

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS**



**”EFECTO DE ARGININA EN LA PÉRDIDA ENDÓGENA,  
DIGESTIBILIDAD ILEAL Y CONCENTRACIÓN SÉRICA DE  
AMINOÁCIDOS EN CERDOS EN ESTRÉS POR CALOR”**

**T E S I S**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA:**

**JOSE ALAN VALLE FIMBRES**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. MIGUEL CERVANTES RAMÍREZ**

Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, México; junio de 2024.

La presente tesis titulada "Efecto de arginina en la pérdida endógena, digestibilidad ileal y concentración sérica de aminoácidos en cerdos en estrés por calor", fue realizada por el **C. José Alan Valle Fimbres**, dirigida por el **Dr. Miguel Cervantes Ramírez**, ha sido evaluada y aprobada por el Comité Particular abajo indicado, como requisito para obtener el grado de: **Doctor en Ciencias Agropecuarias**

### COMITÉ PARTICULAR

DIRECTOR 

Dr. Miguel Cervantes Ramírez

SINODAL 

Dra. Adriana Morales Trejo

SINODAL 

Dra. Reyna Lucero Camacho Morales

SINODAL 

Dra. María Teresa Viana Castrillón

SINODAL 

Dr. Gilberto Castillo Luna

**"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**

Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, México; junio de 2024

## **Agradecimientos**

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Miguel Cervantes por creer en mí y aceptarme como su estudiante. Su constante guía y estímulo me motivaron a continuar en el camino de la investigación. Me siento privilegiado de haber estado bajo su tutela.

A la Dra. Adriana Morales, por estar siempre presente durante esta etapa, además de las sugerencias y los comentarios en la elaboración de este documento.

A la Dra. Lucero Camacho, por su valioso apoyo en el laboratorio y las sugerencias en la redacción de este trabajo.

A la Dra. Teresa Viana, por su apoyo y comentarios en la revisión de este documento que enriquecieron mi trabajo.

Al Dr. Gilberto Castillo, por su invaluable apoyo brindado con las cirugías de los cerdos, su amistad y las correcciones hechas a este documento.

Al Dr. Néstor Arce, por las facilidades prestadas en la Unidad Experimental Porcina y su apoyo durante los experimentos.

Al PhD. Ruurd Zijlstra y al PhD. Eduardo Beltranena, por su cálido recibimiento, apoyo y atenciones durante mi estancia en la Universidad de Alberta.

A todos los integrantes del Cuerpo Académico de Nutrición Animal (CANA), por su valioso apoyo y los magníficos momentos de amistad.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico proporcionado durante la realización de mis estudios de posgrado.

Al Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y orgullosamente formar parte de esta institución.

## **Dedicatoria**

A mis padres Eva y Ramón, por su apoyo moral y amor infinito. Su fe en mí ha sido el pilar en este logro. Que este sea un pequeño reconocimiento hacia ustedes por todo lo que han aportado en mi vida.

A mis hermanos Abraham, Czarina y Linda, que siempre estuvieron cuando mas los necesitaba.

A mis sobrinos Erick, Itzamar, Rebeca y Raquel, que este logro represente un estímulo para seguir adelante.

A Fernanda, agradezco de corazón tu paciencia y tu espera. Has sido en los últimos años mi inspiración y motivación para ser mejor. Gracias por recorrer este camino conmigo, te amo.

## Contenido

Índice de cuadros .....	8
Índice de figuras .....	11
Lista de abreviaturas.....	12
Resumen .....	14
Abstract.....	16
1. Introducción.....	18
2. Revisión de literatura .....	21
2.1. Función y estructura del intestino delgado .....	21
2.3. Pérdida ileal de aminoácidos endógenos, métodos de estimación y factores que la afectan .....	25
2.3.1. Métodos de estimación de las pérdidas de aminoácidos endógenos en cerdos .....	26
2.3.2 Dietas libres de nitrógeno.....	27
2.3.3 Dietas con proteínas hidrolizadas enzimáticamente.....	28
2.3.4 Dietas con proteínas purificadas altamente digestibles.....	28
2.3.6 Factores que afectan la pérdida endógena de aminoácidos en cerdos	29
2.4. Determinación de la digestibilidad de aminoácidos .....	31
2.4.1 Digestibilidad ileal aparente .....	31
2.4.2 Digestibilidad ileal verdadera .....	32
2.4.3 Digestibilidad ileal estandarizada .....	33
2.5. Efecto del estrés por calor en la pérdida endógena y la digestibilidad de aminoácidos .....	34
2.6. Estrategias nutricionales para reducir los efectos del EC cerdos.....	34
3. Hipótesis .....	36
4. Objetivos .....	37
4.1 Objetivo general .....	37
4.2 Objetivos específicos.....	37
5. Materiales y métodos .....	38
5.1 Generalidades.....	38
5.2. Implantación de cánulas en íleon terminal de los cerdos .....	39
5.2.1 Animales.....	39

5.2.2 Preparación de las cánulas .....	39
5.2.3 Procedimiento quirúrgico .....	39
5.2.4 Cuidados postoperatorios .....	41
5.3 Experimento 1: Efecto de arginina en la pérdida endógena de aminoácidos en cerdos en estrés por calor .....	42
5.3.1 Tratamientos y procedimiento experimental .....	42
5.3.2 Muestreo de digesta, frecuencia respiratoria y temperatura intestinal .	44
5.3.3 Procesamiento de muestras y análisis de laboratorio .....	45
5.3.4 Análisis estadístico .....	45
5.4 Experimento 2: Efecto de arginina en la digestibilidad ileal, concentración de aminoácidos y metabolitos séricos.....	46
5.4.1 Animales, alojamiento y dietas experimentales .....	46
5.4.2 Muestreo sanguíneo, colecta de digesta ileal y temperatura intestinal	49
5.4.3 Procesamiento de muestras y análisis de laboratorio .....	50
5.4.4 Análisis estadístico .....	50
6 Resultados y discusión .....	52
6.1 Efecto de arginina en la pérdida endógena de aminoácidos en cerdos en estrés por calor (Experimento 1) .....	52
6.1.1 Resultados .....	52
6.1.1.1 Temperatura ambiente .....	52
6.1.1.2 Temperatura intestinal .....	53
6.1.1.3 Frecuencia respiratoria .....	54
6.1.1.4 Composición de aminoácidos de la digesta ileal .....	54
6.1.2 Discusión .....	63
6.1.3 Conclusión .....	70
6.2 Efecto de arginina en la digestibilidad ileal, concentración de aminoácidos y metabolitos séricos (Experimento 2).....	71
6.2.1 Resultados .....	71
6.2.1.1 Temperatura ambiente .....	71
6.2.1.2 Temperatura intestinal .....	71
6.2.1.3 Flujo ileal de aminoácidos de la digesta .....	72
6.2.1.4 Digestibilidad ileal aparente de aminoácidos .....	74
6.2.1.5 Digestibilidad ileal estandarizada de aminoácidos .....	76

<b>6.2.1.6 Concentración sérica de aminoácidos y metabolitos .....</b>	<b>78</b>
<b>6.2.2 Discusión .....</b>	<b>82</b>
<b>6.2.3 Conclusión .....</b>	<b>90</b>
<b>7 Conclusión general .....</b>	<b>91</b>
<b>8 Literatura consultada .....</b>	<b>92</b>

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b>	Combinación de ingredientes incorporados a las dietas experimentales semi purificadas (Exp. 1).....	43
<b>Cuadro 2.</b>	Contenido analizado de aminoácidos (g/kg) de la dieta experimental base semipurificada (Exp. 1).....	44
<b>Cuadro 3.</b>	Combinación de ingredientes incorporados a las dietas experimentales (% , tal como se ofrece) .....	48
<b>Cuadro 4.</b>	Contenido analizado de aminoácidos y proteína cruda (g/kg) de la dieta basal (tal como se ofrece) .....	49
<b>Cuadro 5.</b>	Composición (%) de aminoácidos esenciales en la digesta intestinal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con Arg (EC-Arg) .....	55
<b>Cuadro 6.</b>	Composición (%) de aminoácidos no esenciales en la digesta intestinal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o dieta base adicionada con Arg (EC-Arg) .....	56
<b>Cuadro 7.</b>	Recuperación diaria (g/d) de aminoácidos esenciales de la digesta ileal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con Arg (EC-Arg) .....	59
<b>Cuadro 8.</b>	Recuperación diaria (g/d) de aminoácidos no esenciales de la digesta ileal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta	

base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con Arg (EC-Arg) ..... 60

**Cuadro 9.** Recuperación (g/kg MS consumida) de aminoácidos endógenos esenciales de la digesta ileal de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base suplementada con Arg (EC-Arg)..... 61

**Cuadro 10.** Recuperación (g/kg MS consumida) de aminoácidos endógenos no esenciales de la digesta ileal de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base suplementada con Arg (EC-Arg)..... 62

**Cuadro 11.** Flujo ileal total (g/d) de aminoácidos de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg) ..... 73

**Cuadro 12.** Digestibilidad ileal aparente de aminoácidos en cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg) ..... 75

**Cuadro 13.** Digestibilidad ileal estandarizada (%) de aminoácidos en cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con Arg (EC-Arg). ..... 77

**Cuadro 14.** Concentración de aminoácidos en suero sanguíneo ( $\mu\text{g/ml}$ ) de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg)..... 79

**Cuadro 15.** Concentración sérica de metabolitos ( $\text{mg/dL}$ ) de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con Arg (EC-Arg)..... 81

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	Mapa de distribución nacional de las Unidades de Producción Porcina en México (SENASICA, 2021).....	18
<b>Figura 2.</b>	Descripción esquemática de los sitios de digestión y absorción de proteínas en el tracto digestivo de los cerdos .....	23
<b>Figura 3.</b>	Temperatura ambiente promedio registrada a intervalos de 15 minutos dentro de las salas termoneutral (TN) y estrés por calor (EC) durante los 9-d del estudio .....	52
<b>Figura 4.</b>	Temperatura intestinal promedio de los cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o adicionada con arginina (EC-Arg), registrada a intervalos de 5 minutos durante los 9-d del estudio.....	53
<b>Figura 5.</b>	Frecuencia respiratoria expresada como el número promedio de expansiones abdominales por minuto en cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg), contadas a las 0700 (mañana) y tarde (1700) horas .....	54
<b>Figura 6.</b>	Temperatura ambiente promedio registrada a intervalos de 15 minutos dentro de las salas termoneutral (TN) y estrés por calor (EC) durante los 7-d del estudio .....	71
<b>Figura 7.</b>	Temperatura intestinal promedio de los cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta basal (EC-B) o adicionada con arginina (EC-Arg), registrada a intervalos de 5 minutos durante los 7 días del estudio .....	72

## Lista de abreviaturas

AA	Aminoácido
AAs	Aminoácidos
Ala	Alanina
Arg	Arginina
ARNm-	Ácido ribonucleico mensajero
Asp	Aspartato
Cis	Cisteína
CS	Concentración sérica
CVA	Consumo voluntario de alimento
DA	Daltons
DIA	Digestibilidad Ileal aparente
DIE	Digestibilidad Ileal estandarizada
DIV	Digestibilidad Ileal verdadera
EC	Estrés por calor
Fen	Fenilalanina
FR	Frecuencia respiratoria
Gli	Glicina
Gln	Glutamina
Glu	Glutamato
His	Histidina
ID	Intestino delgado
Ile	Isoleucina

Leu	Leucina
Lis	Lisina
Met	Metionina
MS	Materia seca
ON	Óxido nítrico
Orn	Ornitina
Pro	Prolina
SAM	S-adenosil-L-metionina
TA	Temperatura ambiente
TC	Temperatura corporal
Termoneutral	TN
TI	Temperatura intestinal
Tir	Tirosina
Tre	Treonina
Trp	Triptofano
Val	Valina

## Resumen

En cerdos expuestos al estrés por calor (EC) se incrementa la muerte de las células intestinales, lo que resulta en un aumento en la pérdida endógena de aminoácidos (AAs) y deterioro del epitelio intestinal. La Arginina (Arg) es un aminoácido precursor de la síntesis de poliaminas para la proliferación de las células intestinales, que contribuye a restaurar el epitelio del intestino delgado. Se analizó el efecto de la adición de Arg a las dietas para cerdos en EC sobre la pérdida endógena de AAs (experimento 1); digestibilidad de una dieta convencional y concentración de AAs y metabolitos en suero sanguíneo (experimento 2). Se emplearon doce cerdos ( $23.1 \pm 1.1$  kg de peso corporal) a los cuales les fue implantada quirúrgicamente una cánula tipo T al final del íleon, al final de la cirugía se alojaron en corrales individuales, y se les permitieron 15 días de recuperación en condiciones termoneutrales (TN) ( $22 \pm 2$  °C). Para el primer experimento los cerdos se asignaron aleatoriamente a uno de tres tratamientos: 1) cerdos TN alimentados con una dieta basal semi purificada de almidón de maíz y caseína al 3% (TN-B); 2) cerdos en EC con dieta basal (EC-B); 3) cerdos en EC alimentados con la dieta basal suplementada con 0.20% de L-arginina (EC-Arg). El experimento consistió en dos períodos de 9 días; cada uno consistió en siete días de adaptación a su respectiva dieta, seguido de un período de colecta de digesta ileal de dos días. La digesta se recolectó por 12 horas consecutivas cada día. Los cerdos se alimentaron dos veces al día con la misma cantidad de alimento en cada horario. La temperatura ambiente (TA) de las salas TN y EC osciló entre 18.6 y 27.6 °C, y entre 29.5 y 40.7 °C, respectivamente. La temperatura intestinal semejó al patrón de la TA. La pérdida endógena de AAs esenciales aumentó ( $P < 0.01$ ) en los cerdos EC-B en comparación con los cerdos TN-B y EC-Arg; sin embargo, no hubo diferencia en la pérdida endógena de AAs entre los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P > 0.05$ ). Con la excepción de serina, las pérdidas endógenas diarias de AAs no esenciales en cerdos EC-B fueron mayores ( $P < 0.01$ ) en comparación con las de los cerdos TN-B y EC-Arg. En el segundo experimento los cerdos se asignaron de nuevo a uno de tres tratamientos de forma aleatoria: 1) TN-B; cerdos en condiciones TN alimentados con una dieta basal; 2) EC-B, cerdos en EC alimentados con la dieta

basal; 3) EC-Arg, cerdos en EC alimentados con la dieta basal suplementada con 0.20% de L-arginina. La dieta basal se elaboró con trigo, pasta de soya y AA libres. El estudio se efectuó en dos períodos de siete días cada uno. Durante el primero, todos los cerdos se mantuvieron en condiciones de EC; en el segundo, los cerdos se alojaron en una sala con ambiente controlado (TN). Después de cinco días de adaptación a su respectiva dieta, seguido de un período de colecta de digesta ileal de dos días. La digesta se recolectó por 12 horas continuas. La temperatura ambiente de las salas TN y EC osciló entre 18.6 y 27.6 °C y entre 28.9 y 39.3 °C, respectivamente. Los cerdos del tratamiento EC-Arg mostraron mayor digestibilidad de Arg, Trp ( $P < 0.05$ ) y una tendencia a mayor digestibilidad de Fen ( $P < 0.10$ ) comparados con cerdos EC-B. La concentración sérica de AA esenciales Arg, His, Lis, Met, y no esenciales como Gln, Gli, Ser y Tir fue mayor ( $P < 0.05$ ) en los cerdos EC-Arg en comparación de los cerdos EC-B. Se observó mayor concentración de ornitina y urea ( $P < 0.01$ ) y tendencia a ser mayor la concentración del ácido  $\alpha$ -aminoadípico y etanolamina ( $P < 0.10$ ) en el grupo de cerdos EC-Arg comparados con cerdos EC-B. En resumen, la exposición de cerdos a condiciones de EC en comparación con las condiciones de TN incrementa la pérdida de AAs endógenos. Sin embargo, la suplementación de la dieta con Arg ayudó a contrarrestar los efectos negativos del EC al reducir la pérdida endógena de AAs, mejorar la absorción de algunos AAs, y modificar el perfil de metabolitos séricos, probablemente al recuperar la función del epitelio intestinal deteriorada por el estrés por calor.

## Abstract

In pigs under heat stress (HS), intestinal cell death increases, resulting in an increased endogenous loss of amino acids (AAs) and deterioration of intestinal epithelium. Arginine (Arg) is an amino acid precursor to the synthesis of polyamines for the proliferation of intestinal cells, which contributes to restoring the small intestine epithelium. Therefore, the effect of adding L-arginine to diets for HS pigs on the endogenous AA loss (experiment 1), digestibility of a conventional diet, and serum concentration of AA and metabolites (experiment 2) were analyzed. Twelve pigs ( $23.1 \pm 1.1$  kg BW) in which a T-type cannula was surgically implanted at the end of the ileum. At the end of the surgery, they were housed in individual pens, and they were allowed 15 days of recovery under thermoneutral (TN) conditions ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ). For the first experiment, pigs were randomly assigned to one of three treatments: 1) TN pigs fed a semi-purified basal diet of corn starch and 3% casein (TN-B); 2) pigs in HS fed with basal diet (HS-B); 3) HS pigs fed basal diet supplemented with 0.20% L-arginine (HS-Arg). The experiment consisted of two 9-day periods; each consisted of seven days of adaptation to their respective diet, followed by a two-day ileal digesta collection period. The digesta was collected for 12 consecutive hours each day. The pigs were fed twice daily with the same amount each time. The ambient temperature (AT) of the TN and HS rooms ranged between  $18.6$  and  $27.6^\circ\text{C}$ , and between  $29.5$  and  $40.7^\circ\text{C}$ , respectively. Intestinal temperature resembled the AT pattern. Endogenous loss of essential AAs was increased ( $P < 0.01$ ) in HS-B pigs compared with TN-B and HS-Arg pigs; however, there was no difference in the endogenous loss of AAs between TN-B and HS-Arg pigs ( $P > 0.05$ ). With the exception of serine, daily endogenous losses of non-essential AAs in HS-B pigs were greater ( $P < 0.01$ ) compared with those in TN-B and HS-Arg pigs. In the second experiment the pigs were again randomly assigned to one of three treatments: 1) TN-B; pigs in TN conditions fed a basal diet; 2) HS-B, pigs in HS fed with the basal diet; 3) HS-Arg, HS pigs fed with a basal diet supplemented with 0.20% L-arginine. The basal diet consisted of wheat, soybean meal, and free AAs. The study was carried out in two periods of seven days each. During the first, all pigs were kept under HS conditions; In the second, the pigs were housed in a room with

a controlled environment (TN). After five days of adaptation to their respective diet, followed by a two-day ileal digesta collection period. The digesta was collected for 12 continuous hours. The ambient temperature of the TN and HS rooms ranged between 18.6 and 27.6 °C, and 28.9 and 39.3 °C, respectively. Pigs in the HS-Arg treatment showed greater digestibility of arginine and triptofan ( $P < 0.05$ ) and a trend greater digestibility of phenylalanine ( $P < 0.10$ ) compared to HS-B pigs. The serum concentration of essential AAs arginine, histidine, lysine, methionine, and non-essential AAs such as glutamine, glycine, serine, and tyrosine was higher ( $P < 0.05$ ) in HS-Arg pigs compared to HS-B pigs. A higher concentration of ornithine and urea ( $P < 0.01$ ) and a tendency towards a higher concentration of  $\alpha$ -aminoadipic acid and ethanolamine ( $P < 0.10$ ) were observed in the group of HS-Arg pigs compared to HS-B pigs. In summary, exposure of pigs to HS conditions compared to TN conditions increases the loss of endogenous AAs. However, dietary supplementation with Arg helped to counteract the negative effects of HS by reducing endogenous loss of AA, improving the absorption of some of them, and modifying the serum metabolites profile, probably by recovering intestinal epithelial function impaired by heat stress.

## 1. Introducción

La porcicultura en México es una actividad pecuaria de gran importancia económica. Con un consumo de carne de cerdo de 19 kg por persona al año, le confiere el segundo lugar como fuente de proteína más consumida en el país, después del pollo. La producción porcina se ubica prácticamente en todos los estados del país (Figura 1), con un registro de 2,553 unidades de producción porcina tecnificadas y semitecnificadas (SIAP, 2019). Jalisco, Sonora y Puebla son los principales estados productores, aportando en conjunto cerca del 50% de la producción nacional (SENASICA, 2021).

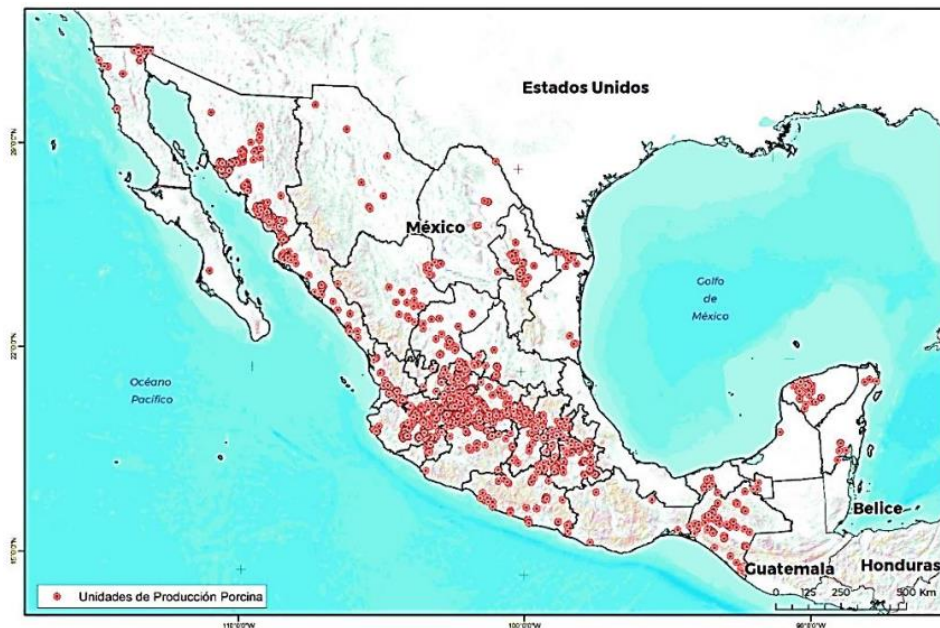


Figura 1. Mapa de la distribución nacional de las Unidades de Producción Porcina en México, 2018. (Adaptado de SENASICA, 2021)

Sin embargo, la producción de cerdos en estos tres estados y en la mayor parte del país se ve mermada durante la época más cálida del año, donde se puede alcanzar una temperatura ambiente (TA) que supera los 35 °C (CONAGUA, 2021). El aumento en la TA provocado por el calentamiento global amenaza a la producción porcina para los próximos años, lo que generará un gran desafío para la industria,

especialmente en las regiones más cálidas (Rojas *et al.*, 2017). Además, algunas simulaciones climáticas pronostican un aumento en el número, frecuencia e intensidad de olas de calor, aumentando significativamente la temperatura global (NASA, 2021).

Los cerdos son una de las especies de ganado más sensibles a los cambios de TA (Ortega *et al.*, 2021). Su exposición a temperaturas superiores a su zona termoneutral (TN), que va de los 16 a 22 °C para la etapa de crecimiento y finalización (Coffey *et al.*, 1995), tiene como consecuencia el estrés por calor (EC) que compromete su bienestar y productividad (Yu *et al.*, 2010; Baumgard *et al.*, 2013). Los cerdos bajo condiciones ambientales de EC manifiestan cambios en su comportamiento y fisiología, siendo el principal efecto negativo para la producción animal la disminución del consumo voluntario de alimento (CVA), considerado por algunos autores como un mecanismo natural y adaptativo que utilizan los animales para contrarrestar el aumento de la generación de calor metabólico (Quiniou *et al.*, 2000; Collin *et al.*, 2001; Renaudeau *et al.*, 2013). De acuerdo con la intensidad y duración de la exposición al calor (estrés por calor agudo o crónico), el consumo de alimento puede decaer del 15% (Kerr *et al.*, 2003) hasta un 40% (Morales *et al.*, 2018) en comparación con cerdos en condiciones TN. En un intento por disipar el calor corporal durante el EC, los cerdos desvían el flujo de sangre hacia la piel, reduciendo el gasto de sangre, nutrientes y oxígeno que llega a las células del intestino (Collin *et al.*, 2001; Ogoh *et al.*, 2013). Debido a la menor concentración de oxígeno que llega a las células intestinales se aumenta la liberación de radicales libres (Boveris *et al.*, 1973), resultando en daños en el epitelio intestinal, y por consecuencia, la muerte celular y con ello la reducción en la altura de las vellosidades (Liu *et al.*, 2009; Pearce *et al.*, 2013, 2014). Lo anterior implica menor cantidad de células responsables de la absorción (enterocitos) y menor superficie de contacto con la digesta que, en conjunto, podría comprometer tanto el proceso de digestión como la absorción de los nutrientes de la dieta (Morales *et al.*, 2014; Gabler y Pearce, 2015).

Es posible aplicar estrategias nutricionales para reducir el impacto negativo del EC como la adición de aminoácidos (AAs) libres a la dieta, particularmente la suplementación con arginina (Arg), que ha mostrado una aparente recuperación del epitelio intestinal aumentando la relación de altura de las vellosidades y profundidad de las criptas en el intestino delgado (ID; Morales *et al.*, 2021). Considerando que el aumento en la altura de las vellosidades implica una mayor área de absorción (Caspary, 1992), se podría esperar una mejora en la digestibilidad de la proteína y una mayor absorción de los AAs de la dieta. Presumimos que la suplementación de las dietas con Arg extra puede ayudar a la recuperación de células del epitelio intestinal, mejorando la digestión y absorción de AAs de la dieta de cerdos en EC.

## 2. Revisión de literatura

### 2.1. Función y estructura del intestino delgado

El intestino delgado es un órgano complejo y altamente organizado que cumple muchas funciones importantes, incluidas la digestión, la absorción de nutrientes, la función endócrina y la inmunidad (Hickey *et al.*, 2023). Probablemente la función más importante es transformar los nutrientes de los alimentos para que sean absorbibles y utilizables por el cuerpo. Al ID lo conforman tres segmentos: duodeno, yeyuno e íleon. En cerdos maduros, la longitud del ID es entre 16 a 21 m, alrededor del 5% es duodeno, del 88 al 91% constituye el yeyuno y 4 a 5% íleon (Yen, 2001). Morfológicamente, el ID está construido por pliegues, vellosidades y microvellosidades en la superficie que, en comparación a un tubo cilíndrico simple, estas estructuras incrementan la superficie de absorción del epitelio (Caspary, 1987). La absorción consiste en el transporte de sustratos desde la luz intestinal hacia la sangre o el sistema linfático a través de la barrera de las células epiteliales de la mucosa (Farré *et al* 2020). El epitelio intestinal es una capa unicelular que constituye la barrera más importante contra el ambiente externo. El epitelio no es una capa recta de células, sino que consta de invaginaciones denominadas “criptas de Lieberkühn” (Spence *et al.*, 2011). Comúnmente se cree que las criptas contienen aproximadamente seis células madre independientes, que dan lugar a células proliferativas transitorias que se diferencian y maduran a medida que viajan al ápice de la vellosidad, donde eventualmente se desprenden hacia la luz intestinal (Crosnier *et al.*, 2006; van der Flier y Clevers, 2009). Las criptas se someten a ciclos constantes para la reposición celular, en condiciones normales u homeostáticas, se estima que cada célula epitelial tiene una vida media de 4 a 5 días, pasado este lapso inevitablemente se conducen a la apoptosis (Clevers, 2013). En las vellosidades se pueden distinguir varios tipos de células diferenciadas: 1) Enterocitos; que representan la mayor población en las vellosidades y son responsables de la absorción de nutrientes. Su principal característica es poseer un abundante número de microvellosidades orientadas hacia la luz intestinal. 2) Células goblet o caliciformes; secretan mucinas que son necesarias para el movimiento del contenido intestinal y brindan protección contra microorganismos

patógenos (Karam, 1999). 3) Células enteroendócrinas; coordinan el funcionamiento intestinal y secretan hormonas peptídicas específicas; existen hasta 15 subtipos diferentes y se encuentran dispersas como células individuales por toda la mucosa, representando aproximadamente el 1% de las células que recubren la luz intestinal. Y 4) Células de Paneth, residen en la base de la cripta y tienen una función de inmunidad innata y defensa antibacteriana. Para ello, secretan péptidos como defensinas, bactericidas, lisozimas, entre otras (van der Flier y Clevers, 2009). Se estima que las células de Paneth tienen una esperanza de vida de al menos tres semanas (Bjerknes *et al.*, 1981). En conjunto, los grupos diferenciados de células del epitelio intestinal forman una sola capa que recubre la luz intestinal y tienen dos funciones críticas. Primero, actúan como una barrera para prevenir el paso de material intraluminal dañino, incluidos antígenos extraños, microorganismos nocivos y sus toxinas (Blikslager *et al.*, 2007). Segundo, cumplen como un filtro selectivo, permitiendo la translocación de electrolitos, agua y nutrientes esenciales de la dieta, desde la luz intestinal hacia el torrente sanguíneo (Kunzelmann *et al.*, 2002; Bröer, 2008).

## **2.2. Digestión intestinal de la proteína**

La mayoría de los nutrientes del alimento se ingieren en una forma compleja para su absorción. Es decir, en forma insoluble y, por tanto, indigerible. Dentro del tracto gastrointestinal, muchas de estas sustancias se solubilizan (digestión) y se degradan enzimáticamente a moléculas simples de tamaño lo suficientemente pequeño y en una forma que permite su absorción a través del epitelio intestinal (Hornbuckle *et al.*, 2008). Las proteínas son polímeros de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos y aunque muchos compuestos en el cuerpo se pueden definir químicamente como aminoácidos, desde un punto de vista nutricional sólo nos interesan los 20 AAs codificados en el ADN (Watford *et al.*, 2018). La digestión de proteínas en los mamíferos se produce a lo largo del tracto gastrointestinal, inicia por la acción de la pepsina en el estómago a un pH ácido (Heda *et al.*, 2023), seguida de varias proteasas en la luz intestinal en un ambiente alcalino (Ghassan *et al.*, 2011). Esto produce oligopéptidos y AAs que luego son absorbidos por los enterocitos a través de transportadores específicos (Henning, 1985).

En la Figura 2 se muestra un diagrama simplificado de la digestión de proteínas en animales no rumiantes.

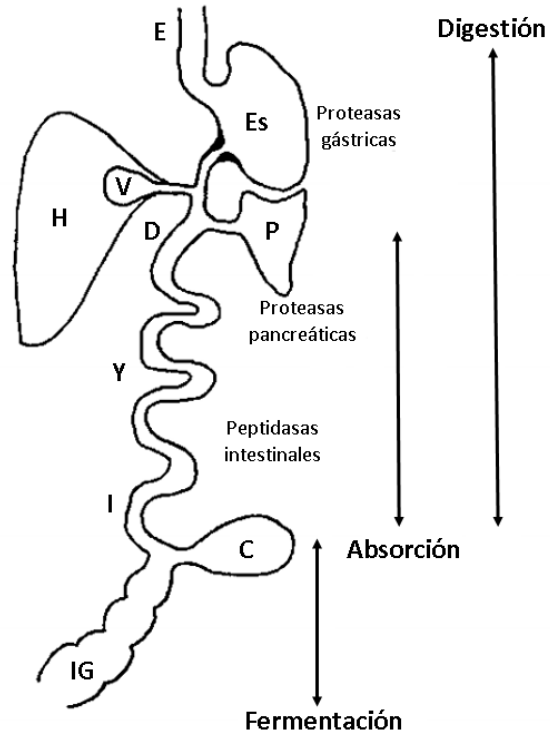


Figura 2. Descripción esquemática de los sitios de digestión y absorción de proteínas en el tracto digestivo de los cerdos. E= Esófago, Es= Estómago, P= Páncreas, H= Hígado, V= Vesícula biliar, D= Duodeno, Y= Yeyuno, I= Íleon, C= Ciego, IG= Intestino grueso. (Adaptado de Makkink, 1993)

La primera etapa de la digestión de la proteína dietética inicia en el estómago, el cual secreta una mezcla de compuestos conocidos colectivamente como "jugo gástrico". El jugo gástrico comprende agua, moco, ácido clorhídrico y pepsina. El pepsinógeno es el precursor inactivo de la pepsina, enzima implicada en la digestión de proteínas, descomponiéndolas en péptidos más pequeños que pueden continuar su digestión en el ID (Neurath y Walsh, 1976). Los péptidos parcialmente digeridos pasan del estómago al duodeno, la primera y más corta sección del ID, y se mezclan con las secreciones pancreáticas que contienen enzimas digestivas (Kim y Duarte, 2021). Las enzimas del páncreas son responsables de la mayor parte de la hidrólisis de proteínas a lo largo del ID.

El páncreas secreta dos tipos de peptidasas: 1) Endopeptidasas como la tripsina, la quimotripsina y la elastasa que atacan los enlaces peptídicos dentro de la longitud de la cadena y libera péptidos más pequeños y 2) Exopeptidasas que atacan los enlaces peptídicos carboxi-terminales o amino-terminales, liberando AAs individuales (Ruthenbürger *et al.*, 2006). Ambos grupos de enzimas proteolíticas actúan de forma complementaria, produciendo finalmente una mezcla de di, tri y oligopéptidos, así como AAs libres. Los pasos finales en la digestión de péptidos están asociados con las células epiteliales de la mucosa, como el enterocito. A medida que los enterocitos migran desde la cripta hacia la punta de las vellosidades, experimentan maduración tanto estructural como funcional, aumentando la expresión de enzimas digestivas y proteínas transportadoras específicas (Buddington *et al.*, 2003). Las enzimas responsables de las etapas terminales de la digestión de proteínas generalmente están ancladas en la membrana de las microvellosidades mediante una pequeña terminal hidrófoba y tienen un sitio activo expuesto a la luz intestinal (Hall *et al.*, 2013). La enteroquinasa de la membrana apical del enterocito es responsable de la activación del tripsinógeno pancreático, que al escindir un octapéptido terminal, da como resultado la activación de la tripsina (Kitamoto *et al.*, 1994; Hall *et al.*, 2013). Las proteínas transportadoras atraviesan tanto la membrana apical como la basolateral y, mediante cambios conformacionales, transportan AAs hacia y desde el enterocito (Bröer, 2008).

Existen sistemas de transporte separados para diferentes grupos de AAs. La mayoría de estos sistemas son activos y median el transporte de sus sustratos. El sistema de transporte B<sup>0</sup> moviliza AAs neutros a través de la membrana, el superíndice "0" indica AAs sin carga neta. Este sistema de transporte depende del Na<sup>+</sup> y acepta como sustratos a aquellos AAs neutros que disponen del grupo amino en la posición  $\alpha$  (Poncet y Taylor, 2013). Los AAs catiónicos y aniónicos no son sustratos de este transportador. El sistema B<sup>0</sup> AT1 muestra una extensa capacidad de transporte. Sin embargo, debido a la gran competencia por este sistema existe la posibilidad que algunos aminoácidos sean absorbidos con mayor eficiencia que otros (Bröer, 2008; Bröer y Palacin, 2011). El sistema B<sup>0,+</sup> es similar al sistema B<sup>0</sup> pero acepta AAs neutros, así como AAs catiónicos (Camargo *et al.*, 2009). Una

característica única del transportador  $B^{0,+}$  es su capacidad para transportar varios AAs en su forma D-isomérica (Hatanaka *et al.*, 2002). El sistema  $b^{0,+}$  tiene alta afinidad por AAs neutros y catiónicos, la característica principal que distingue éste sistema del  $B^{0,+}$  es la independencia de  $Na^+$  para el transporte, también es capaz de transportar el AA disulfuro cistina (cisteína-S-S-cisteína). Otra característica interesante de este sistema de transporte es que funciona como intercambiador de AAs obligatorio, es decir, bajo condiciones fisiológicas normales interviene la entrada de cistina y aminoácidos catiónicos al interior del enterocito intercambiando AAs neutros. Por tanto, la absorción de cistina y AAs catiónicos por medio de este sistema de transporte se acopla a la liberación de AAs neutros desde el enterocito hacia la luz intestinal (Bröer, 2008; Bröer y Palacin, 2011).

Por último, una vez que los AAs liberados se absorben, pasan al torrente sanguíneo y son distribuidos a todos los tejidos para la síntesis de nuevas proteínas, actuar como precursores de biomoléculas, generar energía e incluso pueden ser metabolizados directamente en el enterocito (Bröer, 2008; Liao *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2009).

### **2.3. Pérdida ileal de aminoácidos endógenos, métodos de estimación y factores que la afectan**

Determinar la digestibilidad de los AAs en los ingredientes es de gran utilidad para estimar la necesidad de AAs y formular dietas precisas para animales. En animales no rumiantes como los cerdos, está bien demostrado que el ID es el sitio principal para la digestión y absorción de AAs, por tanto, una evaluación precisa de la digestibilidad de los AAs requiere la recolección de una muestra de digesta al final del íleon (Nyachoti *et al.*, 1997; Ravindran *et al.*, 1999). Conocer los valores de digestibilidad de los AAs al final del ID (digestibilidad ileal) contribuye a evaluar la calidad de la dieta y predecir el comportamiento productivo de los cerdos (Jorgensen *et al.*, 1984). Sin embargo, en pruebas de digestibilidad ileal los resultados son muy variables y dependen de factores como la cantidad de secreciones intestinales, la concentración de AAs en el contenido ileal y la pérdida de AAs endógenos de los animales (Arentson y Zimmerman, 1995).

Las fuentes principales de la pérdida de AAs endógenos son propias del animal, como enzimas, mucoproteínas, células epiteliales desprendidas, bacterias, entre otros (Krawielitzki *et al.*, 1990; Souffrant *et al.*, 1993; Nyachoti *et al.*, 1997). De las cuales alrededor del 80 - 85% pueden ser reabsorbidos antes de llegar al intestino grueso (Corring y Jung, 1972; Fuller y Reeds, 1998). Las pérdidas endógenas de AAs se pueden dividir en dos partes: pérdidas basales que se definen como pérdidas inevitable de AAs del tracto digestivo de los animales, que está relacionada con la cantidad de materia seca (MS) consumida, pero no relacionada con la composición de la dieta (McDonald *et al.*, 2011); y las pérdidas específicas, que están por encima de las pérdidas basales y son inducidas por el nivel de proteína, concentración y tipo de fibra, la inclusión de elementos antinutricionales y la composición específica de la dieta (Cowieson y Ravindran, 2007).

Los AAs endógenos que llegan al final del ID y escapan de la reabsorción pasan a intestino grueso, sitio en el cual incluso si se absorbieran, harían una contribución insignificante al suministro de AAs para el animal (Libao *et al.*, 2009). Por último, los AAs endógenos pueden ser metabolizados extensamente por la microbiota del intestino grueso o ser excretados en las heces (Ravindran *et al.*, 1999). Es necesario conocer el perfil de AAs endógenos con el objetivo de realizar correcciones a los coeficientes de digestibilidad ileal aparente (DIA) de los AAs, y con ello generar los coeficientes de digestibilidad ileal estandarizada (DIE). Estos últimos son lo que se reportan en las tablas de composición de ingredientes (NRC, 2012; Pedersen *et al.*, 2002) y son los que comúnmente se emplean en la formulación de dietas para cerdos.

### **2.3.1. Métodos de estimación de las pérdidas de aminoácidos endógenos en cerdos**

Varios autores concuerdan que en cerdos las estimaciones de digestibilidad de AAs son más precisas en íleon que mediciones de digestibilidad en heces. Esto se debe a que la digestión y absorción de los AAs de la proteína de la dieta es casi completa en el ID. Por otra parte, la digestión y absorción de AAs en el intestino grueso es muy reducida y de muy poco valor para el animal (Just *et al.*, 1981;

Mosenthin *et al.*, 2000). Por ello, se han utilizado tradicionalmente varios procedimientos para el muestreo rutinario de la digesta ileal en cerdos, sin embargo, cada una de estas metodologías tiene ciertas ventajas y desventajas.

Entre los procedimientos utilizados, se prefiere el uso de la cánula “T” en el íleon terminal por medio de cirugía, ya que se considera el procedimiento menos invasivo. La canulación ileal de cerdos es un procedimiento relativamente sencillo que permite determinar simultáneamente la digestibilidad ileal de AAs y la actividad de las enzimas proteolíticas intestinales (Cervantes *et al.*, 2000). Gracias a este procedimiento es posible analizar los cambios en la función digestiva en diferentes momentos después de la ingesta de alimentos (Cervantes *et al.*, 2000). Además, permite y facilita el registro de la temperatura corporal (TC) del cerdo sin necesidad de manipularlo continuamente (Morales *et al.*, 2016, 2017). También, con un buen manejo, las cánulas pueden permanecer en sus sitios de implantación; permitiendo realizar estudios de larga duración, o bien, estudios cortos con animales destetados o en etapa de crecimiento-finalización (Cervantes *et al.*, 2000). Sin embargo, una desventaja de este procedimiento es que solo se recolecta una porción del flujo de la digesta ileal. Por lo tanto, es necesaria la inclusión de un marcador indigerible en la dieta (Jagger *et al.*, 1992; Yin y McCracken, 1996). Para ser considerado marcador, este material debe cumplir ciertas características: no ser metabolizado, digerido o absorbido durante su trayecto por el tracto digestivo; debe ser inerte; no debe alterar o interactuar con los microorganismos intestinales y debe ser cuantificable (Stevens y Humen, 1995), siendo el óxido crómico y el dióxido de titanio los dos marcadores más utilizados en este tipo de estudios (Mroz *et al.*, 1996).

Los métodos convencionales para cuantificar la pérdida de AAs endógenos incluyen el uso de dietas libres de proteína, dietas purificadas altamente digeribles, entre otras (Jansman *et al.*, 2002; Moughan, 2003).

### **2.3.2 Dietas libres de nitrógeno**

La técnica consiste en proporcionar al animal alimento sin contenido de nitrógeno, es decir, sin la presencia de proteínas o AAs. Es necesaria la medición del flujo de AAs que llegan al íleon distal. Se asume que todos los AAs, o material

nitrogenado, que son colectados en la digesta ileal son de origen endógeno, sin embargo, la principal desventaja es que la ausencia de proteína en éstas dietas puede disminuir los estímulos que dan lugar a la actividad intestinal, por lo que se reduce la secreción de materiales nitrogenados intestinales y pancreáticos, subestimando la concentración de AAs endógenos que llegan al íleon, por lo que es considerada antifisiológica (Darragh *et al.*, 1990; Nyachoti *et al.*, 1997).

### **2.3.3 Dietas con proteínas hidrolizadas enzimáticamente**

A diferencia del uso de dietas libres de nitrógeno, proporcionar a los cerdos una dieta que contenga proteínas altamente purificadas y digestibles es un enfoque más fisiológico (de Lange *et al.*, 1989; Jansman *et al.*, 2002). Esta técnica permite el flujo tanto del nitrógeno endógeno como de AAs dietéticos a través del ID. Este método consiste en proporcionar a los cerdos una dieta en la que la única fuente de nitrógeno o AAs es la caseína hidrolizada por enzimas, cuyo contenido es de alrededor de 56% de AAs libres y cerca de 41% de dipéptidos y tripéptidos, de los cuales sus pesos moleculares son conocidos y menores de 5000 Daltons (Leterme *et al.*, 1994). Entonces, se asume que todo el nitrógeno endógeno está en fracciones con peso molecular superior a los 10000 Daltons (Da). Así, al separar pesos moleculares de compuestos nitrogenados ileales bajos (<5000 Da) y altos (>10000 Da), se puede identificar el origen del nitrógeno exógeno (no absorbido) y nitrógeno de origen endógeno (Moughan *et al.*, 1990).

### **2.3.4 Dietas con proteínas purificadas altamente digestibles**

Se ha sugerido la inclusión de bajos niveles de proteína altamente purificada y digestible, como la caseína, a las dietas libres de nitrógeno con el fin de mejorar la deficiencia de AAs y el estado fisiológico anormal de los cerdos en experimentación (Adedokun *et al.*, 2007). Bajo este método, el flujo de AAs que llega al íleon es considerado de origen endógeno, porque se presume que la digestibilidad de la proteína añadida (caseína) es cercana al 100% (Cervantes-Pahm y Stein, 2010). Si se utiliza una dieta con proteínas purificadas, la pérdida de AAs endógenos basales generalmente se mide usando un marcador no digerible de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$AA_{\text{end}} (\%) = AA_{\text{digesta}} \times (M_{\text{dieta}} / M_{\text{digesta}})$$

donde  $AA_{\text{end}}$  es la pérdida de AAs endógenos en gramos por kilogramo de materia seca consumida,  $AA_{\text{digesta}}$  es la concentración de AAs en la digesta ileal (g/kg MS), y  $M_{\text{dieta}}$  y  $M_{\text{digesta}}$  son las concentraciones del marcador en la dieta y la digesta (g/kg MS), respectivamente (Stein *et al.*, 2007).

### **2.3.5 Método de regresión lineal**

Este método consiste en alimentar a los cerdos, incrementando los niveles de nitrógeno o AAs de la dieta, pero manteniendo constante el consumo de materia seca. Se estiman las pérdidas de nitrógeno endógeno por extrapolación del flujo ileal de AAs con cero nitrógeno consumido. Esto permite que las pérdidas de AAs se determinen en condiciones de alimentación normales. La suposición principal de este método, es que el aumento de N en el contenido ileal es debido al incremento proporcional de N en la dieta que no fue digerido y se supone, que no hay cambios en la composición del nitrógeno o AAs secretados (Hodgkinson *et al.*, 2000).

### **2.3.6 Factores que afectan la pérdida endógena de aminoácidos en cerdos**

Existen diversos factores pueden alterar las mediciones de las pérdidas endógenas de AAs. La secreción y reabsorción de AAs en el ID puede estar influenciada por factores como el consumo de alimento, el peso corporal de los animales, la presencia de factores antinutricionales, contenido de fibra, fuente y solubilidad de la proteína de la dieta, entre otros (Nyachoti *et al.*, 1997).

El consumo de alimento y el peso corporal del animal están aparentemente relacionados con la pérdida de AAs endógenos (Hess *et al.*, 1999). Posiblemente se deba al hecho de que animales más pesados aumentan su consumo, y a mayor consumo de alimento podría esperarse un aumento en la secreción de enzimas digestivas, las cuales podrían contribuir al aumento del flujo de AAs endógenos (Cervantes *et al.*, 2000).

Por otra parte, se ha reportado que factores antinutricionales como inhibidores de tripsina (Barth *et al.*, 1993), lectinas (Grant *et al.*, 1993) y taninos

(Jansman *et al.*, 1975) aumentan el flujo de AAs endógenos ileales en cerdos. Los inhibidores de tripsina impiden la correcta digestión de los AAs de la dieta al unirse de manera irreversible a la tripsina y quimotripsina (Savage y Morrison, 2003). En un intento del organismo para compensarlo, la tasa de secreción de estas enzimas pancreáticas es mayor y como resultado, se aumenta la pérdida de AAs endógenos (Huisman *et al.*, 1991). Los taninos, por su parte, disminuyen la digestibilidad de los AAs dietéticos ya que pueden unirse a las proteínas de la dieta formando puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. De esta forma, las enzimas encargadas de la digestión protéica como la pepsina secretada en el estómago, las enzimas pancreáticas (tripsina y quimotripsina) y las peptidasas intestinales reducen su actividad (Jansman, 1993).

El contenido de fibra en la dieta, como la celulosa y pectinas, también ha mostrado incrementar las secreciones pancreáticas, bilis y mucinas (Mosenthin *et al.*, 1994). La fibra tiene un efecto abrasivo, favoreciendo el roce entre las partículas del alimento y la pared del intestino, aumentando la descamación de las células epiteliales (Schulze *et al.*, 1994). Las pectinas tienen la capacidad de aumentar la viscosidad y gelificación del contenido intestinal, lo que dificulta su mezcla con agua y enzimas. Se interfiere la unión del complejo enzima-sustrato y se crea una barrera física, lo que dificulta los procesos de digestión y absorción de los nutrientes (Nyachoti *et al.*, 1997). Además, estos componentes tienen la capacidad de interactuar con los AAs liberados durante la digestión de la proteína y provocando que algunos de ellos no sean absorbidos en el ID y fluyan hasta intestino grueso (Low, 1980). Usualmente la celulosa se añade entre el 3 y el 5% a las dietas libres de nitrógeno y su inclusión debe ser similar para mantener la coherencia entre los estudios (Adeola *et al.*, 2016).

El origen de la proteína de la dieta puede provocar cambios en la digestibilidad ileal de AAs. Es conocido que proteínas de origen animal se digieren mejor que las de origen vegetal debido al contenido de factores antinutricionales en alimentos de origen vegetal, por lo que se podría reducir la digestibilidad de los AAs (Sohn *et al.*, 1994). En medios acuosos, como lo son el estómago y el ID, se propicia

la unión entre el complejo enzima - sustrato, por ello, la solubilidad de una proteína es un factor determinante en la digestibilidad ileal de AAs (Just *et al.*, 1981).

## **2.4. Determinación de la digestibilidad de aminoácidos**

La digestibilidad ileal de AAs de los ingredientes es la más utilizada en la evaluación y formulación de dietas para las diferentes etapas de los cerdos y sigue siendo un importante tema de investigación (Sauer y Ozimek, 1986; Stein *et al.*, 2007). La digestibilidad de los AAs refleja la hidrólisis enzimática, la fermentación microbiana de las proteínas y péptidos ingeridos, y la absorción de péptidos y AAs por el epitelio intestinal (Fuller, 2003). La digestibilidad ileal de AAs se puede expresar como digestibilidad ileal aparente (DIA), verdadera (DIV) o estandarizada (DIE), dependiendo de qué proporción del flujo ileal de AAs es la que se incluye en el cálculo. Los valores de digestibilidad ileal se calculan restando de la cantidad total del AA que ingirió el animal, la cantidad de un AA que fluye en la digesta ileal (Sauer y Ozimek, 1986). La digesta ileal contiene tres fuentes de AAs: 1) AAs exógenos no absorbidos de origen dietético; 2) AAs de origen endógeno que generalmente se denominan pérdidas de AAs endógenos y; 3) pérdidas provocadas por ingredientes de la dieta (pérdidas específicas), es material que contiene AAs que se secretan en la luz intestinal del cerdo y no se digieren ni reabsorben antes de llegar al íleon (Stein *et al.*, 2007).

### **2.4.1 Digestibilidad ileal aparente**

Por definición, la digestibilidad aparente de los AAs se calcula como el porcentaje de los AAs ingeridos que no aparece en la digesta ni en las heces. El uso del término "aparente" implica que no se han corregido las pérdidas endógenas de AAs (Stein *et al.*, 2007).

La DIA para un AA específico se calcula restando de la cantidad ingerida, el flujo ileal total de ese AA según la siguiente ecuación:

$$\text{DIA (\%)} = [(\text{AA}_{\text{dieta}} - \text{Flujo ileal del AA}) / \text{AA}_{\text{dieta}}] \times 100$$

Si se usa algún marcador para calcular los valores de digestibilidad, entonces la concentración del marcador en el alimento y la digesta se usa para calcular la DIA de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{DIA (\%)} = [1 - (\text{AA}_{\text{digesta}} / \text{AA}_{\text{dieta}}) \times (\text{M}_{\text{dieta}} / \text{M}_{\text{digesta}})] \times 100$$

Donde AA<sub>digesta</sub> y AA<sub>dieta</sub> representa la concentración de AA (g/kg MS) en la digesta y en la dieta, respectivamente, y M<sub>dieta</sub> y M<sub>digesta</sub> representan las concentraciones (g/kg MS) del marcador en la dieta y la digesta, respectivamente (Stein *et al.*, 2007).

#### 2.4.2 Digestibilidad ileal verdadera

La digestibilidad ileal verdadera de AAs refleja la proporción de AAs de la dieta que desaparecen al íleon distal. En este caso, sólo los AAs no digeridos de la dieta y no la pérdida endógena basal de AAs en el flujo ileal están relacionados con la ingesta de AAs. La DIV se calcula de la misma manera que la DIA con la excepción de que la pérdida total de AAs endógenos se resta del flujo ileal de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{DIV (\%)} = \{[\text{AA}_{\text{dieta}} - (\text{Flujo ileal de AA} - \text{AA}_{\text{end totales}})] / \text{AA}_{\text{dieta}}\} \times 100$$

Donde AA<sub>dieta</sub> representa la concentración de AA (g/kg MS) en la dieta, el flujo ileal de AA recuperados (g/kg MS consumida) y AA<sub>end totales</sub> representa la concentración de los AA (g/kg MS) endógenos totales.

Una limitación importante del uso de la DIV de AAs es que se requiere estimar la pérdida de AAs endógenos totales y debido a la dificultad de su medición, los valores de DIV para ingredientes alimenticios rara vez están disponibles (Stein *et al.*, 2007).

### 2.4.3 Digestibilidad ileal estandarizada

Como una alternativa al uso de la DIV, se puede calcular la DIE (Mosenthin *et al.*, 2000; Jansman *et al.*, 2002). Los valores de DIE se calculan como los valores de DIA, con la excepción de que la pérdida de AAs endógenos basales se resta del flujo de salida ileal de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{DIE (\%)} = [(\text{AA}_{\text{dieta}} - (\text{Flujo ileal de AA} - \text{AA}_{\text{end}})) / \text{AA}_{\text{dieta}}] \times 100$$

Donde  $\text{AA}_{\text{dieta}}$  representa la concentración de AA (g/kg MS) en la dieta, el flujo ileal de AA recuperados (g/kg MS consumida) y  $\text{AA}_{\text{end}}$  representa la concentración de los AA (g/kg MS) endógenos basales (Stein *et al.*, 2007).

Si ya se calcularon previamente los valores de DIA, entonces se puede estimar la DIE de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{DIE (\%)} = \text{DIA} + [(\text{AA}_{\text{end}} / \text{AA}_{\text{dieta}}) \times 100]$$

Donde DIA es la digestibilidad ileal aparente de AA,  $\text{AA}_{\text{end}}$  representa la concentración de los AA (g/kg MS) endógenos basales, y  $\text{AA}_{\text{dieta}}$  representa la concentración de AA (g/kg MS) en la dieta (Stein *et al.*, 2007).

La principal ventaja de utilizar valores de DIE en comparación con la DIA es que es más probable que los valores de DIE sean aditivos en dietas con varios ingredientes (Stein *et al.*, 2005). Por tanto, al utilizar DIE para la formulación de dietas para cerdos se superan algunas de las desventajas y limitaciones de la DIA y DIV. Además, se han estimado valores de DIE para la mayor parte de los ingredientes utilizados en dietas para cerdos (NRC, 1998; NRC, 2012; INRA-AFZ-INAPG, 2004).

## **2.5. Efecto del estrés por calor en la pérdida endógena y la digestibilidad de aminoácidos**

Los cerdos presentan alteraciones metabólicas, fisiológicas y de comportamiento al exponerse a una temperatura ambiente elevada (Horowitz *et al.*, 2004). Como primera respuesta para promover la pérdida de calor corporal, los cerdos reducen el consumo de alimento y modifican el flujo sanguíneo (Collin *et al.*, 2001; Huynh *et al.*, 2005). Este redireccionamiento sanguíneo disminuye el flujo de nutrientes y oxígeno hacia órganos internos, en particular al ID (Hinnebusch *et al.*, 2002; Ogoh *et al.*, 2013). Como consecuencia, aumenta la concentración de radicales libres con capacidad de afectar componentes celulares importantes, como lípidos y proteínas, provocando la muerte de células de las vellosidades, las cuales se incorporan al contenido intestinal (Slimen *et al.*, 2014; Sido *et al.*, 2017). Por tanto, pueden verse comprometidas las funciones digestivas y absortivas (Morales *et al.*, 2014; Gabler y Pearce, 2015).

El EC aumenta la muerte de células en el intestino, este material rico en proteínas se incorpora al contenido intestinal aumentando los AAs endógenos. Estudios previos han mostrado una reducción de la altura de las vellosidades intestinales (Flier y Clevers, 2009; Pearce *et al.*, 2013) y mayor desprendimiento de células epiteliales (Pearce *et al.*, 2014). En informes anteriores de este laboratorio (Morales *et al.*, 2016; Vásquez *et al.*, 2022) se ha reportado que en cerdos en EC se incrementó la pérdida endógena de Arg e Histidina (His) el segundo día después de la exposición al calor, e incrementaron las células caliciformes productoras de mucina en duodeno, lo que sugiere un incremento en la producción de mucina que es considerada indigerible (Hansson, 2020). Por lo tanto, el aumento de mucina podría incrementar la pérdida endógena de algunos AAs además de limitar la absorción de otros nutrientes en el ID.

## **2.6. Estrategias nutricionales para reducir los efectos del EC cerdos**

Entre las estrategias nutricionales que permiten disminuir los efectos desfavorables del EC que comprometen la producción del animal, está la adición de

AAs libres. Arg se considera un AA funcional y bajo ciertas condiciones, esencial (Wyss *et al.*, 2000). Arg es un AA funcional que actúa como precursor en la síntesis de óxido nítrico (ON) para estimular la vasodilatación (Wu y Morris, 1998); es precursor de urea, la vía de eliminación de desechos nitrogenados (Bescós *et al.*, 2012); precursor de poliaminas, esenciales para la proliferación y diferenciación de células intestinales (Pegg, 1986; Timmons *et al.*, 2012); y creatina, que cumple una función antioxidante (Lawler *et al.*, 2002).

Recientemente, los resultados de Morales *et al.* (2021) indicaron que al suplementar Arg libre en la dieta se promueve la restauración de la histología intestinal al aumentar la altura de las vellosidades, y debido a la mayor abundancia de transportadores de AAs, su absorción también mejora. Por lo anterior, suponemos que la suplementación extra de Arg a dietas para cerdos en EC podría contribuir a reducir la muerte de células intestinales recuperando la integridad y función intestinal, lo cual podría resultar en mejor digestión de la proteína de la dieta, incremento en la reabsorción de AAs y menor pérdida de aminoácidos endógenos.

### **3. Hipótesis**

La suplementación extra de arginina libre a dietas para cerdos en estrés por calor reduce la pérdida de aminoácidos endógenos, mejora la digestibilidad ileal aparente, digestibilidad ileal estandarizada e incrementa la concentración sérica de aminoácidos.

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la suplementación extra de arginina libre a dietas para cerdos en estrés por calor sobre la pérdida de aminoácidos endógenos, la digestibilidad ileal aparente, digestibilidad ileal estandarizada, concentración sérica de aminoácidos y metabolitos.

### **4.2 Objetivos específicos**

Evaluar el efecto de la suplementación extra de arginina en dietas para cerdos en estrés por calor sobre:

- La pérdida de aminoácidos endógenos
- La digestibilidad ileal aparente de aminoácidos
- La digestibilidad ileal estandarizada de aminoácidos
- La concentración de aminoácidos en el suero sanguíneo
- La concentración de metabolitos en el suero sanguíneo

## 5. Materiales y métodos

### 5.1 Generalidades

Se condujeron dos experimentos durante el verano de 2021 (julio – agosto) en el Laboratorio de Fisiología y Metabolismo Animal del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California. En el primer experimento se evaluó la pérdida endógena de AAs, y en el segundo la digestibilidad ileal de AAs en una dieta convencional, la concentración de AAs y metabolitos séricos. En ambos experimentos los procedimientos, así como el manejo de los animales, fueron sujetos a aprobación de la Comisión de Ética del Instituto y se condujeron en conformidad al reglamento emitido en la Norma Oficial Mexicana para el cuidado de animales (NOM-062-Z00-1999; Ochoa, 2001).

Los cerdos fueron alojados individualmente en corraletas elevadas (1.2 m de largo, 1.2 m de ancho y 1.0 m de alto) con piso de malla de hierro plastificado, equipados con bebederos tipo chupón; localizados dentro de una sala con aire acondicionado para controlar la temperatura ambiente o en una sala sin control de TA, donde usualmente fluctúa de los 25 hasta los 45 °C diariamente. Los cambios en la temperatura ambiental y humedad relativa de ambas salas fueron registrados a intervalos de 15 min por medio de un higrotermógrafo (Thermotracker HIGRO; iButtonLink LLC, Whitewater, WI, USA). Con estos datos se calculó el índice de temperatura y humedad de acuerdo con la ecuación de Steadman (1979). En cada experimento se utilizó una dieta base. En el primer experimento se proporcionó una dieta semi purificada a base de almidón de maíz, caseína, celulosa, entre otros ingredientes (Cuadro 1). En el segundo experimento se brindó una dieta base formulada con pasta de soya y trigo.

## **5.2. Implantación de cánulas en íleon terminal de los cerdos**

### **5.2.1 Animales**

Se utilizaron 12 cerdos en crecimiento (Large White x Duroc) con  $23.5 \pm 2.6$  kg peso vivo, de la Granja Experimental porcina del Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California. Todos los cerdos se adaptaron siete días a los corrales, tuvieron libre acceso al agua y se alimentaron con una dieta convencional previo a la cirugía.

### **5.2.2 Preparación de las cánulas**

Se prepararon cánulas simples en “T” a partir de plástico flexible transparente con espesor de pared de alrededor de 3 mm. Las cánulas estaban hechas de 2 piezas; 1) Un cilindro vertical de 10 cm de longitud y diámetro interno de 20 mm; y 2). Un cilindro horizontal de 10 cm cortado por la mitad al cual se le perforó un orificio circular en la parte media. Mientras que el cilindro vertical se insertó a través del orificio y ambas piezas fueron soldadas con ciclohexanona (Spectrum Chemical Mfg. Co., Gardena, CA). Las cánulas se dejaron secando toda la noche y después se recortaron y redondearon las esquinas para evitar daños al animal. Además, se diseñó un tapón con un cilindro de 4 cm de longitud el cual se rellenó con silicón, este tapón fue insertado después en el cilindro vertical de la cánula para impedir fuga del contenido ileal.

### **5.2.3 Procedimiento quirúrgico**

Los cerdos se ayunaron 24 h previo a la cirugía, sin embargo, tenían acceso al agua. Los procedimientos quirúrgicos se realizaron de acuerdo a la metodología descrita por Sauer *et al.* (1983). Se aplicó un sedante vía intramuscular, 10 mg/kg de peso vivo de clorhidrato de xilazina (Procin, Pisa Salud Animal). Entre 10 a 15 min después de la aplicación, los cerdos se pasaron al quirófano y se indujo la anestesia general con isoflurano inhalado (Sofloran, PISA Guadalajara, Jal., México). La anestesia se mantuvo con una mezcla de isoflurano y oxígeno en un sistema cerrado administrado mediante mascarilla nasal. Una vez anestesiados, los cerdos se colocaron en decúbito lateral derecho y se prepararon para una cirugía

abdominal aséptica. Se preparó la zona quirúrgica; se lavó con agua y jabón quirúrgico (Derma Cleen-CB, Degasa), la zona se rasuró y desinfectó con una solución de yodo al 10 %. En la zona de la incisión, se administró vía subcutánea lidocaína al 2% (Pisacaína 2%, Pisa Salud Animal), al paso de 2 a 3 minutos se realizó una incisión de aproximadamente 10 cm en el hígado izquierdo paralela a la última costilla. Cada plano muscular (músculo oblicuo externo, oblicuo interno y transversal abdominal) se separó con un ligero corte de tijeras de punta y posteriormente mediante disección roma con las yemas de los dedos, para evitar lo más posible el daño al tejido. Al llegar al peritoneo éste se aseguró mediante pinzas hemostáticas y se realizó cuidadosamente un corte pequeño con bisturí, evitando rasgarlo. Una vez expuesta la cavidad abdominal, se exteriorizó parte del intestino y se localizó el ligamento íleo – cecal que sirvió de referencia para desplazarse de 10 a 15 cm hacia la región craneal para posteriormente colocar la cánula en esa región. Se suturó la capa serosa del intestino con sutura absorbible (Vicryl, Ethicon, Johnson & Johnson, Brasil) calibre 2-0, en forma circular (sutura de jareta o bolsa de tabaco) del tamaño del diámetro externo del cilindro vertical de la cánula. Luego se realizó una incisión en la pared intestinal entre las dos suturas paralelas de alrededor de 1 cm de longitud. Cuidadosamente se introdujo a través de la incisión una de las alas de la cánula. Enseguida, con la ayuda de las pinzas hemostáticas de punta alargada se introdujo la otra ala, para posteriormente apretar la sutura de jareta. El extremo craneal del tubo vertical de la cánula fue cortado sutilmente para verificar que la cánula no se girara durante la manipulación al exteriorizarla, y se colocó de manera provisional un tapón hecho con gasa estéril para evitar derrames de digesta en la cavidad abdominal. Para exteriorizar la cánula, se realizó una pequeña incisión entre las dos últimas costillas, que permitiera apenas el paso del tubo vertical de la cánula y que, la piel y las costillas mantuvieran presión sobre el tubo, evitando el uso de suturas en peritoneo, capas musculares y piel. Después de pasar el cuerpo de la cánula a través de la incisión, se colocó el tapón relleno con silicón para impedir la salida de contenido intestinal. El tapón se fijó al tubo vertical de la cánula con una aguja hipodérmica calibre 16, atravesando la pared del tubo vertical y el tapón de silicón. Finalmente, se procedió a suturar la incisión primaria;

se cerraron con sutura absorbible calibre 1 y de forma continua el peritoneo, las capas musculares y la grasa subcutánea, mientras que la piel se cerró de forma discontinua con sutura de nylon. Al finalizar la cirugía y durante 72 horas, se administró 1ml/10 kg peso vivo de antibiótico (Emicina / LA Zoetis) y se aplicó a lo largo de las incisiones un cicatrizante tópico (Topazone, Laboratorios Columbia, México, D. F.).

Cada cirugía tuvo una duración aproximada de 60 min, durante todo ese tiempo fueron monitoreados los signos vitales como frecuencia cardiaca y TC. Después de la cirugía, los cerdos se trasladaron a corrales de recuperación fuera del quirófano y se observaron de 2 a 3 horas posteriores a la cirugía o hasta que estuvieran completamente despiertos. La TC de los cerdos se registró los días posteriores a la cirugía para descartar la presencia de fiebre por una posible infección.

#### **5.2.4 Cuidados postoperatorios**

Todos los cuidados postoperatorios se realizaron de acuerdo con Sauer *et al.* (1983). El período de recuperación fue de 14 días bajo condiciones de termoneutralidad, donde la temperatura de la sala se mantuvo a ~22 °C. Los cerdos tuvieron disponibilidad de agua todo el tiempo, mientras que el alimento se ofreció 24 h posteriores a la cirugía.

Los corrales individuales en los que se encontraban los cerdos se limpiaron diariamente con agua a presión y jabón, para disminuir el riesgo de infección en las heridas. La piel alrededor de la cánula, así como los puntos de sutura de la incisión primaria se limpiaron al menos dos veces al día con agua tibia y jabón quirúrgico y se secaron las zonas con una toalla de papel. En la piel alrededor de la cánula y hasta el vientre de los cerdos, se aplicó con los dedos una pasta protectora a base de grasa mineral (Vaselina) y óxido de zinc (1:1) como una capa fina, formando una película impermeable para evitar irritación por filtración de la digesta. Además,

diariamente se trataron las heridas con un ungüento de nitrofurazona (Furacine, Pisa Agropecuaria, México).

Durante el período de recuperación, diariamente se retiró el tapón de las cánulas para confirmar que la digesta fluía correctamente. Siete días posteriores a la cirugía se retiraron los puntos de sutura de la piel. Se les proporcionó alimento húmedo y gradualmente los cerdos incrementaron el consumo hasta llegar a 800 g/d dividido en dos horarios, 0700 y 1900 h. Todos los cerdos se recuperaron por completo a los 14 días posteriores a la cirugía, lo cual se reflejó en el restablecimiento del nivel de consumo normal de alimento y la ausencia del tejido inflamado en la circunferencia de la incisión primaria y alrededor del sitio por el que se exteriorizó la cánula. Durante la recuperación los cerdos fueron examinados cuidadosamente dos veces o más al día, con la finalidad de prevenir algún daño provocado por las cánulas y/o corregir posibles fugas de contenido intestinal entre la zona de la cánula y la epidermis de los cerdos.

### **5.3 Experimento 1: Efecto de arginina en la pérdida endógena de aminoácidos en cerdos en estrés por calor**

#### **5.3.1 Tratamientos y procedimiento experimental**

Para el primer experimento se establecieron tres tratamientos: TN-B cerdos alojados en condiciones termoneutrales alimentados con una dieta basal semipurificada, elaborada con almidón de maíz y caseína; EC-B, cerdos alojados en la sala de estrés por calor alimentados con la dieta basal; y EC-Arg, cerdos en EC alimentados con dieta basal adicionada con un extra de 0.20% de Arg libre. El contenido de AAs analizado (g/kg) de la dieta base semipurificada se muestra en el cuadro 2. El experimento se realizó en dos períodos de nueve días. En el período uno, inmediatamente después del período de recuperación los cerdos continuaron bajo condiciones TN, donde fueron adaptados a la dieta basal y entrenados para consumir en su totalidad el alimento ofrecido en menos de 10 minutos, dos veces al día (0700 y 1900 h) durante siete días. Para prevenir la coprofagia y el reciclado del marcador los corrales se lavaron diariamente por la mañana. Por medio de la cánula

se insertó un termógrafo (Thermotracker BT; iButtonLink LLC, Whitewater, WI, USA) configurado para registrar la temperatura corporal o intestinal (TI) a intervalos de 5 min, mediciones que se realizaron durante todo el experimento.

Cuadro 1. Combinación de ingredientes incorporados a las dietas experimentales semi purificadas (g/kg, tal como se ofrece).

Ingrediente	Basal	+Arg
Almidón de maíz	834.5	834.5
Celulosa	30.0	30.0
Aceite de canola	20.0	20.0
Caseína	30.0	30.0
Azúcar de caña	50.0	50.0
L-arginina	--	2.0
Piedra caliza	8.8	8.8
Fosfato dicálcico	17.2	17.2
Sal yodada	3.5	3.5
Premezcla de vit. y min. <sup>1</sup>	4.0	4.0
Contenido calculado		
Energía neta, KJ/kg	10,100	10,100
Proteína cruda, g/kg	25.0	25.0

<sup>1</sup> Suministrado por kg de dieta: 4,800 UI de vitamina A; 800 UI de vitamina D<sub>3</sub>; 4.8 UI de vitamina E; 1.6 mg de vitamina K<sub>3</sub>; 4 mg de riboflavina; 7.2 mg de ácido D-pantoténico; 16 mg de niacina; 12.8 mg de vitamina B<sub>12</sub>; 64 mg de Zn; 64 mg de Fe; 4 mg de Cu; 4 mg de Mn; 0.36 mg de I y 0.13 mg de Se.

Cuadro 2. Contenido analizado de aminoácidos (g/kg) de la dieta experimental base semipurificada (tal como se ofrece).

Esenciales	%	No esenciales	%
Arginina	1.10	Alanina	0.80
Histidina	0.80	Aspartato	1.90
Isoleucina	1.70	Cisteína	0.10
Leucina	2.50	Glutamato	6.10
Lisina	2.20	Glicina	0.70
Metionina	0.80	Prolina	3.10
Fenilalanina	1.40	Serina	1.70
Triptofano	0.30	Tirosina	1.70
Treonina	1.30		
Valina	2.00		

### 5.3.2 Muestreo de digesta, frecuencia respiratoria y temperatura intestinal

Se realizó colecta de digesta ileal durante los días ocho y nueve del período TN. Al finalizar el período 1, todos los cerdos se trasladaron a corrales dentro de la sala sin control de TA y fueron expuestos a condiciones de EC durante el segundo período de nueve días. Durante este período, los 12 cerdos fueron aleatoriamente asignados a los tratamientos EC-B y EC-Arg (6 cerdos / tratamiento). En este período los cerdos se adaptaron a las condiciones ambientales de EC por siete días, seguidos de dos días de colecta de digesta ileal (d-8 y d-9). En ambos períodos, la digesta ileal se recolectó continuamente durante 12 horas a partir de las 0700 h. Se colocaron individualmente bolsas plásticas transparentes en el cilindro de las cánulas y se fijaron con ligas elásticas. Para asegurar la integridad de la digesta y evitar la degradación microbiana de los AAs, la bolsa se cambió cada 15 min., o una vez llena de contenido intestinal. El contenido de cada bolsa se reunió para cada cerdo y se congeló a -20 °C inmediatamente después de la recolección para su posterior análisis.

Los días ocho y nueve del período 2, la frecuencia respiratoria (respiraciones por minuto) de los animales expuestos a EC (EC-B y EC-Arg) se determinó como el número de expansiones abdominales contadas por minuto en cada cerdo a las 0700 y 1700 h, estos horarios se consideraron porque es cuando usualmente se registra la menor y la mayor TA.

### 5.3.3 Procesamiento de muestras y análisis de laboratorio

Anterior a los análisis químicos, las muestras de digesta ileal fueron homogenizadas para cada cerdo en los dos días de colecta, se submuestrearon y liofilizaron (Labconco Co., Kansas city, MO, USA) para obtener 5 g de muestra por cerdo. Para calcular el flujo de contenido intestinal, se utilizó 2% de óxido crómico en la dieta como marcador externo (Adeola *et al.*, 2016). Las submuestras de digesta liofilizadas se molieron a un tamaño de partícula de 1-mm en un molino Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA). Tanto las dietas como las muestras de digesta fueron analizadas para contenido de MS y AAs (método 982.30E) como lo describe la AOAC (2006). La concentración de óxido crómico en las dietas y digesta se determinó de acuerdo con la descripción de Fenton y Fenton (1979). La separación y cuantificación de AA se realizó por cromatografía líquida (HPLC; método 982.30E; AOAC, 2006) con derivatización postcolumna con ninhidrina y con el uso de un detector de fluorescencia a 570 nm.

La pérdida endógena de AA fue calculada con la siguiente ecuación:

$$AA_{\text{end}} \text{ (g/kg MS)} = AA_{\text{digesta}} (M_{\text{dieta}} / M_{\text{digesta}})$$

Donde MS es la materia seca consumida;  $AA_{\text{digesta}}$  es la concentración del AA en la digesta ileal (g/kg MS), y  $M_{\text{dieta}}$  y  $M_{\text{digesta}}$  son las concentraciones del marcador en la dieta y digesta, respectivamente (g/kg MS).

### 5.3.4 Análisis estadístico

El análisis de varianza de los datos de la pérdida de AAs endógenos ( $n = 6$ ) se realizó de acuerdo con un diseño experimental completamente aleatorizado.

Fueron elaborados tres contrastes no ortogonales para comparar el efecto de la TA (TN-B vs. EC-B), Arg suplementaria para cerdos en EC (EC-B vs. EC-Arg) o en condiciones TN (EC-Arg vs. TN-B). Los datos de frecuencia respiratoria de cerdos en EC se analizaron usando un diseño de mediciones repetidas donde la dieta y la hora de medición se consideraron entre sujetos y dentro de los sujetos, respectivamente. Los datos de temperatura intestinal se analizaron de acuerdo con un diseño de mediciones repetidas en el tiempo. Los niveles de probabilidad de  $P \leq 0.05$  y  $0.05 < P \leq 0.10$  se definieron como diferencias significativas y tendencias, respectivamente.

## **5.4 Experimento 2: Efecto de arginina en la digestibilidad ileal, concentración de aminoácidos y metabolitos séricos**

### **5.4.1 Animales, alojamiento y dietas experimentales**

Se utilizaron 12 cerdos en crecimiento ( $27 \pm 3.11$  kg) implantados quirúrgicamente con cánulas tipo T en íleon distal (10 - 15 cm previos al pliegue Isoleucinaoceal) Los procedimientos quirúrgicos y los cuidados postoperatorios se realizaron en base a Sauer *et al.* (1983) y fueron descritos previamente.

Se establecieron tres tratamientos: 1) TN-B cerdos alojados en termoneutralidad alimentados con una dieta basal; 2) EC-B, cerdos alojados en condiciones de estrés por calor (EC) alimentados con una dieta basal; y 3) EC-Arg, cerdos en EC alimentados con dieta basal adicionada con 0.20% de Arg extra. La dieta basal se elaboró con trigo, pasta de soya y AAs libres (NRC, 2012; cuadro 3). El contenido analizado de AAs y PC se presenta en el cuadro 4. El estudio se efectuó en dos períodos de siete días cada uno. Durante el primer período, todos los cerdos se mantuvieron en condiciones de EC ( $34.1 \pm 3.6$  °C). Los mientras que, en el segundo, seis cerdos se alojaron en una sala con ambiente controlado (TN;  $22.8 \pm 2.9$  °C). Previo al estudio, a todos los cerdos se les entrenó para que consumieran su porción de alimento correspondiente en menos de 10 minutos. La ración diaria de alimento se dividió a la mitad y se proporcionó a las 0700 y 1900 h.

Las dietas se mezclaron con agua en una proporción 1:1 (peso/peso) previo a la alimentación y el agua se ofreció *ad libitum*.

Cuadro 3. Combinación de ingredientes incorporados a las dietas experimentales (% , tal como se ofrece).

Ingrediente	Basal	+Arg
Trigo	88.62	88.42
Pasta de soya	6.00	6.00
Caseína	2.00	2.00
L-lisina.HCl	0.45	0.45
L-treonina	0.16	0.16
DL-metionina	0.05	0.05
L-arginina		0.20
Piedra caliza	1.32	1.32
Fosfato dicálcico	0.65	0.66
Sal yodada	0.35	0.35
Premezcla de vit. y min. <sup>1</sup>	0.40	0.40
Óxido crómico	0.20	0.20
Contenido calculado, %		
Proteína cruda	12.8	12.8
DIE Arginina	0.81	1.01
DIE Histidina	0.37	0.34
DIE Isoleucina	0.62	0.62
DIE Leucina	1.14	1.14
DIE Lisina	0.99	0.99
DIE Metionina	0.31	0.31
DIE Fenilalanina	0.75	0.75
DIE Treonina	0.63	0.63
DIE Triptofano	0.20	0.20
DIE Valina	0.75	0.74
Energía neta, KJ/kg	10,100	10,100

<sup>1</sup> Suministrado por kg de dieta: 4,800 UI de vitamina A; 800 UI de vitamina D<sub>3</sub>; 4.8 UI de vitamina E; 1.6 mg de vitamina K<sub>3</sub>; 4 mg de riboflavina; 7.2 mg de ácido D-pantoténico; 16 mg de niacina; 12.8 mg de vitamina B<sub>12</sub>; 64 mg de Zn; 64 mg de Fe; 4 mg de Cu; 4 mg de Mn; 0.36 mg de I y 0.13 mg de Se.

Cuadro 4. Contenido analizado de aminoácidos y proteína cruda (g/kg) de la dieta experimental basal (tal como se ofrece).

Esenciales	%	No esenciales	%
Arginina	0.75	Alanina	0.57
Histidina	0.39	Aspartato	1.02
Isoleucina	0.61	Cisteína	0.28
Leucina	1.10	Glutamato	3.99
Lisina	1.00	Glicina	0.58
Metionina	0.30	Prolina	1.39
Fenilalanina	0.73	Serina	0.62
Triptofano	0.65	Tirosina	0.45
Treonina	0.19	Proteína cruda	16.82
Valina	0.77		

#### 5.4.2 Muestreo sanguíneo, colecta de digesta ileal y temperatura intestinal

Los cerdos se adaptaron a las dietas experimentales durante cinco días; el día siete de cada período a las 2100 h (2 h postprandial) se colectaron dos muestras de sangre (aproximadamente 10 ml cada una) de cada cerdo mediante punción venosa de la yugular en tubos desechables (BD Vacutainer; Franklin Lakes, Nueva Jersey, EE. UU.) Ambos tubos de sangre fueron centrifugados a 1500 × g, a 4°C durante 10 min. Se utilizaron pipetas de transferencia desechables de 2 ml para separar el suero sanguíneo. Se llenaron dos criotubos, el primero con 1ml para el análisis de AA en suero y el segundo con 2 ml para el análisis de metabolitos séricos. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta ser liofilizados.

Al finalizar el período 1 de EC (EC-B y EC-Arg), los cerdos se trasladaron a los corrales dentro de la sala con TA controlada para el segundo período de siete

días (TN-B). En este período, seis cerdos fueron asignados aleatoriamente al tratamiento TN-B. En ambos períodos (EC y TN), la digesta ileal se colectó por 12 horas consecutivas a partir de las 0700 h. Se colocaron individualmente bolsas plásticas unidas al cilindro de la cánula T hasta que se llenaron con digesta ileal. Las bolsas se cambiaron cada 15 min. El contenido de cada bolsa se reunió para cada cerdo y se congeló a -20 °C inmediatamente después del muestreo. Previo al análisis, las muestras fueron homogenizadas para cada cerdo los dos días de colecta, se submuestrearon y liofilizaron. Se adicionó 2% de óxido de cromo en la dieta para calcular el flujo de contenido intestinal (Jagger *et al.*, 1992).

A través de la cánula fue insertado y colocado en el íleon un termógrafo (Thermotracker BT; iButtonLink LLC, Whitewater, WI, USA) para registrar la temperatura intestinal cada cinco minutos durante todo el experimento.

#### **5.4.3 Procesamiento de muestras y análisis de laboratorio**

Las submuestras se liofilizaron (~ 5 g / cerdo) y se trituraron en un molino Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA) hasta llegar a un tamaño de partícula de 1-mm. Dietas y digesta se analizaron para su contenido de materia seca y AAs (método 982.30E) como lo describe la AOAC (2006); el contenido de óxido crómico en dietas y digesta se determinó por digestión con ácidos de acuerdo con Fenton y Fenton (1979). El análisis de AAs se realizó por HPLC (método 982.30E; AOAC, 2006) con derivatización postcolumna con ninhidrina y con el uso de un detector de fluorescencia.

#### **5.4.4 Análisis estadístico**

El análisis de varianza de los datos de AAs en la digesta y la concentración sérica de AAs y metabolitos, se realizaron de acuerdo con un diseño experimental completamente aleatorizado. Se elaboraron tres contrastes no ortogonales para comparar el efecto de la TA (TN-B vs. EC-B), Arg suplementaria para cerdos en EC (EC-B vs. EC-Arg) o en condiciones TN (EC-Arg vs. TN-B). Los datos de temperatura intestinal se analizaron de acuerdo con un diseño de mediciones

repetidas en el tiempo. Los niveles de probabilidad de  $P \leq 0.05$  y  $0.05 < P \leq 0.10$  se definieron como diferencias significativas y tendencias, respectivamente.

## 6 Resultados y discusión

### 6.1 Efecto de arginina en la pérdida endógena de aminoácidos en cerdos en estrés por calor (Experimento 1)

#### 6.1.1 Resultados

##### 6.1.1.1 Temperatura ambiente

Los datos de TA registrados cada 15 minutos en las salas, oscilaron entre 18.7 y 27.6 °C en la sala TN y entre 29.5 y 40.7 °C en la de EC (Fig. 3). La TA promedio más baja dentro de la sala de EC se registró entre las 0500 y las 0800 h, mientras que la más alta se registró entre las 1330 y las 1800.

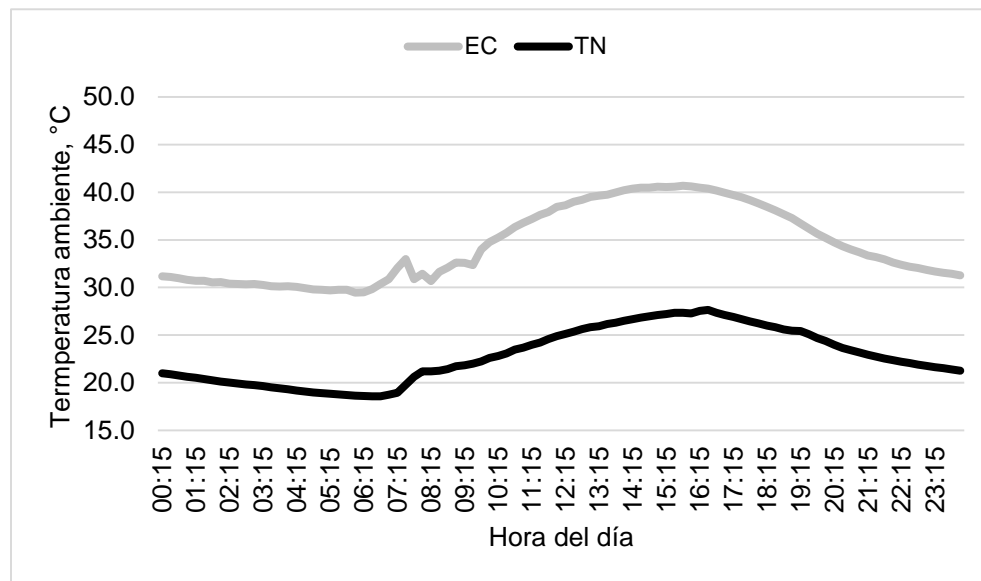


Figura 3. Temperatura ambiente promedio registrada a intervalos de 15 minutos dentro de las salas termoneutral (TN) y estrés por calor (EC) durante los 9-d del estudio. n = 864; cada punto de datos representa el promedio de 9 registros.

### 6.1.1.2 Temperatura intestinal

La temperatura intestinal (TI) de los cerdos en EC alimentados con la dieta EC-B (testigo) o EC-Arg mostró un patrón similar al de la TA dentro de la sala de EC (Fig. 4). La TI diaria, en promedio, no difirió entre los tratamientos, sin embargo, de 1400 a 1900 h, fue de 0.5 a 0.6 °C menor en los cerdos que se alimentaron con la dieta EC-Arg ( $P < 0.05$ ). El grupo de cerdos (EC-B) aumentaron su TI hasta 1.7 °C entre las 1400 y las 1700 h todos los días, en comparación con las horas del día en el que se registró la TA más baja (0500 - 0800 h). Además, se observó un incremento en la TI de 0.7 a 0.9 °C en los cerdos inmediatamente después de ingerir sus alimentos.

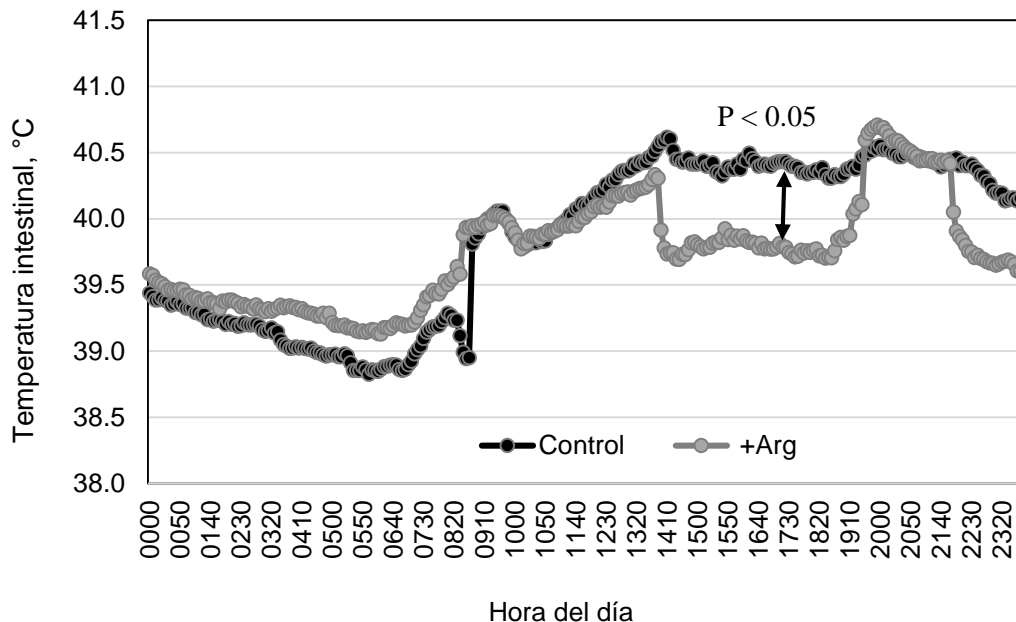


Figura 4. Temperatura intestinal promedio de los cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o adicionada con arginina (EC-Arg), registrada a intervalos de 5 minutos durante los 9-d del estudio.  $n = 2,592$ ; cada punto de datos representa el promedio de 36 mediciones.

### 6.1.1.3 Frecuencia respiratoria

La frecuencia respiratoria registrada en los cerdos bajo EC no difirió entre tratamientos, sin embargo, fue mayor a las 1700 h que a las 0700 h ( $P < 0.05$ ; figura 5). Se registraron en promedio 57.5 y 77 expansiones abdominales por minuto a las 0700 y 1700 h, respectivamente.

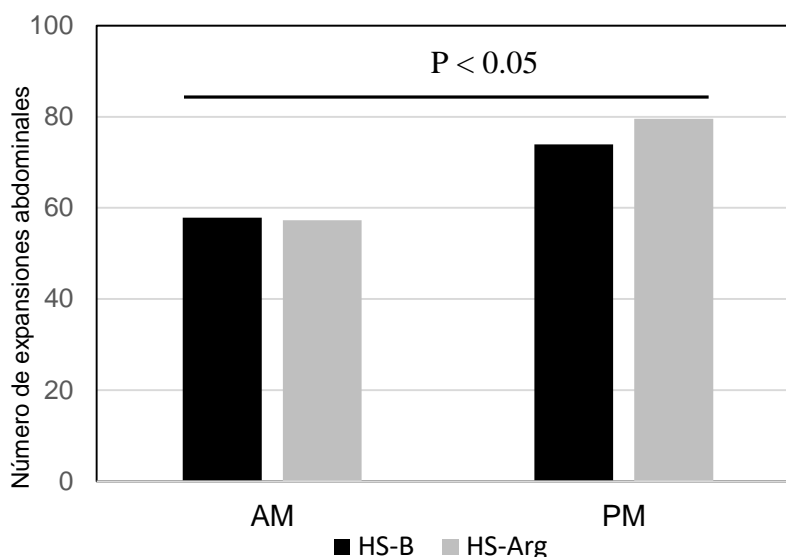


Figura 5. Frecuencia respiratoria expresada como el número promedio de expansiones abdominales por minuto en cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg), contadas a las 0700 (mañana) y tarde (1700) horas.

### 6.1.1.4 Composición de aminoácidos de la digesta ileal

La composición de AAs esenciales de la digesta intestinal se presenta en el cuadro 5. Cuando se expresa como porcentaje del flujo de materia seca hacia el íleon distal, el contenido de Arg, His, isoleucina (Ile), metionina (Met), treonina (Tre) y valina (Val) disminuyó en los cerdos EC-B ( $P < 0.05$ ), pero no difirió en el grupo de cerdos EC-Arg en comparación con los cerdos TN-B para todos los AAs esenciales ( $P > 0.10$ ). De hecho, el contenido de Arg, His, Ile, leucina (Leu), lisina (Lis), Met y Val en la digesta de los cerdos EC-Arg fue mayor ( $P < 0.05$ ) y el de fenilalanina (Fen) y Tre tendió ( $P < 0.10$ ) a ser mayor que en los cerdos EC-B. Expresado como porcentaje del flujo de proteína cruda al íleon distal, el contenido

de Arg aumentó tanto en los cerdos EC-B como en EC-Arg, y el de triptófano (Trp) aumentó en cerdos EC-B, en comparación con los cerdos TN-B ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 5. Composición (%) de aminoácidos esenciales en la digesta intestinal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg).

Aminoácido	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
% de la materia seca							
Arginina	0.433	0.300	0.447	0.03	0.023	0.014	0.764
Histidina	0.245	0.173	0.240	0.02	0.020	0.027	0.849
Isoleucina	0.532	0.393	0.533	0.04	0.023	0.023	1.000
Leucina	0.760	0.560	0.798	0.07	0.083	0.046	0.723
Lisina	0.590	0.457	0.635	0.05	0.104	0.039	0.554
Metionina	0.122	0.090	0.130	0.007	0.014	0.005	0.503
Fenilalanina	0.437	0.323	0.455	0.04	0.090	0.056	0.779
Treonina	0.750	0.540	0.732	0.06	0.041	0.057	0.847
Triptofano	0.118	0.100	0.125	0.001	0.301	0.151	0.649
Valina	0.658	0.460	0.673	0.06	0.036	0.026	0.856
% de proteína cruda							
Arginina	3.45	3.53	3.82	0.09	0.433	0.046	0.012
Histidina	1.95	2.04	2.05	0.07	0.466	0.872	0.378
Isoleucina	4.24	4.62	4.56	0.17	0.197	0.787	0.294
Leucina	6.06	6.59	6.82	0.32	0.260	0.805	0.180
Lisina	4.70	5.38	5.43	0.28	0.107	0.937	0.094
Metionina	0.97	1.06	1.11	0.07	0.461	0.570	0.207
Fenilalanina	3.48	3.80	3.89	0.21	0.327	0.936	0.292
Treonina	5.98	6.35	6.26	0.35	0.567	0.744	0.803
Triptofano	0.94	1.18	1.07	0.05	0.007	0.125	0.118
Valina	5.24	5.41	5.75	0.24	0.655	0.461	0.249

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

La composición de aminoácidos no esenciales de la digesta ileal se muestra en el cuadro 6. Cuando se expresa como porcentaje del flujo de materia seca al íleon distal, el contenido de alanina (Ala), aspartato (Asp), cisteína (Cis), glutamato (Glu), prolina (Pro), serina (Ser) y tirosina (Tir) disminuyó en los cerdos EC-B en comparación con los alimentados con la dieta TN-B ( $P < 0.05$ ), pero no hubo diferencias entre los cerdos alimentados con la dieta TN-B o EC-Arg. En comparación con los cerdos EC-B, el contenido de Ala, Asp, Glu y Ser aumentó ( $P < 0.05$ ), y el de Cis y Tir tendió a aumentar ( $P < 0.10$ ) en los cerdos EC-Arg. Sin embargo, cuando se expresa como porcentaje del flujo de proteína cruda al íleon distal, Pro fue el único AA cuyo contenido disminuyó en los cerdos EC-B comparado con los cerdos TN-B ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 6. Composición (%) de aminoácidos no esenciales en la digesta intestinal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o dieta base adicionada con arginina (EC-Arg).

Aminoácido	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
% de la material seca							
Alanina	0.625	0.430	0.625	0.04	0.013	0.013	1.000
Aspartato	0.982	0.685	0.970	0.07	0.015	0.018	0.903
Cisteína	0.250	0.177	0.245	0.02	0.044	0.057	0.875
Glutamato	1.693	1.228	1.658	0.13	0.027	0.038	0.848
Glicina	1.150	0.920	1.150	0.11	0.186	0.186	1.000
Prolina	1.895	0.680	1.073	0.33	0.030	0.462	0.115
Serina	0.685	0.480	0.603	0.04	0.004	0.049	0.159
Tirosina	0.350	0.253	0.343	0.03	0.045	0.060	0.862
PC	12.55	8.50	11.70	0.90	0.011	0.033	0.520
% de proteína cruda							
Alanina	4.98	5.06	5.34	0.22	0.766	0.427	0.284
Aspartato	7.82	8.06	8.29	0.27	0.610	0.614	0.321
Cisteína	1.99	2.08	2.09	0.12	0.580	0.849	0.714
Glutamato	13.49	14.45	14.17	0.48	0.252	0.770	0.380
Glicina	9.16	10.82	9.83	0.79	0.195	0.454	0.552
Prolina	15.10	8.00	9.17	1.19	0.050	0.406	0.214
Serina	5.46	5.65	5.15	0.23	0.745	0.196	0.317
Tirosina	2.79	2.98	2.93	0.13	0.394	0.680	0.651

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

### Pérdida endógena de aminoácidos

La pérdida de AAs endógenos esenciales, mostrado como la recuperación diaria (g/d) de AAs de la digesta ileal, se muestra en el cuadro 7. Se observó el

efecto tanto del EC como de la suplementación con Arg. La pérdida de todos los AAs esenciales fue mayor en los cerdos EC-B que en los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P < 0.01$ ), pero no difirió entre los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P > 0.01$ ).

Cuadro 7. Recuperación diaria (g/d) de aminoácidos esenciales de la digesta ileal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg).

Aminoácido	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de $P$		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
Arginina	0.533	0.892	0.492	0.05	0.001	0.001	0.604
Histidina	0.301	0.514	0.261	0.03	0.001	0.001	0.341
Isoleucina	0.655	1.166	0.580	0.05	0.001	0.001	0.343
Leucina	0.934	1.667	0.869	0.10	0.001	0.001	0.643
Lisina	0.725	1.357	0.693	0.07	0.001	0.001	0.746
Metionina	0.150	0.266	0.142	0.01	0.001	0.001	0.581
Fenilalanina	0.538	0.958	0.496	0.06	0.001	0.001	0.616
Treonina	0.919	1.608	0.799	0.08	0.001	0.001	0.340
Triptofano	0.144	0.300	0.137	0.02	0.001	0.001	0.808
Valina	0.808	1.370	0.733	0.08	0.001	0.001	0.500
Total AAE	5.71	10.10	5.20	0.51	0.001	0.001	0.499
EEM							
Valor de $P$	<0.01	<0.01	<0.01				

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

La recuperación diaria (g/d) de AAs endógenos no esenciales de la digesta ileal se muestra en el cuadro 8. La pérdida de todos los AA (excepto Ser) fue mayor en los cerdos EC-B comparados con los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P < 0.01$ ), pero no se observaron diferencias de AA entre los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P > 0.01$ ).

Cuadro 8. Recuperación diaria (g/d) de aminoácidos no esenciales de la digesta ileal endógena de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg).

Aminoácido	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
Alanina	0.808	1.370	0.733	0.08	0.001	0.001	0.500
Aspartato	0.770	1.284	0.684	0.07	0.001	0.001	0.425
Cisteína	1.209	2.034	1.060	0.10	0.001	0.001	0.311
Glutamato	0.307	0.532	0.266	0.03	0.001	0.001	0.385
Glicina	2.083	3.645	1.798	0.20	0.001	0.001	0.335
Prolina	1.411	2.751	1.264	0.26	0.005	0.003	0.696
Serina	2.348	2.008	1.218	0.48	0.631	0.277	0.133
Tirosina	0.842	1.49	0.654	0.07	0.001	0.001	0.102
Total	9.78	15.05	7.67	1.07	0.007	0.001	0.197
EEM							
Valor de <i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01				

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

La recuperación (g/kg de MS consumida) de AAs esenciales endógenos de la digesta ileal se muestra en el cuadro 9. La pérdida endógena de todos los AAs esenciales fue mayor en los cerdos EC-B en comparación con los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P < 0.01$ ), pero no difirió entre los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P > 0.01$ )

Cuadro 9. Recuperación (g/kg MS consumida) de aminoácidos endógenos esenciales de la digesta ileal de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base suplementada con arginina (EC-Arg).

Aminoácido	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
Arginina	0.666	1.115	0.614	0.07	0.001	0.001	0.603
Histidina	0.326	0.643	0.326	0.04	0.001	0.001	0.342
Isoleucina	0.819	1.458	0.725	0.07	0.001	0.001	0.341
Leucina	1.168	2.084	1.086	0.12	0.001	0.001	0.642
Lisina	0.906	1.697	0.866	0.09	0.001	0.001	0.744
Metionina	0.188	0.332	0.177	0.01	0.001	0.001	0.578
Fenilalanina	0.672	1.198	0.620	0.07	0.001	0.001	0.613
Treonina	1.149	2.010	1.000	0.11	0.001	0.001	0.339
Triptofano	0.181	0.376	0.171	0.03	0.001	0.001	0.804
Valina	1.010	1.712	0.916	0.10	0.001	0.001	0.503
Total AAE	7.14	12.63	6.50	0.64	0.001	0.001	0.499
EEM							
Valor de <i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01				

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

La recuperación (g/kg de MS consumida) de AAs endógenos no esenciales de la digesta ileal se muestra en el cuadro 10. La pérdida endógena de todos los AAs no esenciales (excepto serina) fue mayor en los cerdos EC-B comparado con los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P < 0.01$ ), pero no difirió entre los cerdos TN-B y EC-Arg ( $P > 0.01$ )

Cuadro 10. Recuperación (g/kg MS consumida) de aminoácidos endógenos no esenciales de la digesta ileal de cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base suplementada con Arg (EC-Arg).

Aminoácido	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
Alanina	1.010	1.712	0.916	0.10	0.001	0.001	0.503
Aspartato	0.962	1.605	0.855	0.09	0.001	0.001	0.427
Cisteína	1.511	2.542	1.324	0.12	0.001	0.001	0.311
Glutamato	0.383	0.664	0.331	0.04	0.001	0.001	0.382
Glicina	2.603	4.557	2.248	0.25	0.001	0.001	0.336
Prolina	1.763	3.439	1.580	0.32	0.005	0.003	0.696
Serina	2.936	2.511	1.522	0.60	0.631	0.277	0.133
Tirosina	1.053	1.790	0.818	0.09	0.001	0.001	0.102
Total	12.22	18.82	9.59	1.33	0.007	0.001	0.197
EEM	<0.01	<0.01	<0.01				
Valor de <i>P</i>	1.01	1.71	0.92				

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

### 6.1.2 Discusión

En el presente experimento, se observó un aumento en la TC de los cerdos alojados en condiciones de estrés por calor alimentados con la dieta testigo (EC-B), de hasta 1.7 °C desde aproximadamente las 1400 a las 1700 h todos los días, comparado con el horario en que estos cerdos fueron expuestos a la TA más baja (0500 a 0800 h). Un hallazgo interesante, fue que el incremento en la TI en los cerdos EC-Arg durante las horas más cálidas del día fue alrededor de 0.6 °C menor que el de los cerdos EC-B. Estos datos concuerdan con el estudio de Wanner *et al.* (2015), quienes observaron una respuesta similar en ratas con hipertermia inducida por el ejercicio, y se reportó una reducción de ~ 0.7 °C en la TC del grupo tratado con L-arg. Esta respuesta probablemente se debe a la función de Arg como precursor en la síntesis del ON, un efector activo de la vasodilatación (Luiking *et al.*, 2010). Resultados similares se han observado en pollos de engorda en EC, mostrando una reducción en la TC central en el grupo suplementado con L-citrulina, que sirve como sustrato para reciclar la Arg (Uyanga *et al.*, 2022), que a su vez es catalizada por la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa, liberando L-citrulina y ON (Uyanga *et al.*, 2020, 2021). Además, la suplementación con Arg ha mostrado aumentar la concentración de Arg en plasma, lo que apoya la idea de incrementar la síntesis de ON endógeno (Bahadoran *et al.*, 2021). La respuesta de Arg relacionada con la TC sugiere que este AA podría desempeñar un papel fundamental en el proceso de termoregulación en animales alojados bajo condiciones de EC.

Los cerdos con hipertermia incrementan el flujo de sangre al tejido periférico con la finalidad de disipar el calor corporal (Ogoh *et al.*, 2013), pero a la vez se reduce el gasto sanguíneo hacia órganos internos (como ID), en consecuencia, el suministro de nutrientes y oxígeno que llega a las células intestinales es menor. La exposición de cerdos al calor ocasiona que el CVA se reduzca desde el 15% (Kerr *et al.*, 2003) hasta un 40% (Morales *et al.*, 2018). Esta reducción en el CVA se considera como un mecanismo adaptativo que es usado por los cerdos para minimizar la generación de calor metabólico debido al efecto térmico del alimento

(Levine, 2004; Renaudeau *et al.*, 2013). Además, se ha reportado que la TI de cerdos en EC incrementa de 1.5 hasta 2.8 °C (Morales *et al.*, 2016b; Pearce *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2010). Por lo anterior, se podría esperar mayor muerte de células intestinales en cerdos bajo EC debido al menor suministro de oxígeno y nutrientes. De hecho, se ha informado una drástica disminución de la altura de las vellosidades intestinales de cerdos en EC como evidencia de la muerte de células del ID (Yu *et al.*, 2010; Pearce *et al.*, 2013, 2014). Por lo tanto, el incremento en la TI de 1.7 °C registrado en los cerdos EC-B del presente experimento puede indicar una mayor muerte de células intestinales, que eventualmente se podrían incorporar a la digesta ileal, en comparación con los cerdos TN-B.

El incremento en la TI postprandial de 0.7 a 0.9 °C de este experimento coincide con datos reportados previamente en este laboratorio, donde se observaron aumentos en la TI de ~ 0.66 °C de cerdos en TN (Morales *et al.*, 2017) y de 0.18 a 0.61 °C en cerdos en condiciones de EC (Cervantes *et al.*, 2018). Las variaciones en el aumento de la TI postprandial posiblemente se deben a la cantidad de alimento, tipo de dieta y al peso corporal de los cerdos utilizados. El rápido aumento de la temperatura intestinal observada minutos después de la alimentación, se puede atribuir a la generación de calor provocada por el movimiento o la actividad física (Levine, 2004) debido a la excitación de los animales (saltos, chillidos y movimientos) provocados por la presencia del personal encargado de la alimentación y debido al proceso de ingesta como la masticación y deglución (Morales *et al.*, 2018).

Para adaptarse a las condiciones de EC, los cerdos dependen en gran medida de las pérdidas de calor por evaporación a través de la respiración (Fuquay, 1981). Los datos obtenidos en el presente estudio mostraron una tasa promedio de 77 expansiones abdominales / minuto a las 1700 h., resultados que concuerdan con los de Manno *et al.* (2006) y Morales *et al.* (2021), en los cuales observaron en cerdos en EC, una FR de 97 y 83, respectivamente. Aunque no se observaron diferencias significativas entre los grupos EC-B y EC-Arg, la diferencia encontrada

entre los horarios puede explicarse a que el registro de la FR de la mañana (0700), se realizó durante las horas más frescas del día (0500 - 0800 h), donde la TA de la sala es más cercana a la zona TN de los cerdos (~29 °C). Varios estudios muestran esta similitud al encontrar la menor FR de cerdos en EC durante el registro de la mañana en comparación con la toma vespertina (Patience *et al.*, 2005; Maskal *et al.*, 2018; Morales *et al.*, 2021).

El material endógeno recuperado al final del ID, que no proviene del alimento consumido no digerido, incluye mucoproteínas (mucinas), células epiteliales descamadas, enzimas digestivas y bacterias (Krawielitzki *et al.*, 1990; Souffrant *et al.*, 1993; Nyachoti *et al.*, 1997). Se estima que el contenido de proteína de las células muertas desprendidas, mucinas y enzimas digestivas, representan cerca del 67% del total de proteínas endógenas que ingresan al tracto gastrointestinal en cerdos bajo condiciones ambientales de termoneutralidad (Low, 1985). La secreción de enzimas pancreáticas (tripsinógeno, quimotripsinógeno, amilasa, lipasa, entre otros) puede representar, en conjunto, del 13 al 27 % del nitrógeno endógeno total (Corring *et al.*, 1984). Buraczewska (1979) informó que el nitrógeno (o proteína endógena) secretado al lumen intestinal proviene principalmente de mucoproteínas y de las propias células intestinales descamadas. La variación en la composición de AAs de las proteínas endógenas colectadas en íleon es dependiente de factores como la fuente, digestibilidad de la proteína y la reabsorción de los AAs que son liberados durante la digestión de las proteínas (Nyachoti *et al.*, 1997). Las proteínas de las células intestinales descamadas son ricas en Leu, Lis, Glu y glicina (Gli; Mahan y Shields, 1998). Se estima que alrededor del 80 - 85% de las las proteínas de las células descamadas pueden digerirse y los AAs liberados pueden ser reabsorbidos previo a su paso por el intestino grueso (Souffrant *et al.*, 1993; Fuller y Reeds, 1998). Sin embargo, las mucoproteínas (mucina) son glucoproteínas pobremente digestibles antes de llegar al intestino grueso (Montagne *et al.*, 2000) y su composición es entre 10 a 20 % de proteínas, muy abundante en residuos de Tre, Pro y Ser (Perez-Vilar y Hill, 1999). En el presente experimento, los AAs más abundantes de las proteínas endógenas recuperadas en el íleon distal de los cerdos

fueron Leu, Tre, y Lis, independientemente de la dieta ingerida o las condiciones de temperatura ambiente a la que se expusieron los animales. Los resultados de la composición de AAs de las proteínas endógenas reportadas en el experimento actual son muy similares a estudios anteriores (de Lange *et al.*, 1989; Schulze *et al.*, 1995; Morales *et al.*, 2016<sup>a</sup>; Brestenský *et al.*, 2017). El mayor contenido de Arg en las proteínas endógenas recuperadas en el íleon distal de los cerdos alimentados con la dieta EC-Arg, en comparación con la de los cerdos TN-B y EC-B, se atribuye a la suplementación de Arg a la dieta basal.

En los cerdos expuestos a EC (EC-B y EC-Arg), la tendencia a mayor contenido de Lis en las proteínas endógenas en comparación con los cerdos TN-B sugiere que se incrementa la muerte de células intestinales las cuales se incorporan al contenido intestinal y podrían contribuir a incrementar la pérdida de proteínas endógenas en conjunto con las mucoproteínas en los cerdos expuestos a EC. Esta suposición está respaldada en el hecho que los valores de Tre, que es considerado el AA más abundante en las mucoproteínas, fueron similares en las dietas experimentales (1.3 g/kg de alimento). Sin embargo, el grupo EC-B incrementó la pérdida de éste AA en comparación con los cerdos TN-B. Estos resultados podrían explicarse por las evidencias publicadas recientemente por Vásquez *et al.* (2022), quienes reportaron un incremento de células productoras de mucina en duodeno los días 2 y 5 posteriores a la exposición de cerdos a EC, lo cual sugiere un incremento en la producción de mucina como mecanismo para prevenir la translocación de toxinas o microorganismos a través de la barrera intestinal (Johansson *et al.*, 2011). Por otro lado, aunque no hay una explicación clara para el mayor contenido de Trp (~25%) en las proteínas endógenas de los cerdos EC-B comparado con los cerdos TN-B, puede deberse a la actividad microbiana intestinal (Davila *et al.*, 2013) ya que la exposición de los cerdos a condiciones de EC ha mostrado alteraciones en la composición de la microbiota intestinal. Específicamente una menor abundancia de *Lactobacillus* (Le Sciellour *et al.*, 2019; Xiong *et al.*, 2022), reconocidos como bacterias que metabolizan el Trp (Liang *et al.*, 2019). Recientemente en nuestro laboratorio González *et al.* (2024) encontraron

una abundancia reducida de *Lactobacillus sp.* en cerdos en EC en comparación con cerdos en condiciones de termoneutralidad, lo que concuerda estrechamente con las observaciones anteriores.

La pérdida endógena de AAs se considera como la cantidad de AAs en proteínas endógenas que no provienen de la dieta y son recuperados en el íleon terminal (Souffrant *et al.*, 1991; Tamminga *et al.*, 1995). En el presente experimento se observó un incremento del 77% (12.63 vs 7.14 g/kg MS consumida) en la recuperación de AAs esenciales endógenos en cerdos EC-B, en comparación con los cerdos TN-B, y puede explicarse por el supuesto incremento en la cantidad de células muertas intestinales y la síntesis de mucinas que se incorporan a la digesta intestinal en los cerdos en EC. Lo anterior lo respalda el hecho que Lis es muy abundante en las células intestinales (Mahan y Shields, 1998) y se observó un incremento de ~2 veces la recuperación ileal de Lis en los cerdos EC-B. Además, en los cerdos EC-B la mayor recuperación ileal de Tre (74%), Cis (68%) y Pro (95%) indica un incremento en la incorporación de mucinas a la digesta intestinal, ya que éstos son los AAs más abundantes en las mucinas intestinales. Varios autores han demostrado que la exposición de los cerdos a estrés por calor tiene como consecuencia una disminución en la altura de las vellosidades intestinales (Yu *et al.*, 2010; Pearce *et al.*, 2014; Morales *et al.*, 2021, 2023), esto podría sugerir una reducción en la abundancia de células intestinales absortivas (enterocitos), lo cual puede traducirse en menor capacidad de reabsorción de AAs endógenos antes de llegar a íleon distal. Morales *et al.* (2014) observaron una reducción en la expresión de RNAm que codifica para transportadores AAs ( $b^{0,+}$ ) en cerdos en EC en comparación con cerdos en TN. En este sentido, parece que el EC reduce la capacidad de los cerdos de reabsorber los AAs liberados durante la digestión de proteínas endógenas.

Por otra parte, el contenido de AAs en la digesta recuperada en el íleon distal de los cerdos EC-B fue, en promedio, de alrededor de 32% menor que el de los cerdos TN-B. Sin embargo, el flujo ileal diario de MS en los cerdos EC-B fue 220%

mayor en comparación con los cerdos TN-B. El núcleo peptídico de la mucina está compuesto del 10 al 20% de proteína, el resto de la masa de la mucina (80 – 90%) se conforma de oligosacáridos (Faure *et al.*, 2002). Este alto contenido de polisacáridos podría describir el mayor flujo ileal de MS en los cerdos EC-B y a su vez, explica la mayor recuperación de todos los AAs esenciales de los cerdos EC-B a pesar del menor contenido de AAs en la digesta ileal recuperada, en comparación con los cerdos TN-B.

Las células caliciformes (secretoras de mucina) y los enterocitos (células absortivas), son las células más abundantes en las vellosidades intestinales, se estima que el recambio de células epiteliales ocurre cada 3 a 5 días en condiciones fisiológicas normales (Clevers, 2013). Este corto período impone un requisito para la autorrenovación celular, impulsada por poblaciones de células madre adultas localizadas en la cripta de las vellosidades intestinales (Barker, 2014). Y a su vez, para prevenir la erosión de células hacia la base de las vellosidades, el daño del epitelio, y conservar las funciones de digestión y absorción normal de nutrientes. La Arg es un AA considerado funcional (Wu *et al.*, 2009) debido a que participa en la proliferación celular (Timmons *et al.*, 2012), actúa como un activador de la ruta de señalización de mTOR para promover el inicio de la traducción del ARNm en las células (Tan *et al.*, 2010), cumple una función antioxidante (Lawler *et al.*, 2002) y es el sustrato fisiológico nitrogenado utilizado para la producción de ON durante la dilatación de los vasos sanguíneos (Anggard, 1994; Wu, 2009). Por tanto, Arg parece ayudar a mantener la integridad del epitelio del ID y a mantener sus funciones de digestión y de absorción normales en condiciones de TN. Además, la suplementación con Arg ayudó a atenuar el daño intestinal inducido por el calor en cerdos en engorda (Yi *et al.*, 2020) y a recuperar de manera parcial la altura de las vellosidades de los segmentos de ID en cerdos en condiciones de EC reportado previamente por este laboratorio en Morales *et al.* (2021).

Durante períodos de EC se espera que debido al acortamiento de las vellosidades del ID se reduzca el número de enterocitos, en comparación con las

vellosidades normales, lo que puede traducirse en una menor abundancia de transportadores de AAs y, en consecuencia, una reducción en la reabsorción de AAs endógenos. Sin embargo, los resultados reportados por Morales *et al.* (2021) donde se presume una restauración del epitelio intestinal de cerdos en EC alimentados con una dieta suplementada con Arg, sugiere una mejora en la capacidad de absorción de AAs en estos cerdos. Así, en comparación con los cerdos EC-B, la menor pérdida de AAs endógenos en los cerdos EC-Arg puede explicarse por varios factores como a) una reducción en la muerte de células intestinales lo cual disminuye su contribución a la pérdida total de AA endógenos, b) un incremento en el número de enterocitos debido a la supuesta mayor altura de las vellosidades intestinales, c) una mejor capacidad digestiva y absorptiva a medida que aumenta la abundancia de enterocitos y con ello las aminopeptidasas intestinales y transportadores de AAs.

La absorción de AAs liberados posterior a la digestión de la proteína endógena y de la dieta es facilitada por proteínas transportadoras específicas ubicadas en la membrana apical y basolateral de los enterocitos (Bröer, 2008), siendo específico para Arg y Lis el sistema de transporte  $b^{0,+}$ . Sin embargo, su abundancia depende de varios factores, entre ellos la temperatura ambiente, la forma en la que son suministrados los AAs (libres o unidos a proteína) y su concentración en la dieta. Informes en estudios previos realizados en este laboratorio (Morales *et al.*, 2014) mostraron una menor abundancia del sistema de transporte  $b^{0,+}$  en cerdos expuestos a EC, en comparación con cerdos en TN, probablemente como consecuencia de acortamiento de vellosidades intestinales, y con ello un número reducido de enterocitos (Pearce *et al.*, 2013, 2014). Por otro lado, la abundancia de ARNm que codifica para el transportador de AAs catiónicos  $b^{0,+}$  en el yeyuno de los cerdos aumentó a medida que incrementó el contenido de Lis en forma libre en la dieta (Morales *et al.*, 2015), lo que indica que su abundancia depende de la presencia de AAs libres. También observamos una mayor abundancia de ARNm que codifica  $b^{0,+}$  en el duodeno de cerdos EC alimentados con una dieta suplementada con 0.16% de Arg y 0.56% de Lis libres (Morales *et al.*,

2021). En el presente experimento, el aumento en el número de enterocitos debido a un supuesto incremento en la altura de las vellosidades intestinales restauradas de los cerdos EC-Arg, en combinación con la presencia de 0.20% de Arg libre en su dieta podría sugerir una mayor abundancia del transportador b<sup>0,+</sup> en comparación con los cerdos EC-B. Esto podría explicar adicionalmente la menor pérdida de todos los AAs endógenos en los cerdos EC-Arg, en comparación con los cerdos EC-B.

### **6.1.3 Conclusión**

En conclusión, nuestros resultados confirman que el EC tiene un efecto negativo muy importante sobre la pérdida de AAs endógenos en los cerdos, además que se incrementa la temperatura corporal. Estos resultados indican que suplementar la dieta con Arg libre ayuda a contrarrestar el efecto negativo del EC al reducir la pérdida de AAs endógenos, lo que parece estar relacionado también con la reducción en la TC de los cerdos durante las horas más calientes del día. Sin embargo, los resultados del presente experimento deben tomarse con precaución porque la ingesta de un 0.20% de Arg libre podría provocar una respuesta diferente en cerdos alimentados con una dieta convencional que contiene niveles más altos de AAs.

## 6.2 Efecto de arginina en la digestibilidad ileal, concentración de aminoácidos y metabolitos séricos (Experimento 2)

### 6.2.1 Resultados

#### 6.2.1.1 Temperatura ambiente

Los datos de TA registrados en intervalos de 15 minutos dentro de las salas TN y EC durante el estudio oscilaron entre 18.6 y 27.6 °C y entre 28.9 y 39.3, respectivamente (Fig 6). La TA más baja en la sala de EC se registró entre 0500 y 0600 h, y la más alta se registró entre las 1330 y 1530. Todos los cerdos se mostraron sanos sin síntomas de desórdenes gastrointestinales como diarrea durante todo el período experimental.

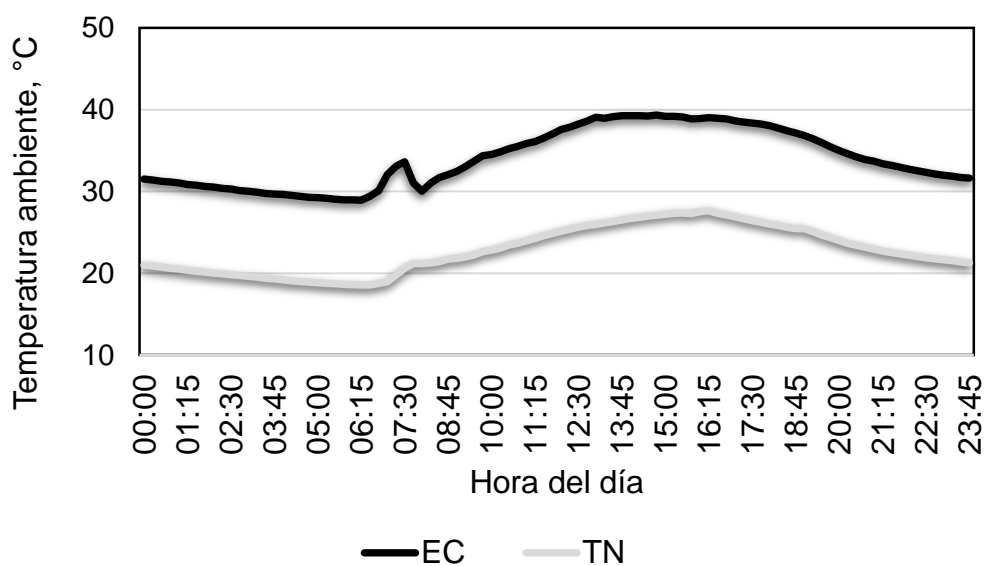


Figura 6. Temperatura ambiente promedio registrada a intervalos de 15 min en la sala termoneutral (TN) y sala de estrés por calor (EC) durante los 7d del estudio.

#### 6.2.1.2 Temperatura intestinal

La temperatura intestinal de cerdos dentro de la sala EC alimentados con la dieta EC-B o EC-Arg registrada cada 5 min mostró un patrón similar a los cambios en la TA en la sala de EC (Fig 7). La TI diaria no difirió entre los tratamientos EC-B

y EC-Arg en promedio, sin embargo, el grupo de cerdos EC-Arg aumentó su TI hasta 1.3 °C entre las 1500 y 1900 h todos los días, en comparación con los cerdos TN-B durante las horas del día con el registro de la TA más baja (0500-0800 h). Por otro lado, se observó un incremento de entre 0.40 a 0.60 °C en la TI de ambos grupos de cerdos los primeros minutos después de ingerir su alimento.

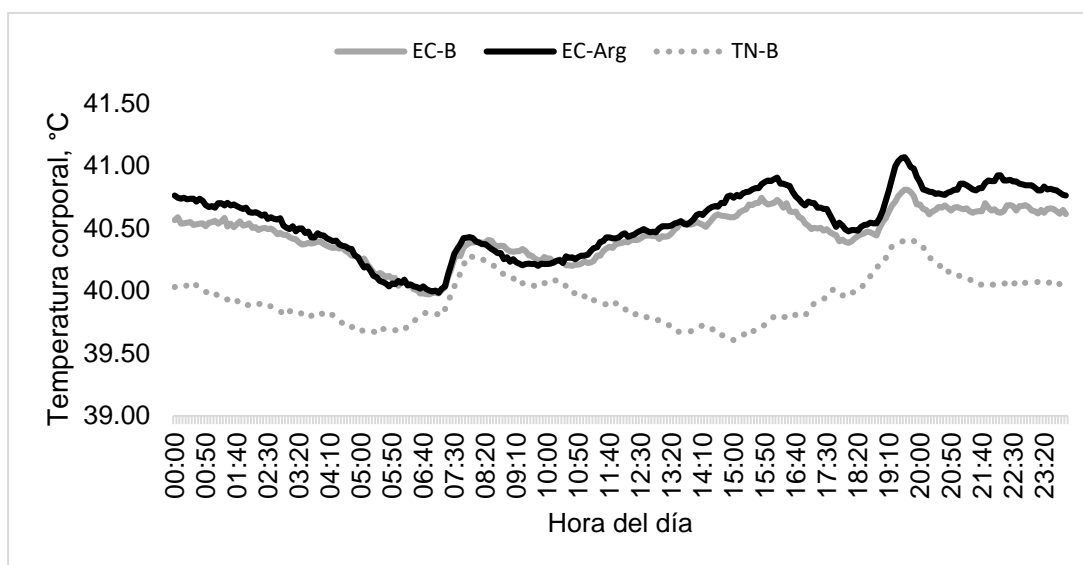


Figura 7 Temperatura intestinal promedio de los cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta basal (EC-B) o adicionada con arginina (EC-Arg) y cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta basal (TN-B), registrada a intervalos de 5 minutos durante los 7 días del estudio.

### 6.2.1.3 Flujo ileal de aminoácidos de la digesta

El flujo ileal total (g/d) de AAs esenciales y no esenciales de la digesta se presenta en el cuadro 11. El flujo ileal diario de Arg fue menor en cerdos en EC adicionados con Arg ( $P < 0.05$ ) y en cerdos EC-Arg comparados con TN-B ( $P < 0.05$ ), Met tendió a incrementar ( $P < 0.10$ ) en cerdos EC-B comparados con cerdos TN-B, Trp se redujo ( $P < 0.05$ ) y Fen tendió a reducir ( $P < 0.10$ ) en cerdos EC-Arg. Los AAs esenciales restantes His, Ile, Leu, Lis, Tre y Val no difirieron entre tratamientos ( $P > 0.10$ ). En cuanto a AAs no esenciales, Asp y Glu tendieron a incrementar ( $P < 0.10$ ) en cerdos en EC-B comparados con TN-B.

Cuadro 11. Flujo ileal total (g/d) de aminoácidos en cerdos en termoneutralidad alimentados con una dieta basal (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con una dieta basal (EC-B) o una dieta basal suplementada con arginina (EC-Arg).

Aminoácidos	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
<b>Esenciales</b>							
Arginina	0.916	0.956	0.820	0.025	0.280	0.002	0.019
Histidina	0.488	0.494	0.453	0.019	0.822	0.150	0.218
Isoleucina	0.967	1.031	0.978	0.032	0.190	0.269	0.821
Leucina	1.574	1.675	1.542	0.061	0.266	0.150	0.720
Lisina	1.388	1.438	1.295	0.065	0.587	0.140	0.331
Metionina	0.317	0.352	0.323	0.012	0.064	0.118	0.725
Fenilalanina	0.997	1.036	0.941	0.035	0.454	0.082	0.283
Treonina	1.218	1.258	1.158	0.048	0.570	0.165	0.388
Triptofano	0.246	0.276	0.228	0.013	0.121	0.021	0.373
Valina	1.249	1.326	1.237	0.057	0.359	0.288	0.877
<b>No</b>							
<b>esenciales</b>							
Alanina	1.447	1.483	1.346	0.127	0.842	0.459	0.585
Aspartato	1.710	2.212	2.102	0.205	0.100	0.711	0.200
Cisteína	1.024	0.525	0.459	0.318	0.289	0.886	0.232
Glutamato	2.757	3.392	3.056	0.234	0.079	0.329	0.384
Glicina	1.445	1.516	1.485	0.085	0.562	0.798	0.744
Prolina	1.241	1.490	1.520	0.163	0.302	0.898	0.250
Serina	0.868	1.004	0.898	0.058	0.123	0.220	0.721
Tirosina	0.485	0.644	0.580	0.024	0.251	0.986	0.245
PC	16.4	22.8	20.9	2.6	0.100	0.610	0.249

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

#### **6.2.1.4 Digestibilidad ileal aparente de aminoácidos**

La digestibilidad ileal aparente (%) de aminoácidos esenciales y no esenciales se muestra en el cuadro 12. La digestibilidad de los AAs esenciales no difirió entre cerdos de los tratamientos TN-B y EC-B ( $P > 0.10$ ). Cerdos alimentados con la dieta EC-Arg comparados con EC-B mostraron mayor digestibilidad de Arg, Leu, Tre y Trp ( $P < 0.05$ ) y tendencia a aumentar Ile, Lis, Met y Fen ( $P < 0.10$ ). Además, en comparación con los cerdos TN-B se observó incremento en la digestibilidad de Arg, His y Lis ( $P < 0.05$ ) así como una tendencia a incrementar Ile, Tre y Trp ( $P < 0.10$ ). En los AAs no esenciales, en comparación con los cerdos TN-B se observó menor digestibilidad de Pro ( $P < 0.05$ ) y Glu tendió a ser menor ( $P < 0.10$ ) en el grupo EC-B, pero no hubo diferencia para ningún AA no esencial entre los cerdos EC-Arg comparados con cerdos EC-B y TN-B ( $P > 0.10$ ).

Cuadro 12. Digestibilidad ileal aparente (%) de aminoácidos en cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg).

Aminoácidos	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
Esenciales							
Arginina	88.20	87.44	91.13	0.46	0.269	0.001	0.001
Histidina	86.74	87.04	88.25	0.53	0.473	0.176	0.050
Isoleucina	82.93	82.71	85.10	0.69	0.971	0.052	0.051
Leucina	84.76	83.07	86.32	0.77	0.323	0.023	0.142
Lisina	84.84	85.29	87.38	0.70	0.556	0.097	0.033
Metionina	88.54	87.93	89.48	0.53	0.605	0.099	0.232
Fenilalanina	85.67	85.54	87.14	0.66	0.846	0.088	0.123
Treonina	80.47	80.09	83.37	0.89	0.820	0.039	0.056
Triptofano	86.61	85.42	88.23	0.78	0.369	0.012	0.100
Valina	82.63	82.28	84.38	0.88	0.956	0.180	0.165
No esenciales							
Alanina	77.52	73.29	77.03	1.41	0.162	0.133	0.903
Aspartato	80.39	77.82	80.13	1.13	0.125	0.372	0.541
Cisteína	83.03	80.76	83.51	1.04	0.255	0.135	0.691
Glutamato	92.31	91.39	92.26	0.59	0.079	0.330	0.385
Glicina	75.51	73.88	75.64	1.29	0.513	0.424	0.880
Prolina	90.70	89.58	90.47	0.60	0.050	0.174	0.512
Serina	85.09	83.53	85.35	0.94	0.123	0.220	0.721
Tirosina	87.20	85.25	86.90	0.93	0.286	0.298	0.978

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

### **6.2.1.5 Digestibilidad ileal estandarizada de aminoácidos**

La digestibilidad ileal estandarizada (%) de aminoácidos esenciales y no esenciales se presenta en el cuadro 13. La digestibilidad de Met tendió a ser mayor ( $P < 0.10$ ) en cerdos TN-B comparado con cerdos EC-B. Cerdos alimentados con la dieta EC-Arg comparados con cerdos EC-B mostraron mayor digestibilidad de Arg, Trp ( $P < 0.05$ ) y una tendencia a mayor digestibilidad de Fen ( $P < 0.10$ ). Por su parte, la digestibilidad de Arg tendió a ser mayor en el grupo EC-Arg en comparación con los cerdos TN-B. Para los AAs no esenciales, la digestibilidad de Ala, Asp y Glu tendió a ser menor ( $P < 0.10$ ) en el grupo de cerdos EC-B comparado con los cerdos TN-B, pero no se observaron diferencias entre los cerdos alimentados con la dieta EC-Arg, en comparación con los cerdos EC-B y TN-B ( $P > 0.10$ ).

Cuadro 13. Digestibilidad ileal estandarizada (%) de aminoácidos en cerdos en termoneutralidad alimentados con la dieta base (TN-B) o cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg).

Aminoácidos	Tratamiento			EEM	Contrastes <sup>1</sup> , Valor de <i>P</i>		
	TN-B	EC-B	EC-Arg		TA	Arg	TA/Arg
<b>Esenciales</b>							
Arginina	96.73	95.98	97.87	0.46	0.274	0.014	0.100
Histidina	96.50	96.33	97.39	0.49	0.813	0.149	0.217
Isoleucina	96.79	95.75	96.62	0.53	0.191	0.270	0.821
Leucina	95.93	95.02	96.22	0.56	0.268	0.152	0.717
Lisina	94.98	94.48	95.91	0.65	0.587	0.142	0.331
Metionina	95.53	94.36	95.32	0.41	0.063	0.117	0.723
Fenilalanina	95.19	94.66	95.96	0.48	0.455	0.083	0.285
Treonina	97.77	97.17	98.70	0.74	0.573	0.166	0.389
Triptofano	96.31	94.71	97.27	0.68	0.120	0.020	0.337
Valina	96.29	95.29	96.45	0.73	0.360	0.289	0.877
<b>No esenciales</b>							
Alanina	91.52	90.87	93.29	2.23	0.842	0.458	0.584
Aspartato	92.15	87.22	88.30	2.00	0.100	0.712	0.200
Glutamato	93.99	92.40	93.24	0.59	0.078	0.328	0.384
Glicina	116.91	115.67	116.22	1.46	0.562	0.798	0.744
Prolina	103.10	101.31	101.09	1.18	0.302	0.899	0.250
Serina	121.95	119.75	121.47	0.94	0.123	0.221	0.721
Tirosina	107.98	106.46	107.89	0.93	0.273	0.298	0.951

<sup>1</sup> Contrastes: TA, TN-B vs. EC-B; Arg, EC-B vs. EC-Arg; TA/Arg, TN-B vs. EC-Arg.

#### **6.2.1.6 Concentración sérica de aminoácidos y metabolitos**

La concentración de aminoácidos en el suero sanguíneo de cerdos en estrés por calor se muestra en el cuadro 14. La concentración de los AAs esenciales Arg, His, Lis, Met, así como los AAs no esenciales glutamina (Gln), Gli, Ser y Tir fue mayor ( $P < 0.05$ ) mientras que Fen y Pro tendieron a ser mayores ( $P < 0.10$ ) en los cerdos EC-Arg en comparación de los cerdos EC-B.

Cuadro 14. Concentración de aminoácidos en suero sanguíneo ( $\mu\text{g/ml}$ ) de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg)

Aminoácidos	Tratamiento		EEM	Valor de <i>P</i>
	EC-B	EC-Arg		
<b>Esenciales</b>				
Arginina	42.18	58.37	4.13	0.024
Histidina	14.55	18.01	1.03	0.045
Isoleucina	19.20	21.80	2.33	0.454
Leucina	27.96	34.48	2.82	0.141
Lisina	28.05	45.53	3.55	0.008
Metionina	10.22	14.01	0.92	0.020
Fenilalanina	19.31	24.52	1.61	0.052
Treonina	42.41	59.17	5.71	0.715
Triptofano	8.16	7.88	0.79	0.812
Valina	42.27	48.89	3.53	0.221
<b>No esenciales</b>				
Alanina	87.04	101.85	7.44	0.197
Asparagina	13.81	17.18	1.34	0.114
Aspartato	3.76	3.476	0.41	0.637
Cisteína	1.46	1.80	0.433	0.594
Glutamina	98.68	123.88	7.52	0.045
Glutamato	2.17	29.33	4.31	0.979
Glicina	74.21	94.55	5.96	0.042
Prolina	72.63	93.45	7.17	0.074
Serina	23.54	29.41	1.80	0.050
Tirosina	19.18	26.22	2.11	0.047

Se consideraron niveles de probabilidad de  $P < 0.05$  y  $0.05 \leq P < 0.10$  como significativas y tendencias, respectivamente.

La concentración de metabolitos en suero sanguíneo de cerdos en estrés por calor se muestra en el cuadro 15. Se observó mayor concentración de ornitina y urea ( $P < 0.01$ ) y tendencia a ser mayor la concentración del ácido  $\alpha$ -aminoadípico y etanolamina ( $P < 0.10$ ) en el grupo de cerdos EC-Arg comparados con cerdos EC-B.

Cuadro 15. Concentración sérica de metabolitos (mg/dL) de cerdos en estrés por calor alimentados con la dieta base (EC-B) o la dieta base adicionada con arginina (EC-Arg)

Metabolitos	Tratamiento			Valor de <i>P</i>
	EC-B	EC-Arg	EEM	
1mHistidina	1.53	1.61	0.08	0.48
3mHistidina	1.20	1.32	0.08	0.34
Ácido α-aminoadípico	3.86	5.16	0.47	0.09
AABA	2.97	3.46	0.39	0.40
Ans	0.59	0.61	0.06	0.84
BetaAlanina	2.38	2.02	0.23	0.31
β-AIA	0.76	0.25	0.20	0.13
Car	3.19	3.02	0.51	0.82
Cit	21.59	23.88	1.68	0.36
Cista	1.12	0.93	0.13	0.33
OHamina	2.63	1.35	0.49	0.10
GABA	0.05	0.03	0.03	0.69
OHProlina	11.36	11.98	1.22	0.73
OHLisina	0.52	0.78	0.16	0.30
Orn	11.26	19.23	1.31	< 0.01
PSerina	1.98	2.09	0.35	0.82
Sar	3.15	3.65	0.20	0.12
Tau	18.10	19.22	1.39	0.58
Urea	155.18	226.35	12.56	0.01

Se consideraron niveles de probabilidad de  $P < 0.05$  y  $0.05 \leq P < 0.10$  como significativas y tendencias, respectivamente.

### 6.2.2 Discusión

En cerdos en crecimiento el aumento en la TC y la reducción del CVA son indicadores claros de EC (Yu *et al.*, 2010; Pearce *et al.*, 2014). En este estudio, los cerdos alojados en EC fueron expuestos a TA superior a 33 °C por más de 12 horas continuas, alcanzando una temperatura máxima de 39.3 °C entre las 1300 y 1500 h, comparado con cerdos en TN que fueron expuestos a TA en un rango entre 18.6 y 27.6 °C, confirmando así que los cerdos en la sala de EC fueron expuestos a condiciones de hipertermia durante todo el estudio (Morales *et al.*, 2015, 2016a). En el presente experimento, se observó un aumento en la TI de 0.77 a 0.92 °C, para los cerdos EC-B y EC-Arg, respectivamente, desde aproximadamente las 1400 a las 1700 h todos los días, comparado con el horario en que estos cerdos fueron expuestos a la TA más baja (0500 a 0800 h). Algo interesante y contrario a lo observado en el experimento 1 del presente trabajo, es que la TI del grupo de cerdos EC-Arg no mostró diferencias significativas en comparación con la TI de los cerdos EC-B, probablemente se debe a que en este estudio se proporcionó alimento a base de trigo y pasta de soya, que se compone de ingredientes complejos de múltiples fuentes (fibra, isoflavonas, polifenoles, etc). Por otro lado, las dietas semi-purificadas están formuladas con ingredientes refinados y altamente digestibles (Takahashi y Ono, 2021), por lo que la digestión de los diferentes ingredientes en ambas dietas pudiera alterar en diferente magnitud la TI de los cerdos.

La mayoría de los sistemas comerciales de crecimiento y finalización utilizan el método de alimentación *ad libitum*, en donde los cerdos ajustan su consumo de alimento para compensar los cambios en la TA (Le Dividich *et al.*, 1998). Además, durante eventos de hipertermia, la irrigación sanguínea hacia los órganos internos es canalizada hacia la periferia para tratar de maximizar la disipación del calor (Kpodo *et al.*, 2020), lo que puede provocar una reducción del suministro de nutrientes y oxígeno que llega a células del ID (Hall *et al.*, 1999), y por ende, la hipoxia. En última instancia, se incrementa la producción de radicales libres, que pueden causar la alteración de macromoléculas como las proteínas y el ADN, provocando daños o incluso la muerte celular y tisular (Yoshikawa y Naito, 2002).

El daño intestinal asociado al EC se puede observar principalmente en la reducción de la altura de las vellosidades, lo cual se ha reportado ampliamente (Pearce *et al.*, 2013; Gabler y Pearce, 2015). El tracto gastrointestinal es particularmente vulnerable a las alteraciones inducidas por el EC (Varasteh *et al.*, 2015), por lo que el aumento en la TI de hasta 1.3 °C en los cerdos EC-Arg, podría ser indicador de un aumento en la muerte de células intestinales, en comparación con los cerdos TN-B. El incremento en la TI registrado es similar a otros estudios, por ejemplo, Morales *et al.* (2015) y Kpodo *et al.* (2020) observaron un aumento en la TI de 1.6 y 1.75 °C, respectivamente, en comparación con cerdos en condiciones TN. Además, el aumento observado en la pérdida endógena de AAs en cerdos expuestos a EC en comparación con cerdos en TN, en el experimento 1, así como en trabajos previos de este laboratorio (Morales *et al.*, 2016a), podría modificar los valores de digestibilidad ileal aparente y estandarizada de AAs.

El incremento en la TI postprandial de 0.4 a 0.6 °C de los cerdos en EC del presente experimento es similar a datos reportados previamente en estudios hechos por este laboratorio. Morales *et al.* (2016, 2017) observaron aumentos en la TI de ~ 0.66 °C de cerdos en TN y Cervantes *et al.* (2018) variaciones en la TI postprandial de 0.18 a 0.61 °C en cerdos en condiciones de EC. El incremento rápido en la TI después de la alimentación es atribuible a la actividad física, que promueve la termogénesis (Levine, 2004), así como al proceso de masticación y deglución del alimento (Morales *et al.*, 2018).

La digestión de la proteína de la dieta es un proceso que comienza con la actividad de proteasas pancreáticas que liberan péptidos y AAs (Ruthenbürger *et al.*, 2006). Los pasos finales en la digestión de péptidos están asociados con las células epiteliales de la mucosa, específicamente a los enterocitos, que comprenden la mayoría de las células diferenciadas de la vellosidad intestinal (Hooton *et al.*, 2015). El último paso consiste en digerir los péptidos para liberar AAs mediante peptidasas intestinales ubicadas en el borde del cepillo de los enterocitos (Le Huërou-Luron, 2002). Estos procesos de digestión y absorción están

directamente relacionados con la superficie del epitelio, la cual está en función de la altura de la vellosidad, la profundidad de la cripta, y la relación entre ambas. Características que pueden considerarse como indicadores de la capacidad de absorción de los nutrientes de la dieta (Zhao *et al.*, 2016). Sin embargo, frente a la reducción del flujo sanguíneo intestinal durante el EC, la punta de las vellosidades se vuelve progresivamente hipóxica, lo que produce lesiones y muerte celular. Por lo tanto, se produce un desprendimiento de células del epitelio desde la punta de las vellosidades hacia las criptas (Shepherd y Granger, 2001) lo que en consecuencia disminuye la altura de las vellosidades intestinales (Kpodo *et al.*, 2020). En este sentido, la combinación de una menor altura de las vellosidades y el aumento en la descamación de células intestinales en cerdos en EC, podría disminuir la absorción de nutrientes como resultado de la reducción en la capacidad digestiva provocada por una menor abundancia de peptidasas intestinales (Curry *et al.*, 2017).

Los AAs son importantes sustratos energéticos en la mucosa intestinal, son constituyentes limitantes de proteínas y pueden regular respuestas inmunitarias y el estrés oxidativo (Wu *et al.*, 2013). Algunos AAs parecen tener un papel importante en el mantenimiento de la salud intestinal ya que su demanda puede aumentar durante períodos de exposición a diferentes tipos de estrés y pueden restaurar o ayudar a que las funciones se recuperen y vuelvan a la homeostasis después de un desafío (Chalvon *et al.*, 2021).

El material protéico que se recupera al final del ID proviene de mucoproteínas (mucinas), del alimento consumido que no fue digerido, células epiteliales descamadas, enzimas digestivas y bacterias (Souffrant *et al.*, 1993; Nyachoti *et al.*, 1997). La composición de AAs de este material es variable y depende de factores como la digestibilidad de los componentes y la reabsorción de los AAs liberados durante la digestión de la proteína (Mahan y Shields, 1998). Algunos autores (Souffrant *et al.*, 1993; Fuller y Reeds, 1998) estiman que entre el 80 a 85% de las proteínas de origen endógeno pueden ser digeridas y los AAs que las componen

pueden ser reabsorbidos previo a su paso hacia el intestino grueso. Algunas excepciones, sin embargo, se deben tener en cuenta, ya que proteínas como las mucinas son pobremente digestibles y los principales AAs que la componen como residuos de Tre, Pro y Ser no son reabsorbidos totalmente antes de llegar al intestino grueso (Perez-Vilar y Hill, 1999; Montagne *et al.*, 2000). Los residuos de AAs más abundantes en las mucoproteínas del cerdo son Tre (aproximadamente 34%), seguida de Pro (14%) y Ser (13%; Souffrant, 1991). Sin embargo, no se observaron diferencias en el flujo ileal ni en la DIA de ninguno de estos AA, lo que puede indicar que la mucina no es la principal fuente de AAs que llegan al íleon. Por otro lado, el mayor flujo ileal de Arg en los cerdos EC-Arg en comparación con los cerdos TN-B y EC-B, se atribuye a la suplementación de Arg a la dieta basal. Aunque no está del todo claro el menor flujo ileal de Trp de los cerdos EC-Arg comparado con los cerdos EC-B, esta diferencia se pudiera atribuir a la utilización de éste AA por la microbiota intestinal (Davila *et al.*, 2013).

La digestibilidad ileal aparente de los AAs se define como la desaparición neta de los AAs provenientes de la dieta que no aparecen en la digesta al final del ID. Los valores de DIA no toman en cuenta la presencia de AAs endógenos en el flujo intestinal (Stein *et al.*, 2007). En el presente experimento, la DIA de Arg, Ile, Leu, Tre y Trp fue mayor ( $P < 0.05$ ) y tendió a ser mayor para Lis, Met y Fen ( $P < 0.10$ ) en los cerdos en EC-Arg en comparación con los cerdos EC-B. Sin embargo, no se observaron diferencias entre los cerdos TN-B y EC-B, contrario a lo reportado previamente en este laboratorio por Morales *et al.* (2016a) donde se reportó una reducción en la DIA de dos AA catiónicos (Arg e His) y un AA neutro (Leu), en cerdos en EC comparados con animales en TN. Por otro lado, los valores superiores de DIA de Arg, His, Ile, Lis y tendencia a ser mayores Tre y Trp en los cerdos EC-Arg en comparación a los cerdos TN-B, se pueden atribuir a las propiedades que cumple Arg. La Arg es un AA considerado funcional (Wyss *et al.*, 2000), puede actuar como activador de la vía de señalización mTOR (Tan *et al.*, 2015). También funciona como antioxidante al ser precursor de la creatina, que incrementa la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y catalasa (Lawler *et al.*, 2002).

Además, es un precursor en la síntesis de poliaminas (Wu *et al.*, 2009) que pueden ayudar a restaurar el epitelio intestinal estimulando la proliferación celular (Timmons *et al.*, 2012). En estudios previos de este laboratorio (Morales *et al.*, 2021) se reportaron incrementos en la altura de las vellosidades del duodeno, yeyuno e íleon de cerdos en EC alimentados con una dieta suplementada con Arg libre. Estos resultados indican que el aumento en la DIA de AAs en cerdos EC-Arg pudiera estar relacionado con una mejora o restauración de las células del ID, principalmente debido al aumento de la altura de las vellosidades.

La digestibilidad ileal estandarizada es una medida más confiable de la digestibilidad de los AAs, ya que corrige los valores de la DIA restando el flujo ileal endógeno de AAs (Stein *et al.*, 2007). La corrección de la pérdida de AAs endógenos de la DIA para el cálculo de la DIE, consideró la salida ileal de AAs endógenos de cerdos del grupo testigo o TN-B, reportados previamente en el experimento 1, el cual no toma en cuenta alteraciones en los valores de la DIE por efectos de una probable muerte de células intestinales en cerdos en EC o por la adición de extra de Arg. Se estima que alrededor del 25% del Trp de la dieta es catabolizado en el ID de lechones destetados, en el metabolismo de primer paso (Wu *et al.*, 2010). Sin embargo, estudios con enterocitos aislados de lechones muestran que las células epiteliales no degradan el Trp (Wang *et al.*, 2015), lo que podría indicar que el aumento de Trp observado en la DIE en los cerdos EC-Arg comparados con EC-B se debe principalmente al uso del Trp de la dieta por parte de las bacterias intestinales. Por otro lado, Arg ha mostrado ser crucial para el crecimiento, control y supervivencia de diferentes especies de bacterias en los diferentes segmentos del ID (Dai *et al.*, 2011), por lo que se puede considerar que la Arg actúa directamente como regulador de la microbiota intestinal (Nüse *et al.*, 2023). El aumento en los valores de la DIE de Arg y tendencia de Fen en los cerdos EC-Arg comparados con los cerdos EC-B, así como la tendencia a aumentar la DIE de Arg en cerdos EC-Arg en comparación con cerdos TN-B también puede atribuirse a las propiedades funcionales de Arg que presumiblemente pudo mejorar la integridad intestinal y, por tanto, la función de absorción de éstos AAs. Por su parte se ha informado que la

mayor parte del Glu y la Gln dietéticos (> 90 %) después de su conversión en  $\alpha$ -cetoglutarato, pasa a formar parte del ciclo de Krebs y ambos AAs son utilizados por los enterocitos como fuente de energía (Watford, 2015). Por lo tanto, la tendencia a una menor DIA y DIE de Glu en cerdos EC-B en comparación con cerdos TN-B podría indicar que éste AA es utilizado en mayor medida por el enterocito durante períodos de hipertermia.

Tanto la DIA como la DIE de AAs dependen de la abundancia y actividad de los transportadores que facilitan la absorción de AAs libres a través de la membrana apical en el borde del cepillo de los enterocitos (Bröer, 2008). La Arg se absorbe a través del sistema de transporte  $b^{0,+}$  en el ID, que comparte específicamente con Lis e His (Bröer, 2008). Sin embargo, se ha reportado que en cerdos expuestos a EC, se reduce la abundancia de algunos transportadores de AAs en células intestinales, entre ellos el sistema  $b^{0,+}$  (Morales *et al.*, 2014). Choi *et al.* (2012) mencionan que el aumento de la tasa de absorción intestinal implica una sobreexpresión de transportadores de nutrientes. Por su parte, Hatzoglou *et al.* (2004) demostraron que los sistemas de transporte de AAs dependen de la presencia de sus sustratos. Este dato fue observado también previamente por Morales *et al.* (2015), que al incrementar los niveles de Lis en la dieta también aumentó el RNAm que codifica para su proteína transportadora ( $b^{0,+}$ ). En este sentido y debido a que la concentración sérica de AAs es reflejo del previo proceso de digestión y absorción (Yen *et al.*, 2004), la mayor concentración sérica de Arg, His, Lis, Met y Fen, así como la mayor concentración sérica de Gln, Gli, Ser y Tir de los cerdos EC-Arg comparados con cerdos EC-B, se podría explicar por una recuperación parcial de la altura de las vellosidades intestinales, en conjunto con un incremento en la abundancia de proteínas transportadoras de AA. Esta suposición está fundamentada por los resultados obtenidos por Morales *et al.* (2021) donde reportaron una restauración del epitelio intestinal de cerdos en EC alimentados con una dieta suplementada con Arg libre. Además, la suplementación con Arg en la dieta incrementó la expresión de ARNm que codifica para la síntesis de proteínas transportadores de AA catiónicos ( $b^{0,+}$  y  $y+L$ ) y neutros ( $B0$ ), elevando la absorción

de Lis, Arg y Met. Datos que concuerdan estrechamente con los resultados obtenidos en este experimento. Sin embargo, a pesar de la similitud en la composición de la dieta y la concentración de Arg suplementada en Morales *et al.* (2021) de 0.16% y 0.20% en el presente estudio, se observaron algunas discrepancias en la concentración sérica de algunos AAs como Lis, Tre, Trp, Val, Ala, Glu y Gln. Lo anterior se puede atribuir a los diferentes métodos de alimentación utilizados en ambos estudios (alimentación *ad libitum* vs restringida), en los cuales los niveles séricos de AAs se verán influenciados por la cantidad del alimento consumido y el intervalo entre comidas.

El perfil de metabolitos del suero sanguíneo es un reflejo de la dinámica del metabolismo de los nutrientes presentes en la dieta. De acuerdo con Regmi *et al.* (2018), el estudiar la alteración de las concentraciones plasmáticas de un metabolito puede ayudar a comprender los roles fisiológicos de un nutriente en particular y sus interacciones con otros. Los metabolitos pueden producirse durante el catabolismo o anabolismo de moléculas como péptidos, azúcares, AAs, lípidos, entre otros (Johnson *et al.*, 2016). Se han reportado cambios en los metabolitos sanguíneos en animales en condiciones de EC, lo cual tiene como objetivo mantener la homeostasis del organismo (Baumgard *et al.*, 2013). Resultados previos de este laboratorio han demostrado que el EC modifica la disponibilidad de algunos AAs, como Arg, Lis, Met y Tre (Morales *et al.*, 2016c). Asimismo, la diferencia en la concentración sérica (CS) de AAs entre los cerdos EC-B y EC-Arg indica que los animales se ven obligados a modificar el metabolismo de varios AAs en función de la adición de Arg extra en el alimento. La Orn es considerada metabolito intermediario durante el catabolismo de Arg dentro del ciclo de la urea (Durante *et al.*, 2007) y a la vez, actúa como sustrato para la formación de poliaminas. La CS de Orn en los cerdos EC-Arg del experimento actual fue un 70% mayor que en los cerdos EC-B, lo que se puede asociar a una CS más alta de Arg, Pro, y urea. Lo anterior puede ser indicador de un mayor uso de Orn durante la síntesis de poliaminas. Esta idea está basada también en la mayor CS (~ 37%) de Met en cerdos EC-Arg, ya que este AA forma parte de la molécula S-adenosil-L-Metionina

(SAM) cuya función es la donación del grupo metilo a las poliaminas, ADN, AAs, entre otras moléculas (Kumar *et al.*, 2017).

La síntesis de proteínas requiere un conjunto completo de AAs presentados simultáneamente en el sitio de síntesis, y cuando el primer AA limitante se agota, la síntesis de proteínas se detiene y los AAs libres o no unidos restantes se catabolizan mediante desaminación (Liao *et al.*, 2015; NRC, 2012). Este desequilibrio de AAs temporales causado por deficiencia o exceso de uno o más AAs esenciales en la dieta da como resultado un aumento de N ureico en sangre, que es un indicador de la utilización de proteínas (Wu y Morris, 1998). Por tanto, puesto que el ciclo de la urea también forma parte del metabolismo de los enterocitos (Rhoads y Wu, 2008) y la propia Arg es el liberador de nitrógeno en el ciclo de la urea (Bescós *et al.*, 2012). Estas vías metabólicas podrían explicar el aumento en la CS de urea en cerdos EC-Arg en comparación con cerdos EC-B. Además, Mariotti *et al.* (2013) mencionan que el 90% de la producción de urea en el cuerpo a partir de la Arg de la dieta ocurre casi en su totalidad durante su metabolismo de primer paso, es decir, dentro de las primeras 2 h posteriores a la ingestión, que justo fue el momento en que se colectaron las muestras sanguíneas.

### **6.2.3 Conclusión**

En conclusión, los datos obtenidos en el segundo experimento confirman que el EC en cerdos tiene un efecto negativo sobre la digestibilidad ileal aparente y estandarizada de AA. Además, la exposición de cerdos a hipertermia les incrementa la temperatura corporal. Los resultados indican que la suplementación a la dieta con 0.20% de Arg ayuda a contrarrestar el efecto negativo de la exposición de los cerdos a EC al reducir el flujo ileal de AAs, e incrementar la digestibilidad ileal aparente y estandarizada de algunos AAs, presumiblemente debido a una mejora de la función digestiva y absorbente del epitelio del intestino delgado. Por tanto, se debe prestar especial atención a los requerimientos de Arg al formular dietas para cerdos en crecimiento bajo condiciones de EC.

## **7 Conclusión general**

En conclusión, la exposición de cerdos en crecimiento a condiciones de estrés por calor incrementa la pérdida de aminoácidos endógenos y disminuye los coeficientes de digestibilidad ileal estandarizada de algunos aminoácidos. La suplementación con 0.20% de Arg libre en el alimento para cerdos en estrés por calor reduce la pérdida de algunos AAs endógenos, incluso comparados con cerdos en TN y, la digestibilidad y concentración sérica de AAs se incrementa. Asimismo, hay un efecto aparente de Arg en la reducción de la temperatura intestinal durante las horas más cálidas del día. Estos resultados pueden estar asociados a una posible restauración del epitelio intestinal, principalmente a la recuperación de la altura de las vellosidades intestinales.

## 8 Literatura consultada

Anggård E. 1994. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet*. May 14;343(8907):1199-206. doi: 10.1016/s0140-6736(94)92405-8.

Adedokun, S. A., Parsons, C. M., Lilburn, M. S., Adeola, O., Applegate, T. J. 2007. Standardized ileal amino acid digestibility of meat and bone meal from different sources in broiler chicks and turkey poults with a nitrogen-free or casein diet. *Poult Sci*. Dec; 86(12):2598-607. doi: 10.3382/ps.2007-00164

Adeola, O., Xue, P. C., Cowieson, A. J. & Ajuwon, K. M. 2016. Basal endogenous losses of amino acids in protein nutrition research for swine and poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 221, 274–283. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.004>

Allaire, J. M., Crowley, S. M., Law, H. T., Chang, S. Y., Ko, H. J., Vallance, B. A. 2018. The Intestinal Epithelium: Central Coordinator of Mucosal Immunity. *Trends Immunol*. 39:677–696. doi: 10.1016/j.it.2018.04.002.

Arentson, R. A., Zimmerman, D. R. 1995. True digestibility of amino acids and protein in pigs with <sup>13</sup>C as a label to determine endogenous amino acid excretion. *J Anim Sci*. Apr; 73(4):1077-85. doi: 10.2527/1995.7341077x

Bahadoran Z., Mirmiran P., Kashfi K., Ghasemi A. 2021. Endogenous flux of nitric oxide: Citrulline is preferred to Arginine. *Acta Physiol*; 231:e13572. doi:10.1111/apha.13572.

Barker N. 2014. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol*. Jan; 15(1):19-33. doi: 10.1038/nrm3721

Barth, C. A., Lunding, B. O., Schmitz, M., Hagemeister, H. 1993. Soybean trypsin inhibitor(s) reduce absorption of exogenous and increase loss of endogenous

protein in miniature pigs. En: *Journal of Nutrition*. December, vol. 123, no. 12, p.2195-2200.

Baumgard, L. H., Rhoads, R. 2013. Effects of Heat Stress on Postabsorptive Metabolism and Energetics. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 1, 311–337. doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103644

Bescós, R., Sureda, A., Tur, J. A., Pons, A. 2012. The effect of nitric-oxide-related supplements on human performance. *Sports Med.* Feb 1;42(2):99-117. doi: 10.2165/11596860-000000000-00000.

Bjerknes, M., Cheng, H. 1981. The stem-cell zone of the small intestinal epithelium. I. Evidence from Paneth cells in the adult mouse. *Am J Anat.* Jan;160(1):51-63. doi: 10.1002/aja.1001600105

Blikslager, A. T., Moeser, A. J., Gookin, J. L., Jones, S. L., Podle, J. 2007. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa. *Physiol Rev*; 87:545-64

Boveris, A., Chance, B. 1973. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J.* Jul; 134(3):707-16. doi: 10.1042/bj1340707)

Brestenský, M., Nitrayová, S., Patráš, P. 2017. Ileal endogenous losses in pigs feeding a protein-free diet or diets with different contents of casein or crystalline amino acids. *Arch Anim Nutr.* Jun; 71(3):210-218. doi: 10.1080/1745039X.2017.1312832.

Bröer, S. 2008. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiol Rev.* Jan;88(1):249-86. doi: 10.1152/physrev.00018.2006

Bröer, S., Palacín, M. 2011. The role of amino acid transporters in inherited and acquired diseases. *Biochemical Journal*, 436(2), 193–211. doi:10.1042/BJ20101912

Buddington, R. K., Elnif, J., Malo, C., Donahoo, J. B. 2003. Activities of gastric, pancreatic, and intestinal brush-border membrane enzymes during postnatal development of dogs. *Am J Vet Res.* May;64(5):627-34. doi: 10.2460/ajvr.2003.64.627

Buraczewska, L. 1979. Secretion of nitrogenous compounds in the small intestine of pigs. *Acta Physiol Pol.* Mar-Apr;30(2):319-26. PMID: 463572.

Camargo, S. M., Singer, D., Makrides, V., Huggel, K., Pos, K. M., Wagner, C. A., Kuba, K., Danilczyk, U., Skovby, F., Kleta, R., Penninger, J. M., Verrey, F. 2009. Tissue-specific amino acid transporter partners ACE2 and collectrin differentially interact with hartnup mutations. *Gastroenterology.* Mar;136(3):872-82. doi: 10.1053/j.gastro.2008.10.055

Caspary, W. F. 1987. Absorption: general aspects and transport mechanisms in the small intestine. In: Caspary W.F., ed. *Structure and function of the small intestine.* Amsterdam: Excerpta Medica, :63-88.

Caspary, W. F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition*,55(1). <https://doi.org/10.1093/ajcn/55.1.299s>

Cervantes, R., González V., Rodríguez, R., González, M., & Flores A. 2000. Canulación duodenal e ileal para estudios de digestión en cerdos. *Agrociencia*, 34(2), 135-139.

Cervantes-Pahm, S. K., Stein, H. H. 2010. Ileal digestibility of amino acids in conventional, fermented, and enzyme-treated soybean meal and in soy protein

isolate, fish meal, and casein fed to weanling pigs. *J Anim Sci.* Aug;88(8):2674-83. doi: 10.2527/jas.2009-2677.

Cervantes, M., Antoine, D., Valle, J. A., Vásquez, N., Camacho, R. L., Bernal, H., Morales, A. 2018. Effect of feed intake level on the body temperature of pigs exposed to heat stress conditions. *J Therm Biol.* Aug; 76:1-7. doi: 10.1016/j.jtherbio.2018.06.010

Chalvon-Demersay T., Luise D., Le Floc'h N., Tesseraud S., Lambert W., Bosi P., Trevisi P., Beaumont M., Corrent E. 2021. Functional Amino Acids in Pigs and Chickens: Implication for Gut Health. *Front Vet Sci.* May 25;8:663727. doi: 10.3389/fvets.2021.663727

Choi, H. J., J. Ahn, S. Park, K. Do, J. Kim, and Y. Moon. 2012. Enhanced wound healing by recombinant *Escherichia coli* Nissle 1917 via human epidermal growth factor receptor in human intestinal epithelial cells: therapeutic implication using recombinant probiotics. *Infect. Immun.* 80:1079–1087. doi:10.1128/IAI.05820-11

Clevers, H. 2013. The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell.* Jul 18;154(2):274-84. doi: 10.1016/j.cell.2013.07.004.

Corring, T., Calmes, R., Rérat, A., Geugneau, A. M. 1984. Effets de l'alimentation protéoprive à court terme sur la sécrétion d'azote endogène: sécrétion pancréatique exocrine chez le porc. *Reprod Nutr Develop* ;24:495-506 23).

Coffey, R. D., Parker, G. R. & Laurent, K. M. 1995 Feeding growing-finishing pigs to maximize lean growth rate. ASC-147, Cooperative Extension Service. Lexington, KY, USA: University of Kentucky College of Agriculture.

Collin, A., J. van Milgen, and J. Le Dividich 2001. Modeling the effect of high, constant temperature on food intake in young growing pigs. *Anim. Sci.* 72:519–527 doi:10.1017/S1357729800052048

CONAGUA. 2021. Reporte del clima en México. (ultimo acceso el 26 Feb 2024). <https://smn.conagua.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Diagn%C3%B3stico%20Atmosf%C3%A9rico/Reporte%20del%20Clima%20en%20M%C3%A9xico/R-C-Septiembre21.pdf>

Corring, T. & Jung, J. 1972. amino acid composition of pig pancreatic juice. *Nutrition reports international.* vol. 6, p.187-198

Cowieson, A. J., Ravindran, V. 2007. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. *Br J Nutr.* Oct;98(4):745-52. doi: 10.1017/S0007114507750894

Creamer, B., Shorter, R. G., Bamforth, J. 1961. The turnover and shedding of epithelial cells. I. The turnover in the gastro-intestinal tract *Gut.*1961;**2**:110–118.

Crosnier, C., Stamataki, D., Lewis, J. 2006. Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control. *Nat Rev Genet.* May;7(5):349-59. doi: 10.1038/nrg1840

Curry S. M., Schwartz K. J., Yoon K. J, Gabler N. K., Burrough E. R. 2017. Effects of porcine epidemic diarrhea virus infection on nursery pig intestinal function and barrier integrity. *Vet Microbiol.* 211:58–66. 10.1016/j.vetmic.2017.09.021

Dai Z. L., Li X. L., Xi P. B., Zhang J., Wu G., Zhu W. Y. 2012. Regulatory role for L-arginine in the utilization of amino acids by pig small-intestinal bacteria. *Amino Acids.* Jul;43(1):233-44. doi: 10.1007/s00726-011-1067-z.

Darragh, A. J., Moughan, P. J. and Smith, W. C. 1990. The effect of amino acid and peptide alimentation on the determination of endogenous amino acid flow at the terminal ileum of the rat.: *Journal of the science of food and agriculture*. vol. 51, no. 1, p.47-56. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740510106>

de Lange, C. F, Sauer, W. C., Souffrant, W. 1989. The effect of protein status of the pig on the recovery and amino acid composition of endogenous protein in digesta collected from the distal ileum. *J Anim Sci*. Mar;67(3):755-62. doi: 10.2527/jas1989.673755x

Durante, W., F. K. Johnson, and R. A. Johnson. 2007. Arginase: A critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin. Exp. Pharmacol*. 34:906–911. doi:10.1111/j.14401681.2007.04638.x

Farré, R., Fiorani, M., Abdu, Rahiman., Matteoli, G. 2020. Intestinal Permeability, Inflammation and the Role of Nutrients. *Nutrients*. Apr 23;12(4):1185. doi: 10.3390/nu12041185

Faure, M., Moënoz, D., Montigon, F., Fay, L. B., Breuillé, D., Finot, P. A., Ballèvre, O., Boza, J. 2002. Development of a rapid and convenient method to purify mucins and determine their in vivo synthesis rate in rats. *Anal Biochem*. Aug 15;307(2):244-51. doi: 10.1016/s0003-2697(02)00048-9.

Fuller, M. F., Reeds, P. J. 1998. Nitrogen cycling in the gut. *Annu Rev Nutr*. ;18:385-411. doi: 10.1146/annurev.nutr.18.1.385–411.

Fuller, M. 2003. AA bioavailability—A brief history. Pages 183–198 in *Digestive Physiology in Pigs*. Proc. 9th Intl. Symp. Vol. 1.R. O. Ball, ed. Univ. Alberta, Alberta, Canada.

Fuquay, J. W. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J Anim Sci.* Jan;52(1):164-74. doi: 10.2527/jas1981.521164x.

Gabler, N. K. & Pearce, S. C. 2015. The impact of heat stress on intestinal function and productivity in grow-finish pigs. *Animal Production Science*, 55(12), 1403.doi:10.1071/an15280

Gao, J., Xu, K., Liu, H., Liu, G., Bai, M., Peng, C., Li, T., Yin, Y. 2018. Impact of the Gut Microbiota on Intestinal Immunity Mediated by Tryptophan Metabolism. *Front Cell Infect Microbiol.* Feb 6;8:13. doi: 10.3389/fcimb.2018.00013.

Ghassan, T. Wahbeh, Dennis L. Christie, 2011. 2 - Basic Aspects of Digestion and Absorption, Editor(s): Robert Wyllie, Jeffrey S. Hyams, *Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease (Fourth Edition)*, W.B. Saunders, Pages 10-19.e2, <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0774-8.10002-8>.

González, F., Cervantes, M., Morales, A., Valle, J. A., Camacho, R. L., Morales-Becerra, A., Bernal, H., Mendoza S. M., Htoo, J. K. 2024. Effect of supplementing a *Bacillus subtilis*-based probiotic on performance, intestinal integrity, and serum antioxidant capacity and metabolites concentrations of heat-stressed growing pigs. *J Anim Sci.* 2024 Jan 3;102:skae012. doi: 10.1093/jas/skae012.

Gojmerac, T., Mandić, B., Lojkić, M., & Bilandzić, N. (2000). Acute and subacute metabolic and endocrine effects of clenbuterol in female pigs. *Veterinary Research Communications*, 24, 179–187

Grant, G. and Driessche, E. 1993. Legume lectins: physiochemical and nutritional properties. En: *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds*. 2 ed. Wageningen, The Netherlands. p.219-234.

Hall D.M., Baumgardner K.R., Oberley T.D., Gisolfi C.V. 1999. Splanchnic tissues undergo hypoxic stress during whole body hyperthermia. *Am J Physiol.* May;276(5):G1195-203. doi: 10.1152/ajpgi.1999.276.5.G1195

Hansson, G. C. 2020. Mucins and the Microbiome. *Annu Rev Biochem.* Jun 20;89:769-793. doi: 10.1146/annurev-biochem-011520-105053

Hartley, B. S., Brown, J. R., Kauffman, D. L., Smillie, L. B. 1965. Evolutionary similarities between pancreatic proteolytic enzymes. *Nature.* Sep 11;207(5002):1157-9. doi: 10.1038/2071157a0.

Hatanaka, T., Huang, W., Nakanishi, T., Bridges, C. C., Smith, S. B., Prasad, P. D., Ganapathy, M. E., Ganapathy, V. 2002. Transport of D-serine via the amino acid transporter ATB (0,+)<sup>+</sup> expressed in the colon. *Biochem Biophys Res Commun.* Feb 22;291(2):291-5. doi: 10.1006/bbrc.2002.6441

Hatzoglou M., Fernandez J., Yaman I., Closs E. 2004. Regulation of cationic amino acid transport: the story of the CAT-1 transporter. *Annu Rev Nutr.*: 377-99. doi: 10.1146/annurev.nutr.23.011702.073120

Hess, V. and Sève, B. 1999. Effects of body weight and feed intake level on basal ileal endogenous losses in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 77: 3281-3288

Henning, S. J. 1985. Ontogeny of enzymes in the small intestine. *Annu Rev Physiol.* 47:231-45. doi: 10.1146/annurev.ph.47.030185.001311.

Hickey, J.W., Becker, W.R., Nevins, S.A. 2023. Organization of the human intestine at single-cell resolution. *Nature* 619, 572–584 <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05915-x>

Hinnebusch, B. F., Ma, Q., Henderson, J. W., Siddique, A., Archer, S. Y., Hodin, R. A. 2002. Enterocyte response to ischemia is dependent on differentiation state. *J Gastrointest Surg.* May-Jun;6(3):403-9. doi: 10.1016/s1091-255x(01)00076-2

Hodgkinson, S. M., Moughan, P. J., Reynolds, G. W., James, K. A. 2000. The effect of dietary peptide concentration on endogenous ileal amino acid loss in the growing pig. *Br J Nutr.* Apr;83(4):421-30.

Hornbuckle, W. E., Simpson, K. W., Tennant, B. C. 2008. Gastrointestinal Function. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 413–57. doi: 10.1016/B978-0-12-370491-7.00014-3

Horowitz, M., Eli-Berchoer, L., Wapinski, I., Friedman, N., Kodesh, E. 2004. Stress-related genomic responses during the course of heat acclimation and its association with ischemic-reperfusion cross-tolerance. *J Appl Physiol* (1985). Oct;97(4):1496-507. doi: 10.1152/jappphysiol.00306.2004

Huisman, J. and Jansman, A. J. M. 1991. Dietary effects and some analytical aspects of nutritional factors in peas (*Pisum sativum*), beans (*Phaseolus vulgaris*) and soybean (*Glycine max L.*) in monogastric farm animals. A literature review. *En: Nutrition Abstract Review.* vol. 61, p.901-921.

Hooton, D., Lentle, R., Monroe, J., Wickham, M., & Simpson, R. (2015). The secretion and action of brush border enzymes in the mammalian small intestine. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology,* 168, 59–118. [https://doi.org/10.1007/112\\_2015\\_24](https://doi.org/10.1007/112_2015_24)

Huynh, T. T., Aarnink, A. J., Verstegen, M. W., Gerrits, W. J., Heetkamp, M. J., Kemp, B., Canh, T. T. 2005. Effects of increasing temperatures on physiological

changes in pigs at different relative humidities. *J Anim Sci.* Jun;83(6):1385-96. doi: 10.2527/2005.8361385x

INRA-AFZ-INAPG. 2004. Tables of composition and nutritional value of feed materials, D. Sauvant, J.-M. Perez, and G. Tran, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.

Jagger, S., Wiseman, J., Cole, D. J., Craigon, J. 1992. Evaluation of inert markers for the determination of ileal and faecal apparent digestibility values in the pig. *Br J Nutr.* Nov;68(3):729-39. doi:10.1079/bjn19920129

Jansman, A. J. M. 1993. Tannins in Feedstuffs for Simple-Stomached Animals. *Nutrition Research Reviews*; 6(1):209-236. doi:10.1079/NRR19930013

Jansman, A. J., Verstegen, M. W., Huisman, J., van den Berg, J. W. 1995. Effects of hulls of faba beans (*Vicia faba* L.) with a low or high content of condensed tannins on the apparent ileal and fecal digestibility of nutrients and the excretion of endogenous protein in ileal digesta and feces of pigs. *J Anim Sci.* Jan;73(1):118-27. doi: 10.2527/1995.731118x

Jansman, A. J. M., Smink, van Leeuwen and M, Rademacher. 2002. Evaluation through literature data of the amount and amino acid composition of basal endogenous crude protein at the terminal ileum of pigs. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 98:49–60. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00015-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00015-9)

Johansson, M. E., Ambort, D., Pelaseyed, T., Schütte, A., Gustafsson, J. K., Ermund, A., Subramani, D. B., Holmén-Larsson, J. M., Thomsson, K. A., Bergström, J. H., van der Post, S., Rodriguez-Piñeiro, A. M., Sjövall, H., Bäckström, M., Hansson, G. C. 2011. Composition and functional role of the mucus layers in the intestine. *Cell Mol Life Sci.* Nov;68(22):3635-41. doi: 10.1007/s00018-011-0822-3

Hall, Edward J. 2013. Small Intestine. *Canine and Feline Gastroenterology*, 651–728. doi:10.1016/b978-1-4160-3661-6.00057-2

Johnson C. H., Ivanisevic J., Siuzdak G. 2016. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*; 17:451–459. doi:10.1038/nrm.2016.25

Jørgensen, H., Sauer, W. C., Thacker, P. A. 1984 Amino Acid Availabilities in Soybean Meal, Sunflower Meal, Fish Meal and Meat and Bone Meal Fed to Growing Pigs, *Journal of Animal Science*, Volume 58, Issue 4, April, Pages 926–934, <https://doi.org/10.2527/jas1984.584926x>

Just, A., Jørgensen, H., Fernández, J. A. 1981. The digestive capacity of the caecum-colon and the value of the nitrogen absorbed from the hind gut for protein synthesis in pigs. *Br J Nutr.* Jul;46(1):209-19. doi: 10.1079/bjn19810022

Karam, S. M. 1999. Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. *Front. Biosci.* 4:D286–98

Kerr, B. J., Yen, J. T., Nienaber, J. A., Easter, R. A. 2003. Influences of dietary protein level, amino acid supplementation and environmental temperature on performance, body composition, organ weights and total heat production of growing pigs. *J Anim Sci.* Aug;81(8):1998-2007. doi: 10.2527/2003.8181998x

Kim, S. W., Duarte, M. E. 2021. Understanding intestinal health in nursery pigs and the relevant nutritional strategies. *Anim. Biosci.* 34:338–344. doi:10.5713/ab.21.0010.

Kitamoto, Y., Yuan, X., Wu, Q. 1994. Enterokinase, the initiator of intestinal digestion, is a mosaic protease composed of a distinctive assortment of domains. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 91:7588–7592

Kpodo K.R., Duttlinger A.W., Radcliffe J.S., Johnson J.S. 2020. Time course determination of the effects of rapid and gradual cooling after acute hyperthermia on body temperature and intestinal integrity in pigs. *J Therm Biol.* Jan;87:102481. doi: 10.1016/j.jtherbio.2019.102481.

Krawielitzki, K., Zebrowska, T., Schadereit, R., Kowalczyk, J., Hennig, U., Wünsche, J., Herrmann, U. 1990. Determining of nitrogen absorption and nitrogen secretion in different sections of the pig's intestine by digesta exchange between <sup>15</sup>N labelled and unlabelled animals. *Arch Tierernahr.* Jan-Feb;40(1-2):25-37. doi: 10.1080/17450399009428378

Kumar, A., H. A. Palfrey, R. Pathak, P. J. Kadowitz, T. W. Gettys, and S. N. Murthy. 2017. The metabolism and significance of homocysteine in nutrition and health. *Nutr. Metab.* 14:2–12. doi:10.1186/s12986-017-0233-z

Kunzelmann, K., Mall, M. 2002. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease. *Physiol Rev.* Jan;82(1):245-89. doi: 10.1152/physrev.00026.2001

Lawler, J. M., Barnes, W. S., Wu, G., Song, W., Demaree, S. 2002. Direct antioxidant properties of creatine. *Biochem Biophys Res Commun.* Jan 11;290(1):47-52. doi: 10.1006/bbrc.2001.6164

Le Dividich J., Noblet J., Herpin P., van Milgen J., Quiniou N. 1998. Thermoregulation. *Progress in pig science*, Nottingham University Press, 1998, 1-897676-26-3.

Le Huërou-Luron, I. (2002). Production and gene expression of brush border disaccharidases and peptidases during development in pigs and calves. In R.

Zabielski, P. C. Gregory, B. Weström, & E. Salek (Eds.), *Biology of the intestine in growing animals* (pp. 491–513).

Le Sciellour, M., Zemb, O., Hochu, I., Riquet, J., Gilbert, H., Giorgi, M., Billon, Y., Gourdine, J. L., Renaudeau, D. 2019. Effect of chronic and acute heat challenges on fecal microbiota composition, production, and thermoregulation traits in growing pigs<sup>1,2</sup>. *J Anim Sci. Sep 3*;97(9):3845-3858. doi: 10.1093/jas/skz222.

Leterme, P., Monmart, T., Théwis, A., Morandi, P. 1994. Effect of oral and parenteral N nutrition vs N-free nutrition on the endogenous amino acid flows at ileum of the pig : International Symposium on Digestive Physiology in Pigs (6: 4-6 october: Bad Doberan, Danmar). *Memorys. Bad Doberan, Danmar: W,B. Souffrant and H. Hagemeister, Proc, p.60-63* [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199606\)71:2<265::AID-JSFA575>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199606)71:2<265::AID-JSFA575>3.0.CO;2-F)

Liang, H., Dai, Z. Kou, J. K. Sun, J. Chen, Y. Yang, G. Wu, and Z. Wu. 2019. Dietary L-Tryptophan Supplementation Enhances the Intestinal Mucosal Barrier Function in Weaned Piglets: Implication of Tryptophan-Metabolizing Microbiota. *Int. J. Mol. Sci. 20:20*. doi:10.3390/ijms20010020.

Liao, S. F., Wang, T., Regmi, N. 2015. Lysine nutrition in swine and the related monogastric animals: muscle protein biosynthesis and beyond. *Springerplus. Mar 27*;4:147. doi: 10.1186/s40064-015-0927-5

Libao-Mercado, A. J., Zhu, C. L., Cant, J. P., Lapierre, H., Thibault, J. N., Sève, B., Fuller, M. F., de Lange, C. F. 2009. Dietary and endogenous amino acids are the main contributors to microbial protein in the upper gut of normally nourished pigs. *J Nutr. Jun*;139(6):1088-94. doi: 10.3945/jn.108.103267

Liu, F., Yin, J., Du, M., Yan, P., Xu, J., Zhu, X., & Yu, J. 2009. Heat stress-induced damage to porcine small intestinal epithelium associated with down regulation of

epithelial growth factor signaling. *J Anim Sci.* 2009 Jun;87(6):1941-9. doi: 10.2527/jas.2008-1624

Low, A. G., Low, A. G., Low, A. G. 1980. Nutrient absorption in pigs. *J Sci Food Agric.* Nov;31(11):1087-130. doi: 10.1002/jsfa.2740311102. PMID: 7017272.

Low, A. G., 1985. Amino acid use by growing pigs. In: Haggen, W., Cole, D.J.A.(Eds.), *Recent Developments in Pig Nutrition*. Butterworths Co. Ltd., London, UK, pp.108–112

Luiking, Y. C., Engelen, M. P., Deutz, N. E. 2010. Regulation of nitric oxide production in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* Jan;13(1):97-104. doi: 10.1097/MCO.0b013e328332f99d.

Mahan, D. C., Shields, R. G. Jr. 1998. Essential and nonessential amino acid composition of pigs from birth to 145 kilograms of body weight, and comparison to other studies. *J Anim Sci.* Feb;76(2):513-21. doi: 10.2527/1998.762513x.

Makkink, C. A. 1993. *Of piglets, dietary proteins, and pancreatic proteases*. Wageningen University and Research.

Manno, M. C., Oliveira, R. F. M., Donzele, J. L., Oliveira, W. P., V. V., & R. G. M., Silva, B.A.N., Saraiva, E.P., Lima, K. R. S. 2006. Effects of environmental temperature on performance of pigs from 30 to 60 kg live weight. *Brazilian Journal of Animal Science*, 35, 471–477. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000200019>.

Maskal, J., Cabezón, F. A., Schinckel, A. P., Marchant-Forde, J. N., Johnson, J. S., Stwalley, R. M. 2018. Evaluation of floor cooling on lactating sows under mild and moderate heat stress, *The Professional Animal Scientist*, Volume 34, Pages 84-94, <https://doi.org/10.15232/pas.2017-01661>.

McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G., 2011. *Animal Nutrition*, seventh ed. Trans-Atlantic Publications Inc., Philadelphia, pp. 306–307.

Metzler-Zebeli, B. U., Rosenfelder-Kuon, P., Brehm, H., Eklund, M., Mosenthin, R. 2020. Improved simple T-cannula technique to facilitate surgery and daily skin care of growing pigs. *J Anim Sci.* Apr 1;98(4):skaa091. doi: 10.1093/jas/skaa091

Montagne, L., Toullec, R., Formal, M., Lallès, J. P. 2000. Influence of dietary protein level and origin on the flow of mucin along the small intestine of the preruminant calf. *J Dairy Sci.* Dec;83(12):2820-8. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75181-2.

Morales A., Cota S. E., Ibarra N. O., Arce N., Htoo J. K., Cervantes M. 2016c. Effect of heat stress on the serum concentrations of free amino acids and some of their metabolites in growing pigs. *J Anim Sci.* Jul;94(7):2835-42. doi: 10.2527/jas.2015-0073

Morales, A., Chávez, M., Vásquez, N., Htoo, J. K., Buenabad, L., Espinoza, S. and Cervantes, M. 2018. Increased dietary protein or free amino acids supply for heat stress pigs: effect on performance and carcass traits. *J. Anim. Sci.*96:1419–1429. doi:10.1093/jas/sky044.

Morales, A., González, F., Bernal, H., Camacho, R. L., Arce, N., Vásquez, N., González-Vega, J. C., Htoo, J. K., Viana, M. T., Cervantes, M. 2021. Effect of arginine supplementation on the morphology and function of intestinal epithelia and serum concentrations of amino acids in pigs exposed to heat stress. *J Anim Sci.* Sep 1;99(9):skab179. doi: 10.1093/jas/skab179

Morales, A., Grageola, F., García, H., Arce, N., Araiza, B., Yáñez, J., 2014. Cervantes M. Performance, serum amino acid concentrations and expression of

selected genes in pair-fed growing pigs exposed to high ambient temperatures. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. Oct;98(5):928-35. doi: 10.1111/jpn.12161

Morales, A., Hernández, L., Buenabad, L., Avelar, E., Bernal, H., Baumgard, L. H., Cervantes, M. 2016a. Effect of heat stress on the endogenous intestinal loss of amino acids in growing pigs. *J Anim Sci*. Jan;94(1):165-72. doi: 10.2527/jas.2015-9393

Morales, A., Ibarra, N., Chávez, M., Gómez, T., Suárez, A., Valle, J. A., Camacho, R. L., Cervantes, M. 2017. Effect of feed intake level and dietary protein content on the body temperature of pigs housed under thermo neutral conditions. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. Apr;102(2):e718-e725. doi: 10.1111/jpn.12824

Morales, A., Pérez, M., Castro, P., Ibarra, N., Bernal, H., Baumgard, L. H., Cervantes, M. 2016b. Heat stress affects the apparent and standardized ileal digestibilities of amino acids in growing pigs. *J Anim Sci*. Aug;94(8):3362-3369. doi: 10.2527/jas.2016-0571.

Morales, A., Sánchez, V., Pérez, B., Camacho, R. L., Arce, N., Avelar, E., González-Vega, J. C., Htoo, J. K., Cervantes, M. 2023. Effect of dl-methionine supplementation above requirement on performance; intestinal morphology, antioxidant activity, and gene expression; and serum concentration of amino acids in heat stressed pigs. *J Anim Sci*. Jan 3;101:skac379. doi: 10.1093/jas/skac379.

Mosenthin, R., Sauer, W. and Ahrens, F. 1994. Dietary pectin's effect on ileal and fecal amino acids digestibility and exocrine pancreatic secretions in growing pigs. *En: Journal of Nutrition*. August, vol. 124, no. 8, p.1222-1229.

Mosenthin, R., Sauer, W. C., Blank, R., Huisman, J., Fan, M. Z., 2000. The concept of digestible amino acids in diet formulation for pigs. *Livestock Production Science*, 64, 265–280. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00139-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00139-6)

Moughan, P. J. 2003. AA digestibility and availability in food and feedstuffs. Pages 199–221 in Digestive Physiology in Pigs. Proc. 9th Intl. Symp. Vol. 1. R. O. Ball, ed. Univ. Alberta, Alberta, Canada.

Moughan, P. J. and Rutherfurd, S. M. 1990. Endogenous flow of total lysine and other amino acids at the distal ileum of the protein- or peptide-fed rat: The chemical labeling of gelatin protein by transformation of lysine to homoarginine. En: Journal of the Science of Food and Agriculture. vol. 52, p.179-192.

Mroz, Z., Bakker, G. C., Jongbloed, A. W., Dekker, R. A., Jongbloed, R., van Beers, A. 1996. Apparent digestibility of nutrients in diets with different energy density, as estimated by direct and marker methods for pigs with or without ileo-cecal cannulas. J Anim Sci. Feb;74(2):403-12. doi: 10.2527/1996.742403x

NASA. Global Climate Change, Vital Signs of the Planet. 2021. Disponible en: <https://climate.nasa.gov/evidence/> (ultimo acceso el 02 Feb 2023).

Neurath, H., Walsh, K. A. 1976. Role of proteolytic enzymes in biological regulation (a review). Proc Natl Acad Sci USA. Nov;73(11):3825-32. doi: 10.1073/pnas.73.11.3825

NRC. 1998. Pages 110–123 in Nutrient Requirements of Swine. 10th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

NRC (2012). Nutrient Requirements of Swine, 11th, revised ed. Washington, DC: National Academy Press.

Nüse B., Holland T., Rauh M., Gerlach R. G., Mattner J. 2023. L-arginine metabolism as pivotal interface of mutual host-microbe interactions in the gut. Gut Microbes. Jan-Dec;15(1):2222961. doi: 10.1080/19490976.2023.2222961.

Nyachoti, C., Lange, C., McBride, B., Schulze, H., 1997. Significance of endogenous gut nitrogen losses in the nutrition of growing pigs: a review. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 149–163. <https://doi.org/10.4141/A96-044>

Ochoa, M. L. I., editor. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Ochoa MLI. ed. Diario Oficial de la Federación. México (DF), México.

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, 1915–1920. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.149>

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. *Animals (Basel)*. Apr 15;11(4):1135. doi: 10.3390/ani11041135

Patience, J. F., Umboh, J. F., Chaplin, R. K., Nyachoti, C. M., 2005. Nutritional and physiological responses of growing pigs exposed to a diurnal pattern of heat stress, *Livestock Production Science*, Volume 96, Pages 205-214, <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.01.012>.)

Pearce, S. C., M. V. Sanz-Fernandez, J. H. Hollis, L. H. Baumgard, and N. K. Gabler. 2014. Short-term exposure to heat stress attenuates appetite and intestinal integrity in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 92:5444–5454. doi:10.2527/jas.2014-8407

Pearce, S. C., V. Mani, T. E. Weber, R. P. Rhoads, J. F. Patience, L. H. Baumgard, and N. K. Gabler. 2013. Heat stress and reduced plane of nutrition decreases intestinal integrity and function in pigs. *J. Anim. Sci.* 91:5183–5193. doi:10.2527/jas.2013-6759

Pedersen, C., Boisen, S. 2002. Establishment of tabulated values for standardized ileal digestibility of crude protein and essential amino acids in common feedstuffs for pigs. *Acta Agric Scand Sect Anim Sci*; 52:121-140. doi:10.1080/090647002320229374

Pegg, A. E. 1986. Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem J*. Mar 1;234(2):249-62. doi: 10.1042/bj2340249

Perez-Vilar, J., Hill, R. L. 1999. The structure and assembly of secreted mucins. *J Biol Chem*. Nov 5;274(45):31751-4. doi: 10.1074/jbc.274.45.31751.

Quiniou, N., Dubois, S. and Noblet, J. 2000. Voluntary feed intake and feeding behaviour of group-housed growing pigs are affected by ambient temperature and body weight. *Livest. Prod. Sci.* 63:245–253. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00135-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00135-9)

Ravindran, V., Hew, L., Ravindran, G., Bryden, W., 1999. A comparison of ileal digesta and excreta analysis for the determination of amino acid digestibility in food ingredients for poultry. *Br. Poult. Sci.* 40, 266–274.

Ravindran, V. 2016. Feed-induced specific ileal endogenous amino acid losses: Measurement and significance in the protein nutrition of monogastric animals. *Animal Feed Science and Technology*. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.05.013

Reis de Souza, T. C., MarBotello, B., & MariscalLandín, G. 2000. Canulación de cerdos posdestete para pruebas de digestibilidad ileal: desarrollo de una metodología. *Técnica Pecuaria en México*, 38(2), 143-150.

Renaudeau, D., Frances, G., Dubois, S., Gilbert, H. and Noblet, J. 2013. Effects of thermal heat stress on energy utilization in two lines of pigs divergently selected for residual feed intake. *J. Anim. Sci.* 91:1162–1175. doi:10.2527/jas.2012-5689

Rhoads, J. M., and G. Wu. 2008. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. *Amino Acids* 37:111–122. doi:10.1007/s00726-008-0225-4

Rojas-Downing, M., Nejadhashemi, A. P.; Harrigan, T., Woznicki, S. A. 2017. Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation. *Clim. Risk. Manag.* 2017,16, 145–163. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2017.02.001>.

Sauer, W. C, and Ozimek, L. 1986. Digestibility of amino acids in swine: results and their practical applications. A Review. *Livest. Prod. Sci.* 15: 367-388. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(86\)90076-X](https://doi.org/10.1016/0301-6226(86)90076-X)

Ruthenbürger, M., Mayerle, J., Lerch, M. M. 2006. Cell biology of pancreatic proteases. *Endocrinol Metab Clin North Am.* Jun;35(2):313-31, ix. doi: 10.1016/j.ecl.2006.02.007

Savage, G.P. y Morrison, S.C. 2003. Trypsin inhibitors. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, Academic Press, Pages 5878-5884, <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00934-2>.

Schulze, H., Butts, C. A., Moughan, P. J., & Verstegen, M. W. A. 1995. The <sup>15</sup>N-isotope dilution method for determining ileal endogenous nitrogen excretion in the young (10 kg liveweight) pig. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69, 41-50. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740690108>

Schulze, H., van Leeuwen P., Verstegen, M. W. A., Huisman, J., Souffrant, W. B., Ahrens, F. 1994. Effect of level of dietary neutral detergent fiber on ileal apparent digestibility and ileal nitrogen losses in pigs. *J Anim Sci*; 72:2362-2368.

SENASICA. 2021. Estudio para determinar el impacto económico de la PPC en México. Disponible en: [https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2021/enero/An%C3%A1lisisSocioecon%C3%B3micoFPC\\_876a8d25-0d1b-4fa8-94e4-18d59e932257.pdf](https://dj.senasica.gob.mx/Contenido/files/2021/enero/An%C3%A1lisisSocioecon%C3%B3micoFPC_876a8d25-0d1b-4fa8-94e4-18d59e932257.pdf) (ultimo acceso el 26 Feb 2024).

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SIAP. 2019. Panorama Agroalimentario 2019. Primera edición, 2019. Benjamín Franklin 146, Colonia Escandón, Delegación Miguel Hidalgo, C.P. 11800, Ciudad de México.

Shepherd A.P., Granger D.N. 2001. Metabolic regulation of intestinal circulation. In: Physiology of Intestinal Circulation, edited by Shepherd AP, Granger DN. New York: Raven, p. 33–47.

Sido, A., Radhakrishnan, S., Kim, S. W., Eriksson, E., Shen, F., Li, Q., Bhat, V., Reddivari, L., Vanamala, J. K. P. 2017. A food-based approach that targets interleukin-6, a key regulator of chronic intestinal inflammation and colon carcinogenesis. *J Nutr Biochem.* May;43:11-17. doi:10.1016/j.jnutbio.2017.01.012

Slimen, I. B., Najar, T., Ghram, A., Dabbebi, H., Ben, M., Abdrabbah, M. 2014. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *Int J Hyperthermia.* Nov;30(7):513-23. doi: 10.3109/02656736.2014.971446

Sohn, K. S., Maxwell, C. V., Southern, L. L., Buchanan, D. S., 1994. Improved soybean protein sources for early-weaned pigs: II. Effects on ileal amino acid digestibility, *Journal of Animal Science*, Volume 72, Issue 3, March, Pages 631–637, <https://doi.org/10.2527/1994.723631x>

Souffrant, W. B., Rérat, A., Laplace, J. P., Darcy-Vrillon, B., Köhler, R., Corring, T., Gebhardt, G. 1993. Exogenous and endogenous contributions to nitrogen fluxes in

the digestive tract of pigs fed a casein diet. III. Recycling of endogenous nitrogen. *Reprod Nutr Dev*; 33(4):373-82. doi: 10.1051/rnd:19930406

Souffrant, W. 1991. Endogenous nitrogen losses during digestion in pigs. In: Verstegen M, Huisman J, de Hartog L, editors. *Digestive physiology in pigs*. Wageningen (Netherlands): European Federation of Animal Science. EAAP Publication No.: 54 PUDOC, pp. 147–66)

Spence, J. R., Lauf, R., Shroyer, N. F. 2011. Vertebrate intestinal endoderm development. *Dev Dyn*. Mar;240(3):501-20. doi: 10.1002/dvdy.22540.

Steadman, R. G. 1979. The Assessment of Sultriness. Part I: A Temperature-Humidity Index Based on Human Physiology and Clothing Science. *Journal of Applied Meteorology* (1962-1982), 18(7), 861–873. <http://www.jstor.org/stable/26179216>

Stein, H. H., Pedersen, C., Wirt, A. R., Bohlke, R. A. 2005. Additivity of values for apparent and standardized ileal digestibility of amino acids in mixed diets fed to growing pigs. *J Anim Sci*. Oct;83(10):2387-95. doi: 10.2527/2005.83102387x

Stein, H. H., Sève, B., Fuller, M. F., Moughan, P. J., de Lange, C. F. 2007. Committee on Terminology to Report AA Bioavailability and Digestibility. Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: terminology and application. *J Anim Sci*. Jan;85(1):172-80. doi: 10.2527/jas.2005-742

Stein, H. H., Fuller, M.F., Moughan, P.J., Sève, B., Mosenthin, R., Jansman, A. J. M., Fernández, J. A., de Lange, C. F. M. 2007. Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs, *Livestock Science*, Volume 109, Issues 1–3, Pages 282-285, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.019>.

Stevens, E. and Humen, I. 2004. Comparative physiology of the vertebrate digestive system. Cambridge University Press. p.118-119

Tamminga, S., Schulze, H., Van Bruchem, J., Huisman, J. 1995. The nutritional significance of endogenous N-losses along the gastro-intestinal tract of farm animals. Arch Tierernahr. 48(1-2):9-22. doi: 10.1080/17450399509381824

Takahashi E, Ono E. 2021. Effects of semi-purified diet on depressive behaviors in aged mice. Biochem Biophys Rep. Oct 12;28:101152. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101152

Timmons, J., Chang, E. T., Wang, J. Y., Rao, J. N. 2012. Polyamines and Gut Mucosal Homeostasis. J Gastrointest Dig Syst. Feb 20;2(Suppl 7):001. PMID: 25237589

Uyanga, V. A., Jiao, H., Zhao, J., Wang, X., Lin, H. 2020. Dietary L-citrulline supplementation modulates nitric oxide synthesis and anti-oxidant status of laying hens during summer season. J Anim Sci Biotechnol. Oct 12;11:103. doi: 10.1186/s40104-020-00507-5.

Uyanga, V. A., Wang, M., Tong, T., Zhao, J., Wang, X., Jiao, H., Onagbesan, O. M., Lin, H. 2021. L-Citrulline Influences the Body Temperature, Heat Shock Response and Nitric Oxide Regeneration of Broilers Under Thermoneutral and Heat Stress Condition. Front Physiol. Aug 11;12:671691. doi: 10.3389/fphys.2021.671691

Uyanga, V. A., Zhao, J., Wang, X., Jiao, H., Onagbesan, O. M., Lin, H. 2022. Effects of dietary L-citrulline supplementation on nitric oxide synthesis, immune responses and mitochondrial energetics of broilers during heat stress, Journal of Thermal Biology, Volume 105, 103227, <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2022.103227>.

Valle A., Cervantes M., Morales A., Castillo G., Montoya E., González-Vega J. C., Htoo J. K., Avelar E. 2023. Apparent and standardised ileal amino acid digestibilities in heat-stressed pigs fed wheat-soybean meal diets supplemented with L-arginine and dl-methionine. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. May;107(3):859-866. doi: 10.1111/jpn.13793.

van der Flier, L. G. and Clevers, H. 2009. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annu Rev Physiology*; 71:241-260. doi:10.1146/annurev.physiol.010908.163145

Varasteh S., Braber S., Akbari P., Garssen J., Fink-Gremmels J. 2015. Differences in Susceptibility to Heat Stress along the Chicken Intestine and the Protective Effects of Galacto-Oligosaccharides. *PLoS One*. Sep 24;10(9):e0138975. doi: 10.1371/journal.pone.0138975

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 (Basel)*. Sep 22;12(19):2529. doi: 10.3390/ani12192529

Wang H., Ji Y., Wu G., Sun K., Sun Y., Li W., Wang B., He B., Zhang Q., Dai Z., Wu Z. 2015. L-Tryptophan Activates Mammalian Target of Rapamycin and Enhances Expression of Tight Junction Proteins in Intestinal Porcine Epithelial Cells. *J Nutr*. Jun;145(6):1156-62. doi: 10.3945/jn.114.209817

Wanner, S. P., Leite, L. H., Guimarães, J. B., Coimbra, C. C. 2015. Increased brain L-arginine availability facilitates cutaneous heat loss induced by running exercise. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. Jun;42(6):609-16. doi: 10.1111/1440-1681.12407.

Watford M. 2015. Glutamine and glutamate: Nonessential or essential amino acids? *Anim Nutr*. Sep;1(3):119-122. doi: 10.1016/j.aninu.2015.08.008

Watford, M., Wu, G. 2018. Protein. *Adv Nutr.* Sep 1;9(5):651-653. doi: 10.1093/advances/nmy027.

Wu, G., Morris, S., M. Jr. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J.* Nov 15;336 (Pt 1):1-17. doi: 10.1042/bj3360001

Wu, G., Bazer, F. W., Davis, T. A., Kim, S. W., Li, P., Marc, R. J., Carey, S. M., Smith, S. B., Spencer, T. E., Yin, Y. 2009. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids.* May;37(1):153-68. doi: 10.1007/s00726-008-0210-y.

Wu G. 2013. Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids.* Sep;45(3):407-11. doi: 10.1007/s00726-013-1500-6.

Wu G. 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids.* May;37(1):1-17. doi: 10.1007/s00726-009-0269-0

Wyss, M., Kaddurah-Daouk, R. 2000. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev.* Jul;80(3):1107-213. doi: 10.1152/physrev.2000.80.3.1107

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. *J Anim Sci Biotechnol.* Jan 5;13(1):1. doi: 10.1186/s40104-021-00651-6

Yen, J. T. 2001. Anatomy of the digestive system and nutritional physiology. *Swine Nutrition*, 2, 31–64. <https://doi.org/doi:10.1201/9781420041842.ch3>

Yi, H., X. Yunxia, Q. Wu, M. Wang, S. Liu, Z. Jiang, L. Wang. 2020. Effects of dietary supplementation with L-arginine on the intestinal barrier function in finishing pigs with

heat stress. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 104:1134–1143.  
[doi.org/10.1111/jpn.13277](https://doi.org/10.1111/jpn.13277)

Yin, Y. L. and McCracken, K. J. 1996. Methodological aspects of in vivo measurement of ileal AA digestibility in pigs—A review. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 9:495–502. <https://doi.org/10.5713/ajas.1996.495>

Yoshikawa T., Naito Y. 2002. What is oxidative stress? *JMAJ*; 45:271–276.

Yu, J., Yin, P., Liu, F., Cheng, G., Guo, K., Lu, A., Zhu, X., Luan, W., Xu, J. 2010. Effect of heat stress on the porcine small intestine: a morphological and gene expression study. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* May;156(1):119-28.  
[doi: 10.1016/j.cbpa.2010.01.008](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.008).

Zhao X., Xian Y., Li C., Wang C., Yu D., Zhu W., 2016. Feeding *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* increased microbial diversity and short chain fatty acids production in the gut-intestinal tract of weaning piglets. *Wei Sheng Wu Xue Bao.* 56:1291–300. [10.13343/j.cnki.wsxb.20150529](https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20150529)