejora de la integridad del epitelio intestinal en yeyuno y la actividad antioxidante en suero de los cerdos que se encontraban bajo estrés por calor. Sin embargo, se recomienda realizar más investigación sobre el uso de este extracto en dietas, evaluando diversas concentraciones para determinar su efecto óptimo y/o prolongando el tiempo de periodo experimental.

X. LITERATURA CITADA

- Adaszek, Ł., Gadomska, D., Mazurek, Ł., Łyp, P., Madany, J., & Winiarczyk, S. (2019). Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine. In *Research in Veterinary Science* (Vol. 123, pp. 14–19). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.12.002>
- Adeola, O., & King, D. E. (2006). Developmental changes in morphometry of the small intestine and jejunal sucrase activity during the first nine weeks of postnatal growth in pigs 1. In *J. Anim. Sci* (Vol. 84). <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/84/1/112/4804161>
- Aguilar, T. A. F., Navarro, B. C. H., & Pérez, J. A. M. (2016). Endogenous Antioxidants: A Review of their Role in Oxidative Stress. In *A Master Regulator of Oxidative Stress - The Transcription Factor Nrf2*. InTech. <https://doi.org/10.5772/65715>
- Al-Ghussain, L. (2019). Global warming: review on driving forces and mitigation. In *Environmental Progress and Sustainable Energy* (Vol. 38, Issue 1, pp. 13–21). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/ep.13041>
- Alhotan, R. A., Al Sulaiman, A. R., Alharthi, A. S., & Abudabos, A. M. (2021). Protective influence of betaine on intestinal health by regulating inflammation and improving barrier function in broilers under heat stress. *Poultry Science*, 100(9). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101337>
- Alolga, R. N., Wang, F., Zhang, X., Li, J., Tran, L. S. P., & Yin, X. (2022). Bioactive Compounds from the Zingiberaceae Family with Known Antioxidant Activities for Possible Therapeutic Uses. In *Antioxidants* (Vol. 11, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox11071281>
- Anderson, J. M., Fanning, A. S., Lapierre, L., & Van Itallie, C. M. (1995). *Zonula occludens (ZO)-1 and ZO-2: membrane-associated guanylate kinase homologues (MAGuKs) of the tight junction*.
- Ando-Akatsuka, Y., Saitou, M., Hirase, T., Kishi, M., Sakakibara, A., Itoh, M., Yonemura, S., Furuse, M., & Tsukita, S. (1996). Interspecies Diversity of the Occludin Sequence: cDNA Cloning of Human, Mouse, Dog, and Rat-Kangaroo Homologues. In *Source: The Journal of Cell Biology* (Vol. 133, Issue 1).
- Andrés Juan, C., Manuel Pérez de la Lastra, J., Plou, F. J., Pérez-Lebeña, E., & Reinbothe, S. (2021). Molecular Sciences The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int. J. Mol. Sci*, 22, 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms>

- Aparecida da Silva Maria, de Sousa Pessotti Bruna Mirelly, Freitas Zanini Surama, Luiz Colnago Geraldo, Alves Rodrigues Maria Regina, de Carvalho Nunes Louisiane, Santos Zanini Marcos, & Freire Martins Isabella Vilhena. (2009). *Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with Eimeria tenella*. 5, 1471–1477.
- Arena, E. T., Rueden, C. T., Hiner, M. C., Wang, S., Yuan, M., & Eliceiri, K. W. (2017). Quantitating the cell: turning images into numbers with ImageJ. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 6(2). <https://doi.org/10.1002/wdev.260>
- Azadmanesh, J., Trickel, S. R., & Borgstahl, G. E. O. (2017). Substrate-analog binding and electrostatic surfaces of human manganese superoxide dismutase. *Journal of Structural Biology*, 199(1), 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2017.04.011>
- Bardan, R. (2024, January 12). *NASA Analysis Confirms 2023 as Warmest Year on Record*. <https://www.nasa.gov/news-release/nasa-analysis-confirms-2023-as-warmest-year-on-record/>.
- Bartsch, H., & Nair, J. (2006). Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: Role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 391(5), 499–510. <https://doi.org/10.1007/s00423-006-0073-1>
- Batiha, G. E. S., Alqahtani, A., Ojo, O. A., Shaheen, H. M., Wasef, L., Elzeiny, M., Ismail, M., Shalaby, M., Murata, T., Zaragoza-Bastida, A., Rivero-Perez, N., Beshbishy, A. M., Kasozi, K. I., Jeandet, P., & Hetta, H. F. (2020). Biological properties, bioactive constituents, and pharmacokinetics of some capsicum spp. And capsaicinoids. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 15, pp. 1–35). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21155179>
- Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2013). Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1, 311–337. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103644>
- Beem, K. M., Rich, W. E., & Rajagopalan, K. V. (1974). Total Reconstitution of Copper-Zinc Superoxide Dismutase*. In *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* (Vol. 249, Issue 22).
- Bejaoui, B., Sdiri, C., Ben Souf, I., Belhadj Slimen, I., Ben Larbi, M., Koumba, S., Martin, P., & M'Hamdi, N. (2023). Physicochemical Properties, Antioxidant Markers, and Meat Quality as Affected by Heat Stress: A Review. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules28083332>

- Borgstahl, G. E. O., & Oberley-Deegan, R. E. (2018). Superoxide dismutases (SODs) and SOD mimetics. In *Antioxidants* (Vol. 7, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox7110156>
- Bosello-Travain, V., Conrad, M., Cozza, G., Negro, A., Quartesan, S., Rossetto, M., Roveri, A., Toppo, S., Ursini, F., Zaccarin, M., & Maiorino, M. (2013). Protein disulfide isomerase and glutathione are alternative substrates in the one Cys catalytic cycle of glutathione peroxidase 7. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1830(6), 3846–3857. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.017>
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. In *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology* (Vol. 25, Issue 3, pp. 287–299). <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016>
- C. Loewen Peter, G. Klotz Martin, & J. Hassett Daniel. (2000). 2000-ASMNews66_76.
- Campos, P. H. R. F., Le Floc'h, N., Noblet, J., & Renaudeau, D. (2017). Physiological responses of growing pigs to high ambient temperature and/or inflammatory challenges. In *Revista Brasileira de Zootecnia* (Vol. 46, Issue 6, pp. 537–544). Sociedade Brasileira de Zootecnia. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000600009>
- Cayman Chemical. (2025a, January 21). *Catalase Assay Kit*.
- Cayman Chemical. (2025b, January 21). *Glutathione Peroxidase Assay Kit*.
- Cayman Chemical. (2025c, January 21). *Superoxide dismutase Assay Kit*.
- Celi, P., Cowieson, A. J., Fru-Nji, F., Steinert, R. E., Kluenter, A. M., & Verlhac, V. (2017). Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. In *Animal Feed Science and Technology* (Vol. 234, pp. 88–100). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012>
- Cervantes, M., Sakkas, P., Soto, M., Gómez, A. J., Camacho, R. L., Arce, N., Quilichini, N., & Morales, A. (2024). A Capsaicin-Based Phytogetic Solution Improves Performance and Thermal Tolerance of Heat-Stressed Growing Pigs. *Animals*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/ani14060973>
- Chen, H., Mao, X., Yin, J., Yu, B., He, J., Che, L., Yu, J., Huang, Z., Zheng, P., Michiels, J., De Smet, S., & Chen, D. (2015). The Kielanowski Institute of. In *Journal of Animal and Feed Sciences* (Vol. 24).
- Chiba, L. (2023). *Sustainable swine nutrition* (Department of Animal Sciences & Auburn University, Eds.; second edition).
- Chioti, V., & Zervoudakis, G. (2017). Is root catalase a bifunctional catalase-peroxidase? *Antioxidants*, 6(2). <https://doi.org/10.3390/antiox6020039>

- Collin, A., Van Milgen, J., & Le Dividich, J. (2001). Modelling the effect of high, constant temperature on food intake in young growing pigs. *Animal Science*, 72(3), 519–527. <https://doi.org/10.1017/S1357729800052048>
- COMECARNE, 2024. (2024). *Consejo Mexicano de la Carne*. Compendio Estadístico 2024. <https://comecarne.org/compendio-estadistico-2024/>
- CONAGUA. (2024, July 15). *COMISION NACIONAL DEL AGUA*. Resúmenes Mensuales de Lluvia y Temperatura. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>
- Cottrell, J. J., Liu, F., Hung, A. T., DiGiacomo, K., Chauhan, S. S., Leury, B. J., Furness, J. B., Celi, P., & Dunshea, F. R. (2015). Nutritional strategies to alleviate heat stress in pigs. *Animal Production Science*, 55(11–12), 1391–1402. <https://doi.org/10.1071/AN15255>
- Cui, Y., Wang, C., Hao, Y., Gu, X., & Wang, H. (2019). Chronic heat stress induces acute phase responses and serum metabolome changes in finishing pigs. *Animals*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/ani9070395>
- de Conto, C., Oevermann, A., Burgener, I. A., Doherr, M. G., & Blum, J. W. (2010). Gastrointestinal tract mucosal histomorphometry and epithelial cell proliferation and apoptosis in neonatal and adult dogs. *Journal of Animal Science*, 88(7), 2254–2265. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2511>
- de Oliveira, M. J. K., Polycarpo, G. V., Andretta, I., Melo, A. D. B., Marçal, D. A., Létourneau-Montminy, M. P., & Hauschild, L. (2024). Effect of constant and cyclic heat stress on growth performance, water intake, and physiological responses in pigs: A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 309. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115904>
- Dobruskin, V. Kh. (2023). Contribution of Energy Produced by Humanity to Global Warming. *Open Journal of Ecology*, 13(05), 241–247. <https://doi.org/10.4236/oje.2023.135015>
- Escarcha, J. F., Lassa, J. A., & Zander, K. K. (2018). Livestock under climate change: A systematic review of impacts and adaptation. In *Climate* (Vol. 6, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cli6030054>
- Estévez-Moreno, L. X., & Miranda-de la Lama, G. C. (2022). Meat consumption and consumer attitudes in México: Can persistence lead to change? *Meat Science*, 193. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108943>
- Everaert, N., Van Cruchten, S., Weström, B., Bailey, M., Van Ginneken, C., Thymann, T., & Pieper, R. (2017). A review on early gut maturation and colonization in pigs, including biological and dietary factors affecting gut

- homeostasis. *Animal Feed Science and Technology*, 233, 89–103.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.06.011>
- Feldman, G. J., Mullin, J. M., & Ryan, M. P. (2005). Occludin: Structure, function and regulation. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 57, Issue 6, pp. 883–917). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.009>
- Furuse, M., Fujita, K., Hiiragi, T., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and-2: Novel Integral Membrane Proteins Localizing at Tight Junctions with No Sequence Similarity to Occludin. In *The Journal of Cell Biology* (Vol. 141, Issue 7). <http://www.jcb.org>
- Furuse, M., Furuse, K., Sasaki, H., & Tsukita, S. (2001). Conversion of Zonulae Occludentes from Tight to Leaky Strand Type by Introducing Claudin-2 into Madin-Darby Canine Kidney I Cells. In *The Journal of Cell Biology* (Vol. 153, Issue 2). <http://www.jcb.org/cgi/content/full/153/2/263>
- Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., Nagafuchi, A., Yonemura, S., Tsukita, S., & Tsukita, S. (1993). *Occludin: A Novel Integral Membrane Protein Localizing at Tight Junctions*.
- Furuse, M., Sasaki, H., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). A Single Gene Product, Claudin-1 or-2, Reconstitutes Tight Junction Strands and Recruits Occludin in Fibroblasts. In *The Journal of Cell Biology* (Vol. 143, Issue 2). <http://www.jcb.org>
- Garcia, V., Quiros, M., & Nusrat, A. (2017). Intestinal epithelial claudins: Expression and regulation in homeostasis and inflammation. In *Annals of the New York Academy of Sciences* (Vol. 1397, Issue 1, pp. 66–79). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/nyas.13360>
- Gassler, N. (2017). Paneth cells in intestinal physiology and pathophysiology. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 8(4), 150–160.
<https://doi.org/10.4291/wjgp.v8.i4.150>
- Gelberg, H. B. (2014). Comparative anatomy, physiology, and mechanisms of disease production of the esophagus, stomach, and small intestine. *Toxicologic Pathology*, 42(1), 54–66.
<https://doi.org/10.1177/0192623313518113>
- Ghulam Mohyuddin, S., Khan, I., Zada, A., Qamar, A., Arbab, A. A. I., Ma, X. B., Yu, Z. C., Liu, X. X., Yong, Y. H., Ju, X. H., Zhang-Ping, Y., & Yong Jiang, M. (2022). Influence of Heat Stress on Intestinal Epithelial Barrier Function, Tight Junction Protein, and Immune and Reproductive Physiology. In *BioMed Research International* (Vol. 2022). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2022/8547379>

- Glorieux, C., & Calderon, P. B. (2017). Catalase, a remarkable enzyme: Targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. In *Biological Chemistry* (Vol. 398, Issue 10, pp. 1095–1108). Walter de Gruyter GmbH. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0131>
- Godde, C. M., Mason-D'Croz, D., Mayberry, D. E., Thornton, P. K., & Herrero, M. (2021). Impacts of climate change on the livestock food supply chain; a review of the evidence. In *Global Food Security* (Vol. 28). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100488>
- Goyal, M. M., & Basak, A. (2010). Human catalase: Looking for complete identity. In *Protein and Cell* (Vol. 1, Issue 10, pp. 888–897). Higher Education Press. <https://doi.org/10.1007/s13238-010-0113-z>
- Günzel, D., & Fromm, M. (2012). Claudins and other tight junction proteins. *Comprehensive Physiology*, 2(3), 1819–1852. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110045>
- Halliwell, B. (1992). *Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System*.
- Hamed, S., Hamed, S., Rezaian, M., & Shomali, T. (2011). under a Creative Commons Attribution (CC-BY) 3.0 license Histological Changes of Small Intestinal Mucosa of Cocks Due to Sunflower Meal Single Feeding. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 6(4), 171–175.
- Heck, D. E., Shakarjian, M., Kim, H. D., Laskin, J. D., & Vetrano, A. M. (2010). Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203, 120–125. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05603.x>
- Heiskala, M., Peterson, P. A., & Yang, Y. (2001). The roles of claudin superfamily proteins in paracellular transport. In *Traffic* (Vol. 2, Issue 2, pp. 92–98). <https://doi.org/10.1034/j.1600-0854.2001.020203.x>
- Herath, H. M. S. N., Rafii, M. Y., Ismail, S. I., JJ, N., & Ramlee, S. I. (2021). Improvement of important economic traits in chilli through heterosis breeding: a review. In *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* (Vol. 96, Issue 1, pp. 14–23). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1780162>
- Herbette, S., Roeckel-Drevet, P., & Drevet, J. R. (2007). Seleno-independent glutathione peroxidases: More than simple antioxidant scavengers. In *FEBS Journal* (Vol. 274, Issue 9, pp. 2163–2180). <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05774.x>
- Hong, Y., Boiti, A., Vallone, D., & Foulkes, N. S. (2024). Reactive Oxygen Species Signaling and Oxidative Stress: Transcriptional Regulation and

- Evolution. In *Antioxidants* (Vol. 13, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/antiox13030312>
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2016). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>
- Huynh, T. T. T., Aarnink, A. J. A., Gerrits, W. J. J., Heetkamp, M. J. H., Canh, T. T., Spoolder, H. A. M., Kemp, B., & Verstegen, M. W. A. (2005). Thermal behaviour of growing pigs in response to high temperature and humidity. *Applied Animal Behaviour Science*, 91(1–2), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.10.020>
- Johnson, J. S. (2018). Heat stress: Impact on livestock well-being and productivity and mitigation strategies to alleviate the negative effects. In *Animal Production Science* (Vol. 58, Issue 8, pp. 1404–1413). CSIRO. <https://doi.org/10.1071/AN17725>
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. In *Archives of Toxicology* (Vol. 98, Issue 5, pp. 1323–1367). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4>
- Joung, E. J., Li, M. H., Lee, H. G., Somparn, N., Jung, Y. S., Na, H. K., Kim, S. H., Cha, Y. N., & Surh, Y. J. (2007). Capsaicin induces heme oxygenase-1 expression in HepG2 cells via activation of PI3K-Nrf2 signaling: NAD(P)H:quinone oxidoreductase as a potential target. *Antioxidants and Redox Signaling*, 9(12), 2087–2098. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1827>
- Jurendić, T. J., Ščetar, M., Voilley, A., & Kurek, M. (2021). *Aronia melanocarpa Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review*. <https://doi.org/10.3390/antiox>
- Kim, Y. J., Kim, E. H., & Hahm, K. B. (2012). Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases: Challenges and opportunities. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 27(6), 1004–1010. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07108.x>
- Kirkman, H. N., & Gaetanit, G. F. (1984). Catalase: A tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH (ultrafiltration/human erythrocytes/bovine liver). In *Biochemistry* (Vol. 81).

- Knudsen, J. K., Leutscher, P., & Sørensen, S. (2021). Gut Microbiota in Bone Health and Diabetes. In *Current Osteoporosis Reports* (Vol. 19, Issue 4, pp. 462–479). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11914-020-00629-9>
- Kobayashi, A., Kang, M.-I., Okawa, H., Ohtsuji, M., Zenke, Y., Chiba, T., Igarashi, K., & Yamamoto, M. (2004). Oxidative Stress Sensor Keap1 Functions as an Adaptor for Cul3-Based E3 Ligase To Regulate Proteasomal Degradation of Nrf2. *Molecular and Cellular Biology*, 24(16), 7130–7139. <https://doi.org/10.1128/mcb.24.16.7130-7139.2004>
- Kozlov, A. V., Javadov, S., & Sommer, N. (2024). Cellular ROS and Antioxidants: Physiological and Pathological Role. In *Antioxidants* (Vol. 13, Issue 5). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/antiox13050602>
- Lah, M. S., Dixon, M. M., Pattridge, K. A., Stallings, W. C., Fee, J. A., & Ludwig, M. L. (1995). Structure-Function in Escherichia coli Iron Superoxide Dismutase: Comparisons with the Manganese Enzyme from Thermus thermophilus. In *Biochemistry* (Vol. 34).
- Lambert, G. P. (2009). Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. In *Journal of animal science* (Vol. 87, Issue 14 Suppl). <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1339>
- Lambert, G. P., Gisolfi, C. V., Berg, D. J., Moseley, P. L., Oberley, L. W., & Kregel, K. C. (2002). Selected contribution: Hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. *Journal of Applied Physiology*, 92(4), 1750–1761. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00787.2001>
- Lee, J. G., Chae, Y., Shin, Y., & Kim, Y. J. (2020). Chemical composition and antioxidant capacity of black pepper pericarp. *Applied Biological Chemistry*, 63(1). <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00521-1>
- Lee, J., Park, S., Park, H., Hong, J., Kim, Y., Jeong, Y., Sa, S., Choi, Y., & Kim, J. (2025). Heat Stress in Growing–Finishing Pigs: Effects of Low Protein with Increased Crystalline Amino Acids on Growth, Gut Health, Antioxidant Status and Microbiome. *Animals*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/ani15060848>
- Lee, S. H. (2015). Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implication on Inflammatory Bowel Diseases. *Intestinal Research*, 13(1), 11. <https://doi.org/10.5217/ir.2015.13.1.11>
- Li, X., Akhtar, S., & Choudhry, M. A. (2012). Alteration in intestine tight junction protein phosphorylation and apoptosis is associated with increase in IL-18 levels following alcohol intoxication and burn injury.

- Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1822(2), 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.09.019>
- Li, Z., Zhang, J., Cheng, K., Zhang, L., & Wang, T. (2023). Capsaicin alleviates the intestinal oxidative stress via activation of TRPV1/PKA/UCP2 and Keap1/Nrf2 pathways in heat-stressed mice. *Journal of Functional Foods*, 108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105749>
- Lin, Z. ning, Ye, L., Li, Z. wu, Huang, X. sheng, Lu, Z., Yang, Y. quan, Xing, H. wei, Bai, J. ying, & Ying, Z. yang. (2020). Chinese herb feed additives improved the growth performance, meat quality, and nutrient digestibility parameters of pigs. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(1), 47–54. <https://doi.org/10.1002/ame2.12104>
- Liu, F., Cottrell, J. J., Furness, J. B., Rivera, L. R., Kelly, F. W., Wijesiriwardana, U., Pustovit, R. V., Fothergill, L. J., Bravo, D. M., Celi, P., Leury, B. J., Gabler, N. K., & Dunshea, F. R. (2016). Selenium and vitamin E together improve intestinal epithelial barrier function and alleviate oxidative stress in heat-stressed pigs. *Experimental Physiology*, 101(7), 801–810. <https://doi.org/10.1113/EP085746>
- Liu, F., Zhao, W., Le, H. H., Cottrell, J. J., Green, M. P., Leury, B. J., Dunshea, F. R., & Bell, A. W. (2022). Review: What have we learned about the effects of heat stress on the pig industry? In *Animal* (Vol. 16). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100349>
- Liu, L., Wu, C., Chen, D., Yu, B., Huang, Z., Luo, Y., Zheng, P., Mao, X., Yu, J., Luo, J., Yan, H., & He, J. (2020). Selenium-Enriched Yeast Alleviates Oxidative Stress-Induced Intestinal Mucosa Disruption in Weaned Pigs. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5490743>
- Liu, T., Xiao, B., Xiang, F., Tan, J., Chen, Z., Zhang, X., Wu, C., Mao, Z., Luo, G., Chen, X., & Deng, J. (2020). Ultrasmall copper-based nanoparticles for reactive oxygen species scavenging and alleviation of inflammation related diseases. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16544-7>
- Liu, Y., & Chen, Y. G. (2020). Intestinal epithelial plasticity and regeneration via cell dedifferentiation. In *Cell Regeneration* (Vol. 9, Issue 1). Springer. <https://doi.org/10.1186/s13619-020-00053-5>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

- Long, S., Liu, S., Wang, J., Mahfuz, S., & Piao, X. (2021). Natural capsicum extract replacing chlortetracycline enhances performance via improving digestive enzyme activities, antioxidant capacity, anti-inflammatory function, and gut health in weaned pigs. *Animal Nutrition*, 7(2), 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.12.004>
- Luettig, J., Rosenthal, R., Barmeyer, C., & Schulzke, J. D. (2015). Claudin-2 as a mediator of leaky gut barrier during intestinal inflammation. In *Tissue Barriers* (Vol. 3, Issue 1). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.4161/21688370.2014.977176>
- Ma, C., Wang, F., Zhu, J., Wang, S., Liu, Y., Xu, J., Zhao, Q., Qin, Y., Si, W., & Zhang, J. (2024). 18Beta-Glycyrrhetic Acid Attenuates H₂O₂-Induced Oxidative Damage and Apoptosis in Intestinal Epithelial Cells via Activating the PI3K/Akt Signaling Pathway. *Antioxidants*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/antiox13040468>
- Madala, N., & Nutakki, M. K. (2020). Hot Pepper – History- Health and Dietary Benefits & Production. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(4), 2532–2538. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.904.303>
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., & Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione peroxidase family - An evolutionary overview. *FEBS Journal*, 275(15), 3959–3970. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06542.x>
- Marion, J., Biernat, M., Thomas, F., Savary, G., Le Breton, Y., Zabielski, R., Le Huërou-Luron, I., & Le Dividich, J. (2002). Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age effects of level of energy intake. *Reproduction Nutrition Development*, 42(4), 339–354. <https://doi.org/10.1051/rnd:2002030>
- Mayorga, E. J., Renaudeau, D., Ramirez, B. C., Ross, J. W., & Baumgard, L. H. (2019). Heat stress adaptations in pigs. *Animal Frontiers*, 9(1), 54–61. <https://doi.org/10.1093/af/vfy035>
- Mayorga, E. J., Ross, J. W., Keating, A. F., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2020). Biology of heat stress; the nexus between intestinal hyperpermeability and swine reproduction. In *Theriogenology* (Vol. 154, pp. 73–83). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.023>
- Mineta, K., Yamamoto, Y., Yamazaki, Y., Tanaka, H., Tada, Y., Saito, K., Tamura, A., Igarashi, M., Endo, T., Takeuchi, K., & Tsukita, S. (2011). Predicted expansion of the claudin multigene family. *FEBS Letters*, 585(4), 606–612. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.01.028>

- Moeser, A. J., Borst, L. B., Overman, B. L., & Pittman, J. S. (2012). Defects in small intestinal epithelial barrier function and morphology associated with peri-weaning failure to thrive syndrome (PFTS) in swine. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 975–982.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.01.003>
- Mohammadpour, A. A. (2011). MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDY OF GUINEA PIG DUODENAL SUBMUCOSAL GLANDS. In *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* (Vol. 14, Issue 4).
- Mohyuddin, S. G., Qamar, A., Hu, C. ying, Li, Y., Chen, S. W., Wen, J. ying, Bao, M. L., & Ju, X. H. (2021). Terpinen4-ol inhibits heat stress induced inflammation in colonic tissue by Activating Occludin, Claudin-2 and TLR4/NF- κ B signaling pathway. *International Immunopharmacology*, 99.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107727>
- Montesinos-Cruz, V., Parra Forero, L. Y., & García Contreras, A. del C. (2023). Alterations in energy balance and the antioxidant system due to heat stress: focus on animal production. In *Frontiers in Animal Science* (Vol. 4). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fanim.2023.1275290>
- Moran, G. W., & Thapaliya, G. (2021). The gut–brain axis and its role in controlling eating behavior in intestinal inflammation. *Nutrients*, 13(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/nu13030981>
- Mowat, A. M., & Agace, W. W. (2014). Regional specialization within the intestinal immune system. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 14, Issue 10, pp. 667–685). Nature Publishing Group.
<https://doi.org/10.1038/nri3738>
- NASA. (2025, January 18). *Gráficas del calor excepcional e inesperado de 2023 y 2024*.
- Niessen, C. M. (2007). Tight junctions/adherens junctions: Basic structure and function. In *Journal of Investigative Dermatology* (Vol. 127, Issue 11, pp. 2525–2532). Nature Publishing Group.
<https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700865>
- Oami, T., Abtahi, S., Shimazui, T., Chen, C. W., Sweat, Y. Y., Liang, Z., Burd, E. M., Farris, A. B., Roland, J. T., Tsukita, S., Ford, M. L., Turner, J. R., & Coopersmith, C. M. (2024). Claudin-2 upregulation enhances intestinal permeability, immune activation, dysbiosis, and mortality in sepsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(10). <https://doi.org/10.1073/pnas.2217877121>
- O'Driscoll, J., & Ryan, J. P. (1978). A modified haematoxylin and eosin stain for histological sections of lymph nodes. *Journal of Clinical Pathology*, 31(7), 700. <https://doi.org/10.1136/jcp.31.7.700-a>

- Ogbuewu, I. P., & Mbajiorgu, C. A. (2023). Black pepper (*Piper nigrum* Lam) as a natural feed additive and source of beneficial nutrients and phytochemicals in chicken nutrition. In *Open Agriculture* (Vol. 8, Issue 1). De Gruyter Open Ltd. <https://doi.org/10.1515/opag-2022-0204>
- Ogoh, S., Sato, K., Okazaki, K., Miyamoto, T., Hirasawa, A., Morimoto, K., & Shibasaki, M. (2013). Blood flow distribution during heat stress: Cerebral and systemic blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 33(12), 1915–1920. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.149>
- Oh, U., Hwang, S. W., & Kim, D. (1996). Capsaicin Activates a Nonselective Cation Channel in Cultured Neonatal Rat Dorsal Root Ganglion Neurons. In *The Journal of Neuroscience* (Vol. 16, Issue 5).
- Omotosho, O. O., Fowowe, O., Abiola, J. O., Oyagbemi, A. A., & Omobowale, T. O. (2024). High Environmental Temperature Induces Oxidative Stress, Reduced Sow Productivity and Increased Piglet Mortality. *Journal of Applied Veterinary Sciences*, 9(2), 42–54. <https://doi.org/10.21608/ja>
- Ortega, A. D. S. V., & Szabó, C. (2021). Adverse effects of heat stress on the intestinal integrity and function of pigs and the mitigation capacity of dietary antioxidants: A review. In *Animals* (Vol. 11, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ani11041135>
- Otani, T., & Furuse, M. (2020). Tight Junction Structure and Function Revisited. In *Trends in Cell Biology* (Vol. 30, Issue 10, pp. 805–817). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.08.004>
- Ouyang, J., Zhou, H., Li, Q., Zheng, J., Chen, C., Guo, S., You, J., & Li, G. (2022). Tryptophan Alleviates Acute Heat Stress-Induced Impairment of Antioxidant Status and Mitochondrial Function in Broilers. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.863156>
- Patra, A. K., & Kar, I. (2021). Heat stress on microbiota composition, barrier integrity, and nutrient transport in gut, production performance, and its amelioration in farm animals. In *Journal of Animal Science and Technology* (Vol. 63, Issue 2, pp. 211–247). Korean Society of Animal Sciences and Technology. <https://doi.org/10.5187/JAST.2021.E48>
- Pearce, S. C., Gabler, N. K., Ross, J. W., Escobar, J., Patience, J. F., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2013a). The effects of heat stress and plane of nutrition on metabolism in growing pigs 1. *J. Anim. Sci*, 91, 2108–2118. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5738>
- Pearce, S. C., Gabler, N. K., Ross, J. W., Escobar, J., Patience, J. F., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2013b). The effects of heat stress and plane of nutrition on metabolism in growing pigs 1. *J. Anim. Sci*, 91, 2108–2118. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5738>

- Pearce, S. C., Mani, V., Weber, T. E., Rhoads, R. P., Patience, J. F., Baumgard, L. H., & Gabler, N. K. (2013). Heat stress and reduced plane of nutrition decreases intestinal integrity and function in pigs. *Journal of Animal Science*, 91(11), 5183–5193. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6759>
- Pei, J., Pan, X., Wei, G., & Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxitation. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414>
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 97, pp. 55–74). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Prakatur Ivana, Miskulin Maja, Pavic Mirela, Marjanovic Ksenija, Blazicevic Valerija, Miskulin Ivan, & Domacinovic Matija. (2019). Intestinal morphology in broiler chickens supplemented with propolis and bee pollen. *Animals*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/ani9060301>
- Quiniou, N., Noblet, J., van Milgen, J., & Dubois, S. (2001). Modelling heat production and energy balance in group-housed growing pigs exposed to low or high ambient temperatures. *British Journal of Nutrition*, 85(1), 97–106. <https://doi.org/10.1079/bjn2000217>
- Rajhans, S., Pandya, H., Mankad, A. U., Patel, C., Bhalabhai, J. G., & Mankad, A. (2021). A Comprehensive Review on Capsicum spp. A Comprehensive Review on Capsicum spp. *International Journal of Research and Analytical Reviews*. www.ijrar.org
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). *Original Contribution ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY*.
- Renaudeau, D., Gourdine, J.-L., & St-Pierre, N. (2011). A meta-analysis of the effects of high ambient temperature on growth performance of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 89(7), 2220–2230. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3329>
- Renaudeau, D., Hue, E., & Noblet, J. (2007). Acclimation to high ambient temperature in Large White and Caribbean Creole growing pigs. *Journal of Animal Science*, 85(3), 779–790. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-430>
- Renaudeau, D., Leclercq-Smekens, M., & Herin, M. (2006). Differences in skin characteristics in European (Large White) and Caribbean (Creole) growing pigs with reference to thermoregulation. *Animal Research*, 55(3), 209–217. <https://doi.org/10.1051/animres:2006012>

- Roach, C. M., Mayorga, E. J., Baumgard, L. H., Ross, J. W., & Keating, A. F. (2024). Phenotypic, endocrinological, and metabolic effects of zearalenone exposure and additive effect of heat stress in prepubertal female pigs. *Journal of Thermal Biology*, 119. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2023.103742>
- Rodríguez, V., Medina, G., Ruiz, J., Estrada, J., & Mauricio, J. (2021, June 15). ¿Por qué México es un país altamente vulnerable al cambio climático? *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 45–57.
- Rojas-Downing, M. M., Nejadhashemi, A. P., Harrigan, T., & Woznicki, S. A. (2017). Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation. In *Climate Risk Management* (Vol. 16, pp. 145–163). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2017.02.001>
- Ross, J. W., Hale, B. J., Gabler, N. K., Rhoads, R. P., Keating, A. F., & Baumgard, L. H. (2015). Physiological consequences of heat stress in pigs. *Animal Production Science*, 55(11–12), 1381–1390. <https://doi.org/10.1071/AN15267>
- Ross, J. W., Hale, B. J., Seibert, J. T., Romoser, M. R., Adur, M. K., Keating, A. F., & Baumgard, L. H. (2017). Physiological mechanisms through which heat stress compromises reproduction in pigs. In *Molecular Reproduction and Development* (Vol. 84, Issue 9, pp. 934–945). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/mrd.22859>
- Ryan, K. C., Johnson, O. E., Cabelli, D. E., Brunold, T. C., & Maroney, M. J. (2010). Nickel superoxide dismutase: Structural and functional roles of Cys2 and Cys6. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 15(5), 795–807. <https://doi.org/10.1007/s00775-010-0645-y>
- Saeid. (2013). A r c h i v e o f S I D Effect of Garlic Powder (*Allium sativum*) and Black Seed (*Nigella sativa*) on Broiler Growth Performance and Intestinal Morphology. In *Iranian Journal of Applied Animal Science* (Vol. 3, Issue 1). www.SID.ir
- Sahin, N., Orhan, C., Tuzcu, M., Juturu, V., & Sahin, K. (2017). Capsaicinoids improve egg production by regulating ovary nuclear transcription factors against heat stress in quail. *British Poultry Science*, 58(2), 177–183. <https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1262001>
- Saleem, A., Naureen, I., Naeem, M., Tasleem, G., Ahmed, H., & Farooq, U. (2022). Therapeutic Role of Piper nigrum L (Black Pepper) and Pharmacological Activities. *Scholars International Journal of Biochemistry*, 5(1), 15–21. <https://doi.org/10.36348/sijb.2022.v05i01.003>
- Sampath, V., Shanmugam, S., Park, J. H., & Kim, I. H. (2020). The effect of black pepper (Piperine) extract supplementation on growth performance,

- nutrient digestibility, fecal microbial, fecal gas emission, and meat quality of finishing pigs. *Animals*, 10(11), 1–11.
<https://doi.org/10.3390/ani10111965>
- Sánchez, E., Celaya, H., & Barrera, M. A. (2023). El calentamiento global está afectando a todos los cerdos del mundo. *Revista Digital Universitaria*, 24(2).
<https://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2023.24.2.3>
- Ścibior, D., & Czeczot Katedra Zakład Biochemii Akademii Medycznej Warszawie, H. (2006). *Katalaza-budowa, właściwości, funkcje Catalase: structure, properties, functions*.
http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/8969.pdf
- Sejian, V., Bhatta, R., Gaughan, J. B., Dunshea, F. R., & Lacetera, N. (2018). Review: Adaptation of animals to heat stress. In *Animal* (Vol. 12, Issue s2, pp. S431–S444). Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/S1751731118001945>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). *Anuario Estadístico de la Producción Ganadera*. Producción, Precio, Valor, Animales Sacrificados y Peso de Carne En Canal 2023.
- Shah, P., & Modi, H. A. (2015). *Comparative Study of DPPH, ABTS and FRAP Assays for Determination of Antioxidant Activity*.
<https://www.researchgate.net/publication/307464470>
- Siregar, R. S., Widiyastuti, Y., Siregar, M. S., & Silalahi, M. (2024). GINGER AS AN ANIMAL FEED ADDITIVE: AN OVERVIEW. *J Animal Plant Sci*, 34(1), 31–49.
- SKI, V. (2016). Heat Stress and Its Mitigation Strategies: A Review. *Open Access Journal of Veterinary Science & Research*, 1(1).
<https://doi.org/10.23880/oajvsr-16000102>
- Stojanović, O., Miguel-Aliaga, I., & Trajkovski, M. (2022). Intestinal plasticity and metabolism as regulators of organismal energy homeostasis. *Nature Metabolism*, 4(11), 1444–1458. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00679-6>
- Suzuki, T. (2013a). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 70, Issue 4, pp. 631–659). <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1070-x>
- Suzuki, T. (2013b). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 70, Issue 4, pp. 631–659). <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1070-x>

- Suzuki, T. (2020). Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. In *Animal Science Journal* (Vol. 91, Issue 1). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1111/asj.13357>
- Suzuki, T., Motohashi, H., & Yamamoto, M. (2013). Toward clinical application of the Keap1-Nrf2 pathway. In *Trends in Pharmacological Sciences* (Vol. 34, Issue 6, pp. 340–346). <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.04.005>
- Theusme, C., Avendaño-Reyes, L., Macías-Cruz, U., Correa-Calderón, A., García-Cueto, R. O., Mellado, M., Vargas-Villamil, L., & Vicente-Pérez, A. (2021). Climate change vulnerability of confined livestock systems predicted using bioclimatic indexes in an arid region of México. *Science of the Total Environment*, 751. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141779>
- Trigo, J., Daniel, L., & Zequeira, E. B. (2006). *Rev Cubana Invest Biomed* 2006;25(2): Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo.
- Uudsemaa, M., & Tamm, T. (2003). Density-functional theory calculations of aqueous redox potentials of fourth-period transition metals. *Journal of Physical Chemistry A*, 107(46), 9997–10003. <https://doi.org/10.1021/jp0362741>
- Vásquez, N., Cervantes, M., Bernal-Barragán, H., Rodríguez-Tovar, L. E., & Morales, A. (2022). Short- and Long-Term Exposure to Heat Stress Differently Affect Performance, Blood Parameters, and Integrity of Intestinal Epithelia of Growing Pigs. *Animals*, 12(19). <https://doi.org/10.3390/ani12192529>
- Villanacci, V., Del Sordo, R., Lanzarotto, F., Ricci, C., Sidoni, A., Manenti, S., Mino, S., Bugatti, M., & Bassotti, G. (2024). Claudin-2: A marker for a better evaluation of histological mucosal healing in inflammatory bowel diseases. *Digestive and Liver Disease*. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2024.08.001>
- Weber, C. R., & Turner, J. R. (2007). Inflammatory bowel disease: Is it really just another break in the wall? In *Gut* (Vol. 56, Issue 1, pp. 6–8). <https://doi.org/10.1136/gut.2006.104182>
- Wu, Z., Tian, E., Chen, Y., Dong, Z., & Peng, Q. (2023). Gut microbiota and its roles in the pathogenesis and therapy of endocrine system diseases. In *Microbiological Research* (Vol. 268). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127291>
- Xiong, X., Tan, B., Song, M., Ji, P., Kim, K., Yin, Y., & Liu, Y. (2019). Nutritional intervention for the intestinal development and health of

- weaned pigs. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 6, Issue FEB). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00046>
- Xiong, Y., Cao, S., Xiao, H., Wu, Q., Yi, H., Jiang, Z., & Wang, L. (2022). Alterations in intestinal microbiota composition coincide with impaired intestinal morphology and dysfunctional ileal immune response in growing-finishing pigs under constant chronic heat stress. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00651-6>
- Yamamoto, X. M., Kensler, T. W., & Motohashi, H. (2018). THE KEAP1-NRF2 SYSTEM: A THIOL-BASED SENSOR-EFFECTOR APPARATUS FOR MAINTAINING REDOX HOMEOSTASIS. *Physiol Rev*, 98, 1169–1203. <https://doi.org/10.1152/physrev.00023>
- Yi, G., Li, L., Luo, M., He, X., Zou, Z., Gu, Z., & Su, L. (2017). *Heat stress induces intestinal injury through lysosome-and mitochondria-dependent pathway in vivo and in vitro*. www.impactjournals.com/oncotarget
- Yu, S., He, J., & Xie, K. (2023). Zonula Occludens Proteins Signaling in Inflammation and Tumorigenesis. In *International Journal of Biological Sciences* (Vol. 19, Issue 12, pp. 3804–3815). Ivyspring International Publisher. <https://doi.org/10.7150/ijbs.85765>
- Zhang, S., Xiang, Y., Jian, Y., Zhao, Q., Sun, J., Huang, Y., Xu, J., Qi, X., Li, J., Zheng, Z., Fu, L., Liu, Y., & Li, X. (2025). Uncovering Molecular Mechanisms of Feed Efficiency in Pigs Through Multi-Omics Analysis of the Jejunum. *Animals*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/ani15020137>
- Zhang, W., Zhang, Y., Fan, J., Feng, Z., & Song, X. (2024). Pharmacological activity of capsaicin: Mechanisms and controversies (Review). *Molecular Medicine Reports*, 29(3). <https://doi.org/10.3892/mmr.2024.13162>
- Zhao, H., Zhang, R., Yan, X., & Fan, K. (2021). Superoxide dismutase nanozymes: an emerging star for anti-oxidation. In *Journal of Materials Chemistry B* (Vol. 9, Issue 35, pp. 6939–6957). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d1tb00720c>
- Zhao, X., Dong, B., Friesen, M., Liu, S., Zhu, C., & Yang, C. (2021). Capsaicin Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Barrier Dysfunction in Intestinal Porcine Epithelial Cell Line-J2. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.715469>