



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias en Bioprocesos

**El papel de la prolactina y oxitocina sobre el
tono muscular de intestino de roedor**

Tesis que para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias en Bioprocesos

Presenta:

Figuroa Carrasco Perla Alejandra

Director de Tesis:

Dra. María del Carmen González Castillo

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

FECHA: JULIO, 2024



REPOSITORIO INSTITUCIONAL



UASLP-Sistema de Bibliotecas
Repositorio Institucional Tesis Digitales Restricciones de Uso
DERECHOS RESERVADOS
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Licencia de Creative Commons

Este proyecto se realizó en el laboratorio de Fisiología Celular adscrito a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en el periodo comprendido entre Agosto 2022 a Julio 2024, bajo la dirección de la Doctora María del Carmen González Castillo y fue apoyado por (CONAHCyT 316826-Apoyos a la Ciencia de Frontera)

El programa de maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del CONAHCYT, registro 000588. Número de la beca otorgada por CONAHCYT 1232235. Número de CVU.

Los datos del trabajo titulado “El papel de la prolactina y la oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor” se encuentran bajo el resguardo en la Facultad de Ciencias Químicas perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



San Luis Potosí, S.L.P.
Diciembre 08, 2022

UASLP

Dra. María del Carmen González Castillo
Profesor Investigador
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos.
FCQ/UASLP
Presente.

Estimada Dra. María del Carmen González Castillo

Habiendo revisado su solicitud para el registro de título de tesis de la alumna **Perla Alejandra Figueroa Carrasco**, Estudiante de Maestría en Ciencias en Bioprocesos.

Esta Coordinación a mi cargo, le informa que el Comité Académico del Posgrado (CAP), avaló y consideró **APROBADO** el registro de Título de tesis:

"Papel de la prolactina y oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor".

El protocolo de este registro de tesis, **Si** requiere ser avalado por el Comité de Ética en Investigación y Docencia (CEID).

Sin otro particular me es grato saludarla.

Atentamente

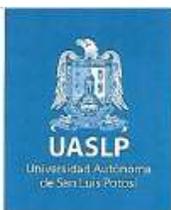


POSGRADO EN CIENCIAS
EN BIOPROCESOS

Dr. Alejandro Rocha Uribe
Coordinador del Posgrado en Ciencias en Bioprocesos
Facultad de Ciencias Químicas, UASLP
01 (444) 826-2300 Ext. 6485 y 6542

www.uaslp.mx

Av. Dr. Manuel Nava Hueto 6
Zona Universitaria • C.P. 38211
San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826-2440 ext. 46
fax (444) 826-2122



**Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas
Registro Número CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726**

23 de agosto de 2023

**DRA. MARÍA DEL CARMEN GONZÁLEZ CASTILLO
PROFESORA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS.
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ.
PRESENTE.**

Con relación a su solicitud de revisión del protocolo titulado **"Papel de la prolactina y la oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor"**, se le comunica que éste fue evaluado en la sesión del 19 de julio del año en curso por el Comité Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas (CEID-FCQ) (registro CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726) y dictaminado como:

APROBADO

Su protocolo tiene la clave **CEID2023-05-R1**

Sin embargo, ya que en su respuesta indicó que los animales proceden de un centro ajeno a la UASLP, deberá entregar un certificado de salud de los mismos a la administración de la Unidad de Biociencias de la FCQ al momento de su ingreso a esta unidad.

Conforme al Reglamento del CEID-FCQ, todo protocolo registrado y aprobado queda sujeto al seguimiento señalado en el Art. 13, en particular al apartado 13.2.2:

El profesor o investigador responsable deberá entregar al CEID-FCQ un informe al término del proyecto, ante la suspensión prematura del estudio o cuando le sea requerido. Si el proyecto no ha sido terminado en el lapso de un año deberá entregarse un **informe anual** que señale el grado de avance. Para la entrega de este informe se considerará un año transcurrido desde la fecha de emisión del dictamen de aprobación y un lapso no mayor de 10 días hábiles. El incumplimiento de lo anterior impedirá la revisión de un nuevo protocolo del investigador solicitante. El informe se enviará al CEID FCQ con una carta de presentación dirigida al Presidente, así como el respectivo informe.

ATENTAMENTE



**Dra. Silvia Romano Moreno
Presidente del CEID-FCQ**

Ccp. Archivo



www.uaslp.mx

Av. Dr. Manuel Nava Núñez
Zona Universitaria • CP 78210
San Luis Potosí, S.L.P.
tel: (444) 826 24 40 al 46
fax: (444) 826 2372



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



Posgrado en Ciencias en Bioprocesos

El papel de la prolactina y la oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor

Tesis que para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias en Bioprocesos

Presenta:

Figueroa Carrasco Perla Alejandra

SINODALES:

Presidente:	<u>Dra. Ruth Elena Soria Guerra</u>
Secretario:	<u>Dra. Aída Jimena Velarde Salcedo</u>
Vocal:	<u>Dra. María del Carmen González Castillo</u>
Vocal:	<u>Dr. Sergio Zarazúa Guzmán</u>

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

FECHA: JULIO, 2024

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO

Dra. María del Carmen González Castillo. Adscrita al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP.

Dra. Aída Jimena Velarde Salcedo. Adscrita a la Facultad de Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP.

Dra. Ruth Elena Soria Guerra. Adscrita al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos
Programa de Maestría

Formato M5

Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a Junio/ 25 / 2024

En la ciudad de San Luis Potosí el día 25 del mes de Junio del año 2024 La que suscribe Perla Alejandra Figueroa Carrasco Alumna del programa de posgrado Maestría en Ciencias en Bioprocesos adscrito a Universidad Autónoma de San Luis Potosí manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de: Dra. María del Carmen González Castillo y cede los derechos del trabajo titulado El papel de la prolactina y oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección palejandraqro@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Perla Alejandra Figueroa Carrasco



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos
Programa de Maestría

Formato M28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a Julio/12 /2024

L.B. María Zita Acosta Nava
Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada El papel de la prolactina y oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor presentada por el autor Perla Alejandra Figueroa Carrasco. La tesis es requisito para obtener el grado de Maestría en el Posgrado en Ciencias en bioprocesos. El análisis reveló un porcentaje de similitud de **40%** excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Dr. Jaime David Pérez Martínez
Coordinador del Posgrado en Ciencias en Bioprocesos

Resumen

La prolactina (PRL) y la oxitocina (OT) son hormonas importantes en la lactancia, tanto en el proceso de elaboración de leche en el seno materno, como en la regulación inmunitaria y la maduración intestinal en lactantes, ya que se encuentra entre los componentes importantes de la leche materna. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el papel de la PRL y la OT en el tono muscular de intestino delgado de rata y evidenciar su asociación con la absorción de nutrientes como la glucosa, así como identificar si el óxido nítrico (NO) era un mediador involucrado. Se examinó la influencia de dichas hormonas, aislando segmentos de intestino delgado de rata (duodeno, yeyuno e íleon) en solución fisiológica conectados a transductores isométricos, pre-contrayéndolos con cloruro de potasio (KCl) y exponiéndolos a concentraciones crecientes acumulativas e individuales de PRL, OT o su combinación (PRL+OT), observando los cambios en la tensión muscular del tejido en tiempo real. También se evaluó el paso de glucosa a través de la región mucosa y serosa, mediante sacos intestinales evertidos, y se determinó la producción de NO por el método de Griess. Los resultados mostraron que PRL, OT y PRL+OT regulan el tono muscular y el paso de moléculas, como la glucosa, en las paredes intestinales, lo que facilita su absorción. Este estudio aporta información relevante sobre el papel de estas hormonas no sólo en la lactancia, sino también en la regulación hormonal de la función intestinal y en la absorción de nutrientes en el lactante.

Palabras clave. Prolactina, Oxitocina, Intestino delgado, Músculo liso, Óxido nítrico.

Abstract

Prolactin (PRL) and oxytocin (OT) are important hormones in lactation, both in the process of milk production in the breast, immune regulation and intestinal maturation in the infant, as they are among the components of milk. The aim of the present work was to evaluate the role of PRL and OT in rat small intestinal muscle tone and to demonstrate their association with the absorption of nutrients such as glucose, as well as to determine whether Nitric Oxide (NO) is involved as a mediator. The influence of these hormones was studied by isolating segments of rat small intestine (duodenum, jejunum and ileum) in physiological solution, connected to isometric transducers, pre-contracted with potassium chloride (KCl) and exposed to cumulative and individually increasing concentrations of PRL, OT or their combination (PRL+OT), observing the changes in muscle tension in the tissue in real time. Glucose passage from the mucosal to the serosal side was also assessed using inverted intestinal sacs, and NO production was determined by Griess method. The results showed that PRL, OT and PRL+OT regulate peristalsis and the passage of molecules such as glucose through the intestinal walls, facilitating its absorption. This study provides relevant information on the role of these hormones not only in lactation, but also in the hormonal regulation of intestinal function and the absorption of nutrients in the infant.

Keywords. Prolactin, Oxytocin, Small Intestine, Smooth muscle, Nitric oxide.

Índice

Resumen.....	10
Abstract.....	11
Introducción	14
Fisiología de la lactancia.....	14
Componentes de la leche materna	17
La prolactina como componente de la leche materna.....	20
La oxitocina como componente de la leche materna	25
Antecedentes	31
Bases fisiológicas del intestino delgado.....	31
Efectos de prolactina en el aparato digestivo	37
Efectos de la oxitocina en el aparato digestivo	42
El papel del óxido nítrico en la función intestinal	46
Estudio de las acciones de PRL y OT en un modelo ex vivo de intestino delgado de rata.....	51
Antecedentes inmediatos obtenidos en el Laboratorio de Fisiología Celular en torno a la PRL y su asociación con el NO como mediador de sus acciones	53
Justificación	54
Hipótesis	55
Objetivo general.....	55
Objetivos particulares.....	55
Metodología	55
Sustancias químicas.....	55
Biomodelos experimentales.....	56
Determinación del grado de contracción de anillos aislados de intestino delgado de rata en presencia de PRL y OT.....	56
Determinación y análisis de nitratos y nitritos	57

Determinación de glucosa a través de sacos intestinales evertidos	58
Análisis estadístico	59
Resultados	60
Elaboración de controles de contracción y relajación en segmentos de intestino delgado	60
Concentraciones crecientes y acumulativas de PRL y OT indujeron efectos duales sobre la tensión de los anillos aislados de intestino de rata joven	60
La oxitocina aumenta la producción de NO en el duodeno, el yeyuno y el íleon	61
La prolactina y la oxitocina mostraron un perfil opuesto en el perfil de contracción transitorio en el segmento precontraído de yeyuno	61
Las administraciones individuales de PRL y OT, así como su combinación presentan un comportamiento característico en función del segmento intestinal	62
La prolactina y la oxitocina aumentan la absorción de glucosa en los sacos intestinales invertidos	63
Discusión	63
Conclusiones	69
Resumen de reporte de similitud	70
Bibliografía	72

Introducción

La leche materna humana (LMH) es un fluido biológico y complejo, cuya composición se va modificando para adaptarse a las necesidades nutricionales del recién nacido y del lactante, además de otorgar protección que persiste a lo largo del tiempo frente a agentes infecciosos, tumorales y alergénicos (Gutiérrez De Terán Moreno, 2015). Entre todos los componentes que presenta, existen carbohidratos, lípidos, proteínas, inmunoglobulinas, lactoferrina, interferón, factores del complemento, factor bifidus, etc, existen dos hormonas, prolactina (PRL) y oxitocina (OT) (Takeda et al., 1986); (Healy et al., 1980), que han tenido impacto a nivel gastrointestinal.

Fisiología de la lactancia

La lactancia representa la culminación del ciclo reproductivo y es una de las etapas principales del desarrollo de la glándula mamaria, que incluye la embriogénesis, la mamogénesis, la lactogénesis (o diferenciación secretora - etapa I) y la activación secretora (etapa II); la lactancia (o etapa III), que es la secreción completa de leche; y la involución de la mama (Lawrence, 2022). Bajo la influencia hormonal, en la pubertad, estas glándulas mamarias se desarrollan como resultado de la acción de los estrógenos y la progesterona, hormonas esteroideas ováricas que desempeñan un papel fundamental en la reproducción, regulando todos los aspectos de la reproducción femenina, desde el comportamiento sexual hasta la gestación y la lactancia (Demayo et al., 2002). El estrógeno y la progesterona estimulan el crecimiento de los conductos en las mamas, y el desarrollo de los alvéolos, respectivamente (Cordero & Cordero, 2005). En el primer embarazo, a partir de la semana 20, la PRL, progesterona (PG) y el lactógeno placentario (LP) comienzan la etapa I de la lactogénesis (Gutiérrez De Terán Moreno, 2015), a medida que aumentan los niveles de PG, PRL y LP, las «unidades ductillo-lobulillares terminales» (TDLU) se expanden considerablemente, de modo que cada lobulillo llega a parecerse a un gran racimo de uvas. En la mitad del embarazo comenzará la diferenciación secretora con aumento del ARNm para la síntesis de muchas proteínas lácteas y enzimas para la producción láctea. El cambio, a la diferenciación secretora se le denomina lactogénesis I, en donde la glándula

permanece quiescente pero preparada para iniciar la secreción de leche después del parto. Durante el embarazo existen niveles altos de progesterona en sangre, pero al momento del parto, éstos disminuyen drásticamente, comenzando la etapa II de la lactogénesis, caracterizada por una secreción copiosa de leche (Neville & Morton, 2001). Antes y durante el parto, una serie de eventos hormonales favorecen el inicio de la lactogénesis, por lo que la primera toma del bebé va a ser decisiva para su continuación eficaz y de calidad en la nutrición y desarrollo de este (Sanés Espert, 2003) La eyección de la leche es un proceso tanto neural como endocrinológico, donde el amamantamiento estimula terminaciones nerviosas sensoriales en la areola y el pezón, activando reflejos neurales aferentes que llevan a la secreción y liberación de PRL y OT (Lawrence, 2022). Si el recién nacido estimula el pezón de la madre, empieza el mecanismo de reflejo de succión, la succión estimula la liberación de PRL de la hipófisis anterior, la cual viaja en dirección hacia los senos maternos, promoviendo la producción de leche, que nutrirá al recién nacido, a través de la estimulación del pezón por medio de la succión ejercida por este (DrCondoriCh, 2019); (Hernández-Guzmán et al., 2022); (Powe, Knott, & Conklin-Brittain, 2010), asimismo, la OT, un neuropéptido compuesto por nueve aminoácidos que actúa como hormona, neurotransmisor y neuromodulador, conocido por su papel en el parto y la lactancia (Bowen et al., 2016), interviene en el reflejo de eyección, comúnmente llamado: bajada de la leche. La PRL se sintetiza en los lactótrofos de la adenohipófisis (Patiño, 2008), induciendo la diferenciación de las células alveolares a galactocitos, así como también la producción láctea, está regulada tanto positiva como negativamente; su principal control procede de factores inhibidores hipotalámicos como la dopamina, que actúan sobre la subclase D2 de receptores de dopamina presentes en los lactótrofos. Sin embargo, la progesterona y el lactógeno placentario, dos hormonas producidas en el embarazo, principalmente por la placenta, (sin embargo, la progesterona puede producirse en el cuerpo lúteo en el ovario) (Gutiérrez-Rodríguez & Camacho-Arroyo, 2016) actúan como inhibidores competitivos, evitando que se produzca leche (Asociación Española de Pediatría (AEP), 2015). Estas hormonas disminuyen unas semanas antes del nacimiento del bebé, comenzando la producción abundante de

leche, sobre todo, después del nacimiento, cuando el contacto precoz de la diada madre-bebé promueve el amamantamiento, empezando la etapa II de la lactogénesis (Gutiérrez de Terán Moreno, 2015), al tener estimulación táctil del complejo areola-pezones por la succión, ésta provoca señales aferentes al hipotálamo que desencadenan la liberación de OT, provocando la contracción de las células mioepiteliales, forzando la entrada de leche en los conductos desde las luces alveolares y su salida a través del pezón (Pillay J. & Davis TJ., 2023). (Figura 1)

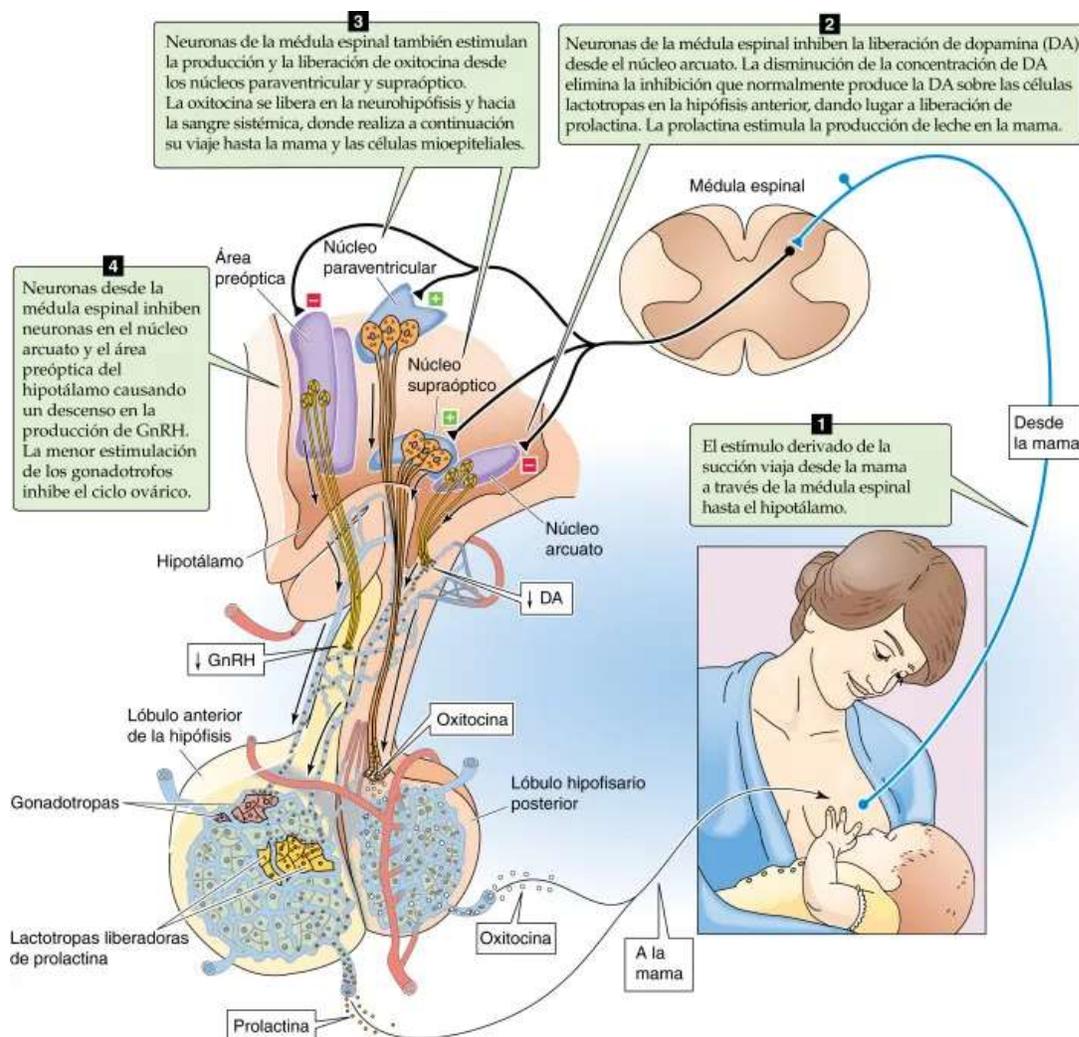


Figura 1. Fisiología de la lactancia. (Ángeles Zúñiga, 2018).

En la etapa II de la lactogénesis, el sistema autócrino de la propia mama regula la producción de leche a través de la succión o extracción mecánica, adaptándose a las necesidades del lactante. Por el contrario, si la leche se acumula en la mama, ésta provoca que aumente la presión intraalveolar, estimulando la producción del Factor Inhibidor de la Lactancia (FIL) que causa una disminución en la sensibilidad a la PRL (Gutiérrez De Terán Moreno, 2015). Cuando llega el destete, al cesar la extracción de leche, se produce la apoptosis de los galactocitos e involuciona la glándula mamaria, ocasionando el cese de la lactancia. (Gutiérrez De Terán Moreno, 2015). El mantenimiento de la galactopoyesis está sujeto a cumplir la demanda del bebé en la alimentación (Sanés Espert, 2003), requiriendo el vaciado de la mama, ya que disminuye la presión intraalveolar, y la concentración del FIL, que provoca una disminución en la sensibilidad a la PRL, y, por ende, de producción de leche (Gutiérrez De Terán Moreno, 2015), el contacto precoz y el amamantamiento en la primera hora permite que las madres amamanten por tiempos más prolongados. (Salazar et al., 2009).

Componentes de la leche materna

La LMH es el estándar de la nutrición infantil, porque es un biofluido específico para cada individuo, que presenta componentes biológicamente activos en su composición que son sintetizados por el epitelio mamario, secretados por células dentro de la leche materna o provenientes del suero materno. Estos componentes afectan la condición y función del cuerpo del lactante al influir en los elementos y procesos biológicos como favorecer la colonización del intestino por *Lactobacillus bifidus*; factores de crecimiento, hormonas, prebióticos y probióticos, enzimas, citocinas, péptidos antimicrobianos, entre otros (Hatmal et al., 2022). El contenido energético y nutricional de la leche materna puede diferir a lo largo del tiempo por diversos factores, debido a diferencias en la proliferación y diferenciación de las células epiteliales de leche durante el embarazo (asociado probablemente a malnutrición materna, señales fetales o características innatas). (Powe, Knott, & Conklin-Brittain, 2010). Tras el nacimiento, se genera el calostro, leche que se produce durante los 4 días siguientes al parto, y

comparado con la leche madura, tiene menos contenido energético, lactosa, lípidos, glucosa, urea, vitaminas hidrosolubles y nucleótidos; asimismo, tiene más proteínas, ácido siálico, vitaminas liposolubles E, A, K y carotenos; también es superior el contenido de minerales, sodio, cinc, hierro, azufre, potasio, selenio y manganeso. El neonato tiene enzimas intestinales inmaduras, por lo que el calostro presenta enzimas en su composición que apoyan con la digestión; todos estos componentes estimulan la maduración del tubo digestivo y sus sistemas de defensa, promueve el establecimiento de la microflora digestiva del neonato y la maduración del sistema inmunológico, así como efecto laxante que expulsa el meconio, que es la sustancia inicial presente en los intestinos del feto en desarrollo y constituye la primera deposición del recién nacido (Skelly et al., 2022).

El calostro es un líquido escaso, de consistencia espesa que facilita el desarrollo funcional de la succión, deglución y respiración en el neonato, éste contiene grandes cantidades de componentes inmunológicos que le permiten ejercer una función protectora contra virus, bacterias y parásitos, como la inmunoglobulina A (IgA), que juega un papel fundamental en la protección intestinal, impidiendo la adhesión de las bacterias a las superficies mucosas (Salazar et al., 2009), posteriormente disminuye su concentración en la leche madura. Existen otro tipo de inmunoglobulinas, tales como las IgG, IgM, IgD e IgE, la lactoferrina, interferón, factores del complemento C3 y C4 y factor bifidus, que, junto a los oligosacáridos favorecen el crecimiento del microbiota, también se encuentra el ácido siálico, fundamental en la formación de terminaciones nerviosas y dendritas en el cerebro. La lactosa, principal azúcar de la leche materna, tiene un papel en la síntesis de galactopéptidos, necesarios para la mielinización del sistema nervioso, y favorece la absorción de minerales como hierro y calcio. La proporción de minerales es variable, dependiendo de circunstancias como la mastitis, una inflamación de la mama, que puede derivar en una infección bacteriana y provocar el cese de la lactancia (Pevzner & Dahan, 2020) o la dieta materna, así como la categoría en la que se encuentre la leche (calostro o leche madura), y, en cuanto a su contenido de proteínas, la ingesta proteica materna influye en las proporciones presentes. Finalmente, la leche materna evita la aparición de alergias

debido a que las proteínas de la leche materna son específicas de la especie humana, por lo que los niños amamantados no desarrollan anticuerpos contra ellas (Juez García et al., 2010). Picciano, 2001, refiere que cada leche tiene características propias que la hacen adecuada a la cría de cada especie (Picciano, 2001), ya que, la leche de vaca tiene beta-lactoglobulina, que tiene un gran potencial alergénico. Ésta y otras proteínas de la leche de vaca son los antígenos que con mayor frecuencia producen reacciones de hipersensibilidad en los lactantes (Cubides-Munevar et al., 2020), debido a que la mucosa intestinal del lactante no tiene un mecanismo que impida el paso de proteínas enteras a la sangre (Juez García et al., 2010).

Además, se encuentran presentes hormonas como la hormona liberadora de gonadotropinas, hormona liberadora de tirotropina (TRH), hormona estimulante de la tiroides (TSH), PRL, gonadotropinas, hormonas ováricas, corticoesteroides y eritropoyetina, cuya concentración es variable a lo largo de la lactancia (Sabillón & Abdu, 1997). Gómez Gallego et al., 2009 coincide en que estas hormonas se encuentran en la leche materna, además de incluir isómeros de la PRL, leptina, estradiol, OT, hormona adenocorticotropa, hormona estimulante del tiroides, hormona del crecimiento, tiroxina, cortisol e insulina.

En un estudio realizado en la leche materna, se identificaron concentraciones de OT desde 4.5 a 3.3 μ U los primeros 5 días postparto (Takeda et al., 1986). En otro estudio, se identificó PRL en todas las muestras de leche humana, independientemente del tiempo transcurrido desde su extracción. Las concentraciones de PRL en leche fueron muy altas durante los primeros 3 días después del nacimiento, con niveles medios de 147, 137 y 157 ng/ml, respectivamente (Healy et al., 1980). Se ha observado que las proteínas presentes en la leche y el suero pueden interactuar con la PRL, y se ha planteado la hipótesis de que podrían funcionar como transportadores. Sin embargo, esta función aún no ha sido comprobada (Postel-Vinay et al., 1991), no obstante, la PRL puede formar complejos con proteínas, como la macroprolactina, formada al unirse con la IgG (Kline & Clevenger, 2001); (Richa et al., 2010).

La prolactina como componente de la leche materna

Como se mencionó anteriormente, la liberación de la leche es apoyada por la PRL, una hormona peptídica de 23 kDa conformada por 198 aminoácidos, codificada en el cromosoma 6. La forma predominante de la PRL es la de 23.5 kDa, y se encuentra presente en la hipófisis humana; sin embargo, puede adquirir grupos como carbohidratos, dimerizarse, polimerizarse o ser hidrolizada, dando origen a otras variantes, por modificaciones postraduccionales (Méndez et al., 2005).

En la literatura se han descrito cuatro isoformas de la PRL: Pequeña: 23 KDa, Glucosilada: 25 KDa, Grande: 50 KDa, Grande-Grande: 200 KDa (Hernández-Guzmán et al., 2022) (Figura 2). Por lo que la PRL es una hormona multifuncional, considerada como una citocina, por sus acciones en el sistema inmune, versátil en las acciones que ejerce, dependiendo de su polimorfismo estructural, así como de la distribución de sus receptores membranales (Méndez et al., 2005).

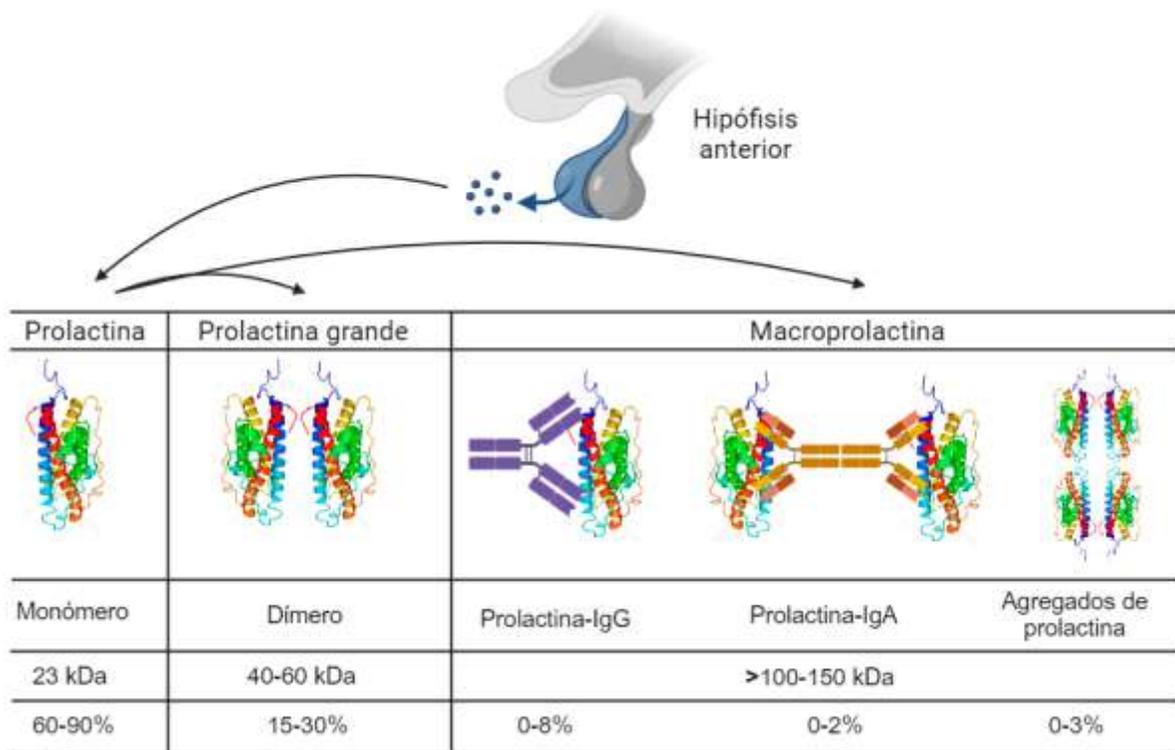


Figura 2. Variantes de PRL. Adaptado de (Stuebe, 2022).

El apareamiento provoca un aumento de PRL y programa aumentos diarios durante el inicio de la gestación, desempeñando funciones importantes en el mantenimiento de los cuerpos lúteos durante el embarazo (Voogt et al., 2001). En todos los mamíferos, las concentraciones presentes de PRL en la sangre dependen del estímulo de la succión del pezón por parte de la cría, que produce una señal en las vías neuronales somatosensoriales que inervan la glándula mamaria, y esta señal neuronal se transmite al hipotálamo, donde se convierte en una señal hormonal que regula la hipófisis anterior, induciendo la secreción de PRL. La cantidad de PRL liberada depende de la intensidad y duración, así como del tiempo transcurrido entre los episodios de amamantamiento (Grattan, 2001). Tras una gestación exitosa, la función de la PRL cambia para incluir la síntesis y el mantenimiento de la leche durante la lactancia. Cada vez que se amamanta, la PRL se libera y estimula la producción de leche al actuar sobre las células epiteliales de la glándula mamaria (Voogt et al., 2001). La PRL también es sintetizada *in situ* en la glándula mamaria y secretada en la leche; en la que puede desempeñar funciones inmunológicas (Hómez de Delgado, 2003). La PRL va a estimular a la glándula mamaria y va a facilitar la captación de glucosa, lactosa, ácidos grasos y de inmunoglobulina G y A, debido a la estimulación de linfocitos B y macrófagos, para producir más inmunoglobulinas que van a pasar por la leche al recién nacido (Vargas, 2019). La PRL, además, está implicada en la diferenciación de las células alveolares secretoras (Gutiérrez de Terán Moreno, 2015).

Durante la lactancia, la PRL se libera cuando el pezón es estimulado durante la toma de leche por el neonato, elevando los niveles séricos a los 20-30 minutos de la succión, asimismo, durante el sueño, las concentraciones de PRL en plasma se elevan (Gutiérrez de Terán Moreno, 2015). En la glándula mamaria, la PRL se sintetiza y se secreta en las células epiteliales, durante la lactancia, tras su síntesis en la célula epitelial, se une a proteínas transportadoras secretándose por exocitosis a través de la membrana apical al lumen alveolar; en las células epiteliales se produce procesamiento de la PRL sintetizada observándose la presencia de diversas formas

proteolíticas de 11, 14, y 16 KDa; la leche materna contiene más formas diferentes de PRL (agregados, formas glicosiladas y fosforiladas) que el plasma sanguíneo (Martín Pérez, 2010).

La leche materna presenta cantidades de PRL a niveles representativos de la concentración circulante promedio. (Ostrom, 1990). Estos niveles de PRL sérica se mantienen en torno a 1000 IU/L (unidades internacionales por litro), durante los 15 primeros meses de lactancia y descienden durante los 3 meses siguientes a 550 IU/L (unidades internacionales por litro) (Hennart et al., 1981). El monómero de 23 KDa se encuentra en mayor cantidad en la leche materna, porque en el embarazo se favorece la producción del monómero, en proporción al dímero de PRL; más del 90% de la PRL en la leche está presente como monómero (Ostrom, 1990). Además, Postel-Vinay et al., (1991) detectaron una proteína de unión a PRL presente en la leche humana, pero no así en el plasma, sin embargo, no se ha estudiado su especificidad. En la leche humana, coexiste la proteína de unión a hormona del crecimiento con la proteína de unión a PRL, y esta proteína tiene una afinidad casi diez veces mayor a la hormona, que la afinidad del receptor de membrana de la glándula mamaria (Postel-Vinay et al., 1991). El estudio de Healy et al., (1980), confirma la existencia de una proteína de unión a GH y PRL en la leche humana, con alta afinidad, y puede servir de manera similar como un transportador de hormona del crecimiento (GH) y PRL al intestino del lactante, queda por definir su importancia biológica en la leche (Mercado & Baumann, 1994).

La PRL es la principal responsable de la producción láctea, incrementando a nivel celular la transcripción del mRNA para la síntesis de las proteínas lácteas, como la caseína, formada por beta-caseína, (Salazar et al., 2009), la cual es una fosfoproteína producida por cuatro genes que codifican para las caseínas α s1, α s2, β y κ , las cuales se organizan en forma de micelas o unidades solubles (Guevara-Garay et al., 2014). La caseína es una proteína que después de ser digerida en el tracto gastrointestinal, libera péptidos con actividad opiácea, en donde se unen a sus receptores en el lumen intestinal, ejerciendo un efecto local sin necesidad de absorción sistémica, reduciendo

el reflejo peristáltico mediante reducción de la respuesta refleja; de manera que actúan como moduladores exógenos de la motilidad gastrointestinal, de la permeabilidad intestinal y de la liberación de hormonas intestinales (Gómez Gallego et al., 2009), así como k-caseína, una proteína presente en la leche materna, altamente glicosilada, la cual inhibe la adherencia de *Helicobacter pylori* a la mucosa gástrica humana (Salazar et al., 2009).

El receptor de PRL, un miembro de la superfamilia de receptores transmembranales de citocinas, es el que media las acciones de dicha hormona (Kline & Clevenger, 2001). Su acción más reconocida es ser responsable de la lactogénesis. Además, tiene efectos inmunomoduladores sobre los leucocitos, en la alimentación, coordinación de las adaptaciones neuroendócrinas y conductuales en el cerebro materno, (Gutiérrez de Terán Moreno, 2015) estabiliza y promueve la transcripción del ARNm de caseína; puede estimular la síntesis de alfa-lactoalbúmina, proteína reguladora del sistema enzimático lactosa sintetasa y aumenta la actividad de la lipoproteína lipasa en la glándula mamaria (Ostrom, 1990). La expresión de las diferentes isoformas de PRL y su receptor contribuyen a explicar las más de 300 funciones descritas para esta hormona (Ramos-Martinez et al., 2021) (Figura 3).

Isoformas de los receptores de PRL

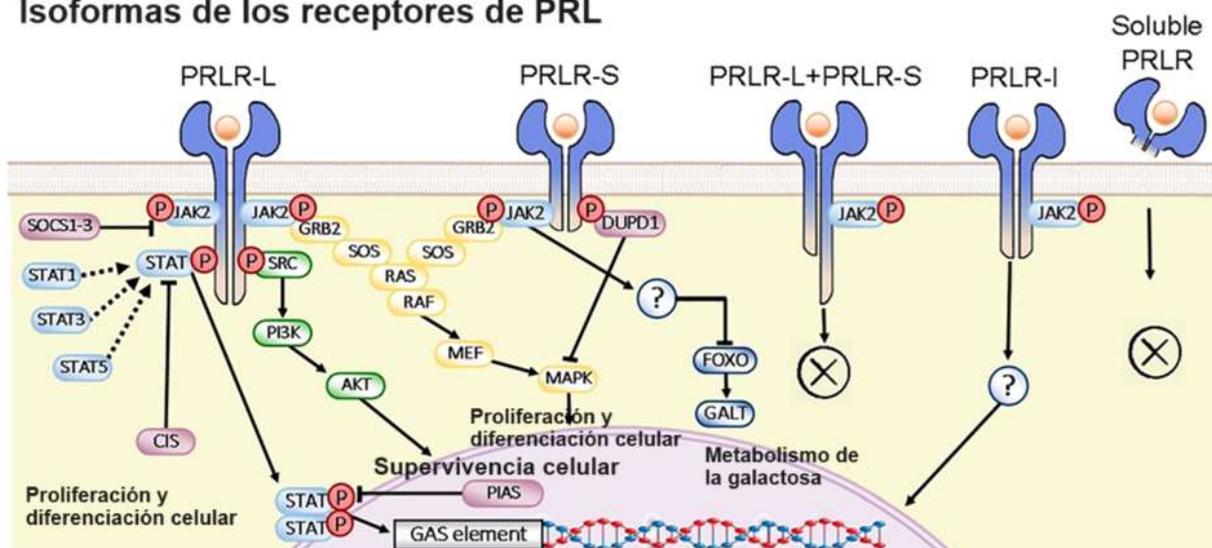


Figura 3. Isoformas de los receptores de PRL (Ramos-Martinez et al., 2021); (Abramicheva & Smirnova, 2019).

La PRL interactúa con su receptor mediante dimerización, donde una molécula de PRL se une a dos receptores, primero, PRL se une a un receptor formando un complejo aún no activo, y posteriormente se une a otro receptor para formar un complejo activo hormona-receptor, el receptor presenta puentes disulfuro que son cruciales para su estructura y función. La activación del receptor de PRL, que no tiene actividad enzimática, conduce a la fosforilación de proteínas celulares, incluido el propio receptor, por quinasas como Jak2 y Src. Estas fosfotirosinas actúan como sitios de unión para proteínas como Stats, que, una vez fosforiladas, se disocian del receptor y regulan la transcripción génica en el núcleo. Además, proteínas como proteína SH2 inducible por citocinas (CIS) y Supresores de la señalización de citoquinas (SOCS) inhiben la vía Jak/Stat. La activación de quinasas Src por PRL es esencial para la proliferación celular y la diferenciación del epitelio mamario al activar vías como las MAP quinasas y PI3K/PKB, esenciales para la progresión del ciclo celular (Martín Pérez, 2010). (Figura 4).

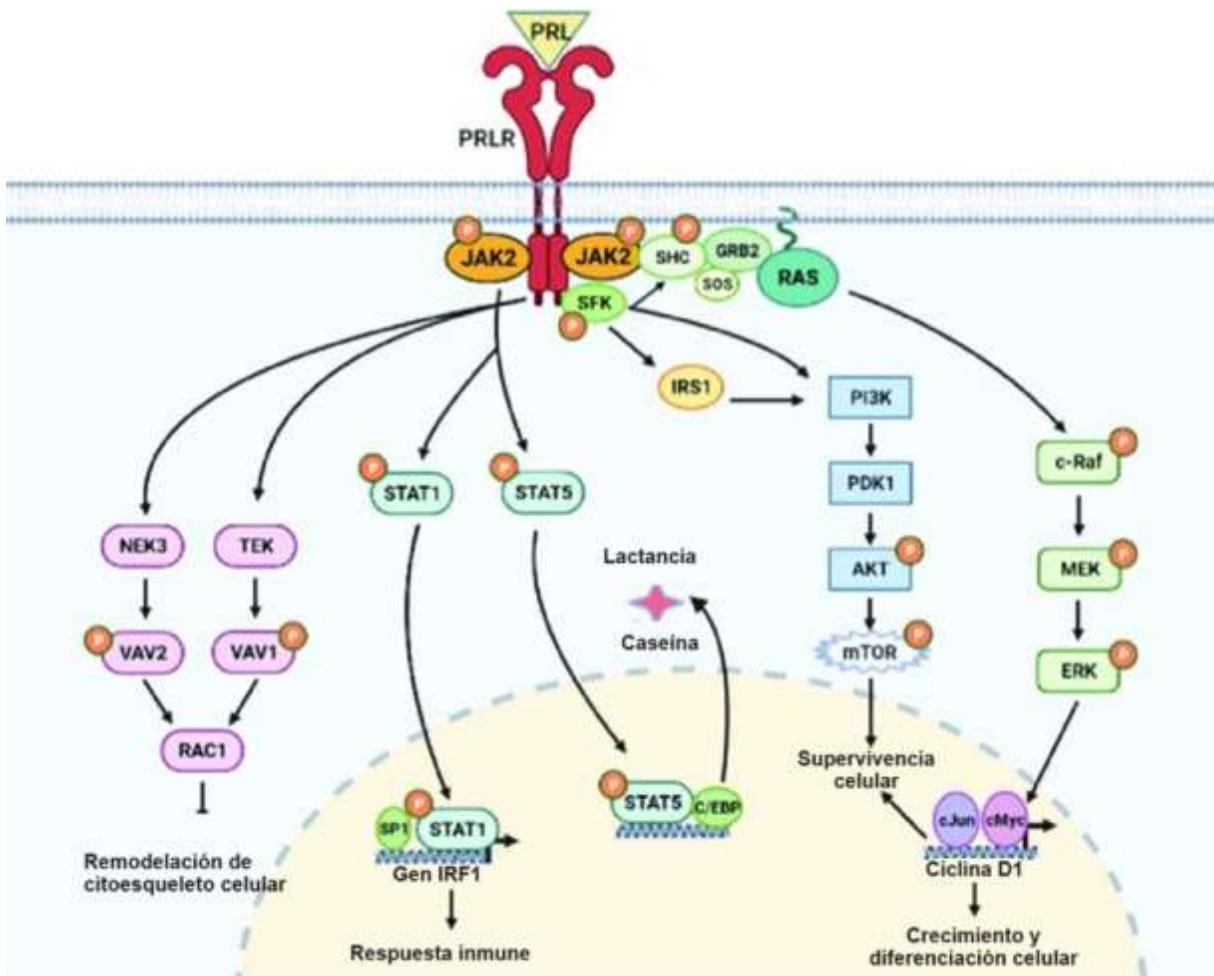


Figura 4. Mecanismos de acción de PRL. Vías de señalización PRL/PRLR. La PRL a través de su receptor PRLR induce múltiples cascadas de señalización que incluyen la participación de JAK, SFK, PI3K/ AKT, NEK3/VAV2, quinasas TEK/VAV1 y factores de transcripción STAT. Estas vías de señalización están implicadas en la lactancia, la respuesta inmunitaria, la remodelación del citoesqueleto y el crecimiento, la proliferación y la supervivencia celular (Kavarthapu & Dufau, 2022).

La oxitocina como componente de la leche materna

La OT es un nonapéptido producido principalmente en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo (N. Liu et al., 2022). También es producida en las neuronas hipotálamo-hipofisarias que estimulan a los receptores oxitonérgicos (OTR),

además se libera principalmente por exocitosis desde la neurohipófisis y terminaciones nerviosas para iniciar la eyección de la leche y el parto, sin embargo, puede participar en otros procesos del sistema nervioso central, como la vinculación, interacción social, entre otros (Okumura et al., 2022) La OT está constituida por nueve aminoácidos (cisteína, tirosina, isoleucina, glicina, asparagina, cisteína, prolina, leucina y glicina), un grupo amino terminal y un puente de azufre entre las dos cisteínas. Su peso molecular es de 1.007 kDa y se encuentra en el cromosoma 20 (Oae & Okuyama, 1992). Como se ha mencionado, es una hormona necesaria para el parto y la lactancia normales, porque actúa sobre las células mioepiteliales que rodean los alvéolos, haciendo que éstas se contraigan y viertan la leche a los conductos de calibre superior, produciéndose la eyección de la leche. Además, produce hipertrofia e hiperplasia del acino lactífero (Vargas, 2019). Unido a la succión del bebé, permite un vaciado correcto de la mama. (Gutiérrez De Terán Moreno, 2015). Es importante el contacto piel con piel al momento del nacimiento, ya que, en un estudio, cuando las crías de rata son separadas de sus madres, causa alteración de la función de barrera mucosa en el colon distal, debido al aumento de permeabilidad y la adherencia y penetración bacteriana, y al momento de restaurar el contacto madre-hijo, algunas funciones de la barrera volvieron a la normalidad en varios días (Gareau et al., 2006). No hay suficiente información de los efectos de la OT en el neonato, sin embargo, las pocas investigaciones al respecto nos hablan de que la OT y su receptor tienen efectos importantes en las neuronas presentes en el intestino y su combinación con secretina muestra efectos antiinflamatorios en modelos de colitis, asimismo, los ratones sin OTR presentan problemas en la estructura intestinal, motilidad, permeabilidad y respuestas inflamatorias, por lo que la OT parece jugar un papel crucial en el desarrollo y función intestinal temprana, regulando su expresión durante la lactancia, especialmente hacia las células madre en las criptas intestinales (Klein et al., 2017). La OT además puede inhibir la señalización de mTOR, y, por tanto, reduce las lesiones de la mucosa intestinal provocadas por la inflamación, que pueden derivar a enterocolitis necrosante (Klein et al., 2013); (Wang et al., 2020). Sus efectos antiinflamatorios podrían desempeñar un papel vital en el desarrollo, supervivencia y función de los enterocitos

del intestino delgado en recién nacidos durante la colonización microbiana del intestino, coincidiendo con el período de lactancia (Klein et al., 2016). Existe evidencia que sugiere que la OT, junto con otros neuropéptidos como la secretina (S), son cruciales en el condicionamiento de patrones de comportamiento adaptativo en bebés, si estos mecanismos son anómalos, existen trastornos del desarrollo, como el autismo (Welch & Ruggiero, 2005).

La OT en el cerebro y la sangre tiene amplias funciones en las actividades mentales y físicas, estas funciones están mediadas por receptores de OT (OTRs) que se distribuyen en un amplio espectro de tejidos con un dimorfismo sexual dramático (N. Liu et al., 2022). El papel central de la OT en el comportamiento y la fisiología es estrechamente dependiente de hormonas esteroides y el género, la distribución de la OT y los receptores específicos de ésta son más abundantes en las mujeres. La expresión de OTR desempeña un papel no sólo en el útero, sino también en otros tejidos humanos: riñón, ovario, corazón, endotelio vascular, y otros (López-Ramírez et al., 2014). Las funciones de la OT dependen de la distribución de las OTR y del cambio relativo en los niveles de OT. En el cerebro y la médula espinal, la activación de los OTR se asocia con una variedad de actividades mentales, como la memoria social, el vínculo de pareja, el comportamiento maternal y la agresión y comportamientos instintivos como la actividad sexual, la ansiedad, la alimentación y la percepción del dolor. La OT producida localmente puede promover la diferenciación de las células tónicas, inhibir la inflamación, proteger el corazón de la lesión isquémica, y suprimir la metástasis del cáncer colorrectal (N. Liu et al., 2022).

Cuando OT se libera de forma periférica, interviene en las contracciones uterinas para el trabajo de parto y la producción de leche, por otra parte, al ser liberada en el sistema nervioso central (SNC), facilita las conductas del cuidado materno en diferentes especies, relacionados a una mejor interacción entre madres y bebés, asimismo, se observa un rol similar en la conducta paterna y promueve la agresión defensiva y ofensiva, regulado por el sistema límbico, por ejemplo, cuando la madre percibe un potencial peligro para sus crías; la OT excita neuronas GABAérgicas de la amígdala

central y lateral, que a su vez inhiben a las neuronas que se encargan de aumentar las respuestas comportamentales del miedo, por lo que se concluye que la OT modula las respuestas automáticas de miedo por sus efectos en la amígdala. Además, en la función social de la OT se indica que tiene efectos en la preferencia social y en la disminución de los efectos comportamentales (evitación y escape), pero no en la activación de la amígdala; sugiriendo que la OT podría revertir la evitación social inducida por el estrés y por lo tanto podría ser de uso para el tratamiento de la fobia y disfunción sociales en humanos (Florez-Acevedo & Cardenas-Parra, 2016).

La OT es liberada a la circulación en forma pulsátil mediante estímulos sensoriales (Augustine et al., 2018). En el caso de la mujer embarazada por estiramiento cervical y vaginal, y por estimulación del seno (Lippert et al., 2003). En condiciones basales, los niveles circulantes de OT son relativamente constantes, pero, durante el parto y la lactancia, la liberación pulsátil de OT desencadena la contracción rítmica del útero durante el parto y la eyección de leche durante la lactancia. Los cuerpos celulares y las dendritas de las neuronas liberadoras de OT también están densamente poblados de vesículas neurosecretoras que se liberan por exocitosis. (Augustine et al., 2018). En mamíferos, se han identificado OTRs en un amplio espectro de tejidos, incluyendo el riñón, corazón, timo, páncreas, adipocitos y otros sitios además del sistema nervioso central (SNC) (N. Liu et al., 2022). La síntesis de receptores de OT es estimulada por el estradiol e inhibida por la progesterona. El útero no gestante responde a la administración de OT en presencia de estradiol con un aumento de la actividad peristáltica, por lo que no se puede reducir su función de manera exclusiva al embarazo (Lippert et al., 2003). El estrógeno estimula la expresión de OTR en el hipotálamo, el útero y las glándulas mamarias. En las mujeres, las OTR se localizan específicamente en las células mioepiteliales de las glándulas mamarias y en el miometrio y endometrio del útero. Las acciones periféricas de la OT se asocian comúnmente con la contracción del músculo liso, particularmente en los tractos reproductores femenino y masculino (N. Liu et al., 2022). La lactancia materna se asocia también con la administración de cantidades significativas de OT proveniente de la madre a los neonatos, sugiriendo

que confiere protección a largo plazo contra la inflamación gastrointestinal (GI) (Welch et al., 2010).

Asimismo, la OT se une a su receptor, induciendo la movilización del Ca^{2+} en las células musculares lisas del útero y del miometrio (López-Ramírez et al., 2014). (Figura 3). El receptor de OT es el producto proteico codificado por el gen OTR que se localiza en 3p25-3p26.2 en el cromosoma humano, conformando una familia de receptores de siete transmembranas (7TMR) pertenecientes a la familia de receptores acoplados a proteínas G (Alanazi et al., 2020), su activación está regulada por el colesterol como modulador alostérico, teniendo un perfil de expresión específico del tejido (N. Liu et al., 2022). La unión de OT a su receptor induce la formación del inositol trifosfato (IP3), que a su vez promueve la liberación intracelular de Ca^{2+} . En las células mioepiteliales mamarias y el miometrio uterino, los complejos Ca^{2+} -calmodulina formados activan la actividad de la quinasa de cadena ligera de miosina, que a su vez inician contracciones del músculo liso. Se especula que la misma cascada de señalización intracelular tiene lugar en las células musculares lisas del intestino. El OTR también estimula la vía de la quinasa regulada por señales extracelulares 1/2 (ERK1/2), que conduce a un aumento de la proliferación celular en algunas células, como los astrocitos (Alanazi et al., 2020).

Mediante la activación de los OTRs, la OT provoca la activación de una serie de eventos de señalización intracelular, como el aumento de la ciclooxigenasa-2, las proteínas quinasas 1 y 2 reguladas por señales extracelulares, y la proteína quinasa A; bajo la regulación de estos factores extracelulares e intracelulares, la actividad neuronal de OT y la secreción de OT pueden satisfacer las demandas de la actividad corporal en respuesta a los cambios ambientales (N. Liu et al., 2022).

En conclusión, OT desempeña acciones clave en la regulación de la salud y la enfermedad en las mujeres en diferentes etapas de la vida, por ejemplo, durante la menstruación, promueve la secreción de hormonas que facilitan la ovulación, en el embarazo, contribuye al comportamiento maternal, la lactancia y la contracción uterina al final del término, siendo que esta contracción es facilitada por cambios en los

canales iónicos y la expresión de receptores de OT, en el parto, la OT acelera la expulsión del feto y reduce la hemorragia posparto y durante la lactancia, es crucial para el reflejo de expulsión de leche y el comportamiento materno, debido a esto, los problemas en la secreción de OT pueden explicar la depresión materna y la insuficiencia en la producción de leche, así como en la menopausia, que puede contribuir a síntomas y enfermedades asociadas (N. Liu et al., 2022). La activación de OTR's conduce a tres mecanismos diferentes de unión a las proteínas GTP. El mecanismo principal está mediado por el camino de ida G/PLC/nsP, Cuando la OT se une a receptores específicos de OT, se active proteínas G de tipo rodopsina (clase I) G_q y luego fosfolipasa C (PLC) que induce la escisión de PIP2 a inositoltrifosfato (InsP3) y diacilglicerol (DAG). InsP3 induce la liberación de Ca^{2+} de los depósitos de Ca^{2+} a través de InsP3R y en algunas células, a causa del Ca^{2+} induce la liberación de Ca^{2+} (CICR) a través del receptor de rianodina (RyR). La activación de G_q también provoca la despolarización de la membrana que, a su vez, activa los canales de Ca^{2+} activado por voltaje (VGCCs) y luego da la entrada a Ca^{2+} a través de VGCCs. Así, el aumento de Ca^{2+} citosólico ($[Ca^{2+}]_i$) estimula CaMK después de la unión a la proteína de unión de Ca^{2+} Calmodulina. El complejo Ca^{2+} /CaM activa entonces CaMK y provoca diversas respuestas celulares, tales como las contracciones del músculo liso o induce la activación de varios tipos de enzimas, tales como NOS o de PI3K. DAG causa la activación de la proteína cinasa C (PKC) y también diversas respuestas celulares (Viero et al., 2010). (Figura 5)

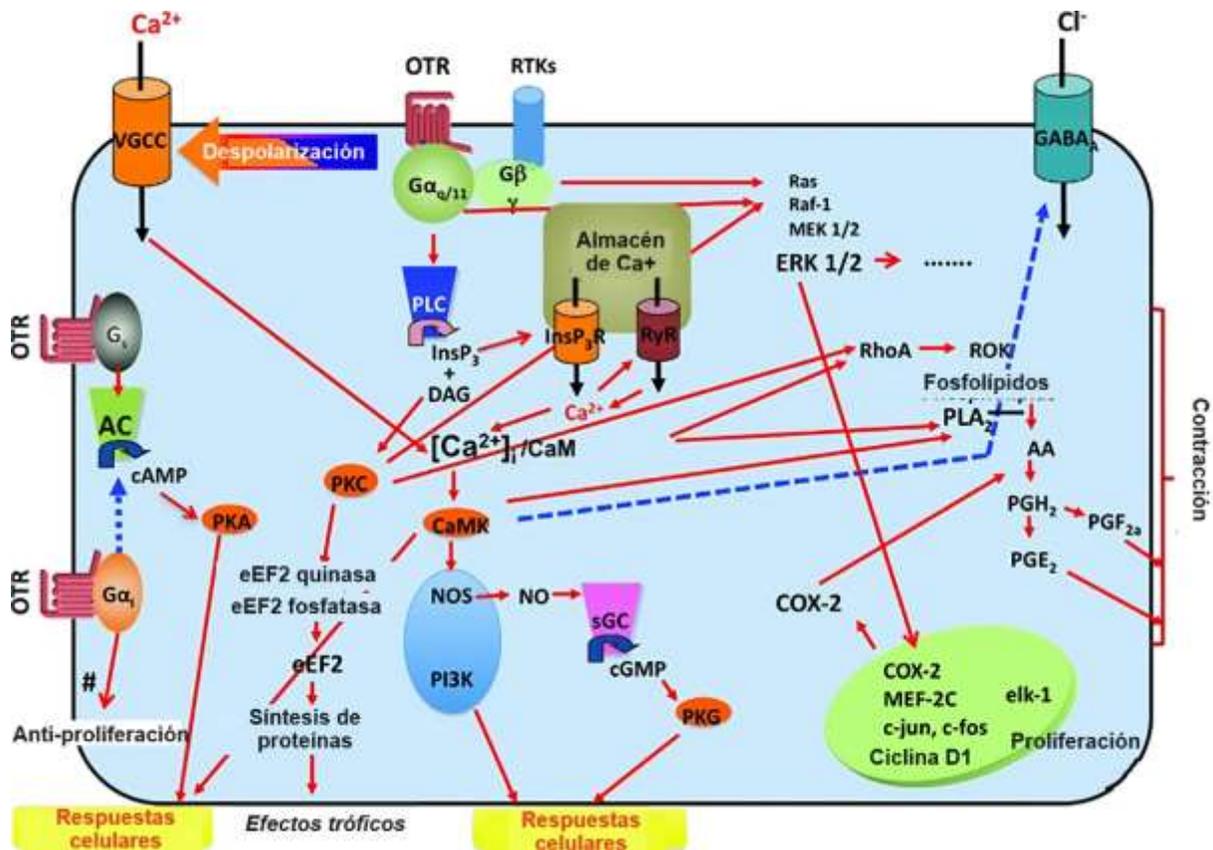


Figura 5. Mecanismo de acción de OT (Viero et al., 2010).

Antecedentes

Bases fisiológicas del intestino delgado

El intestino delgado es un tubo contorneado de aproximadamente 2.5 cm de diámetro, que en una persona viva puede llegar a medir 3 metros de largo, sin embargo, al momento de la defunción, por la relajación del músculo liso, se alarga a unos 6 metros. Comienza en el extremo distal del estómago, en el esfínter pilórico y termina en la válvula ileocecal, en donde se une al colon. (Hull, 2011) Se divide en tres regiones: duodeno, yeyuno e íleon. La pared del intestino delgado está compuesta por cuatro capas que tienen diferentes tipos celulares (Figura 6) (Tortora & Derrickson, 2018). La mucosa es la capa que está en contacto directo con el lumen del tubo, y se subdivide en tres capas (Gal Iglesias et al., 2007).

- Superficie de la mucosa: Contiene dos tipos de células epiteliales:
 - Células absortivas: Digieren y absorben nutrientes del quimo.
 - Células caliciformes: Secretan moco.
- Células epiteliales: Se extienden en dirección inferior desde la superficie de la mucosa para formar glándulas intestinales (Criptas de Lieberkühn), que secretan jugo intestinal. Además de las células absortivas y caliciformes, contiene:
 - Células de Paneth: Secretan lizosima (bactericida), además, tienen capacidad de fagocitosis.
 - Células enteroendócrinas:
 - Células S: Secreta secretina
 - Células CCK: Secreta colecistocinina
 - Células K: Secreta péptido insulínotropo dependiente de glucosa (GIP)
- Lámina propia de la mucosa: Contiene tejido linfoide abundante, incluyendo nódulos linfoides solitarios y agregados (Placas de Peyer)
- Pliegues circulares, vellosidades y microvellosidades

(Tortora & Derrickson, 2018)

La tercera capa es denominada muscularis mucosae, constituye la pared externa de la pared del tracto gastrointestinal y consiste en dos capas de musculatura lisa, interna circular y externa longitudinal (Gal Iglesias et al., 2007).

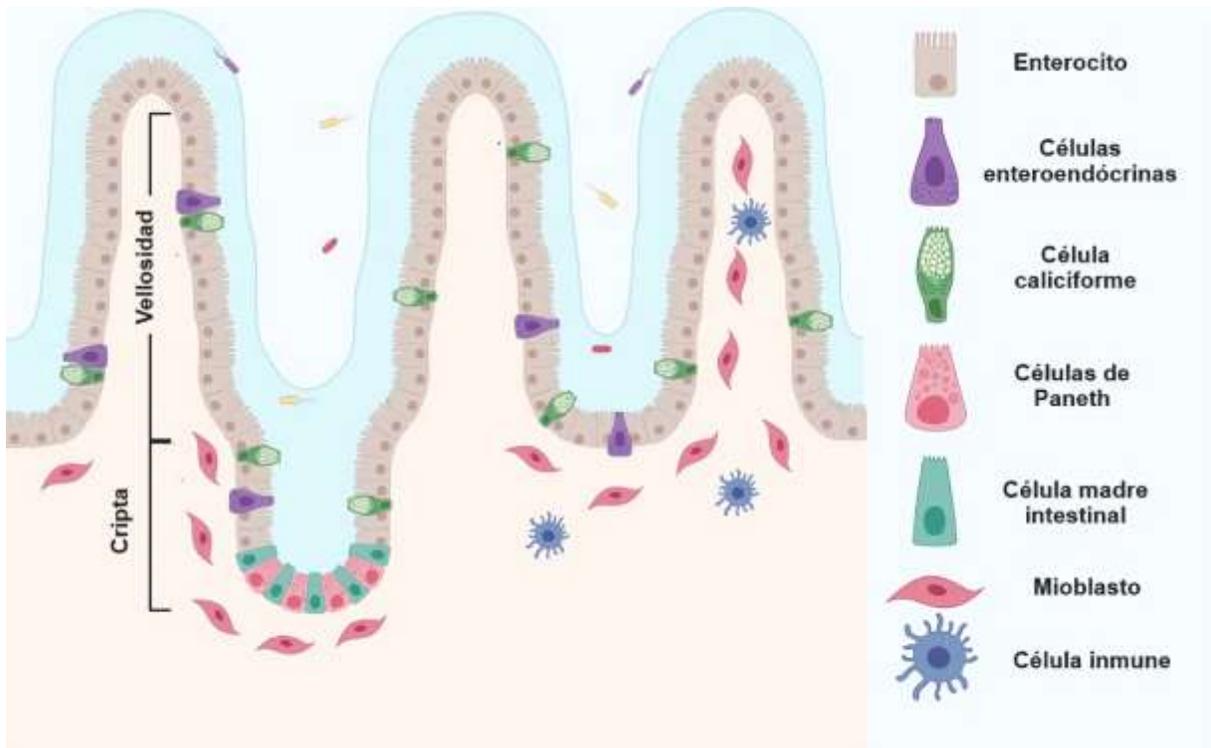


Figura 6. Morfología del intestino delgado, adaptación de (Antfolk & Jensen, 2020).

En el intestino delgado, la estructura muscular desempeña un papel crucial, siendo responsable de mantener la forma adecuada de la capa mucosa, distribuir los alimentos digeridos, impulsar y mezclar su contenido mediante movimientos de peristalsis. Debido a esto, esta región presenta una capa muscular más gruesa en comparación con otros segmentos del sistema digestivo. La contracción muscular incrementa la altura de los pliegues de la mucosa, lo que facilita la absorción de nutrientes. La capa muscular longitudinal del intestino es más delgada que la capa circular y se va haciendo aún más delgada a medida que se aproxima al colon. A diferencia de la capa longitudinal, la capa circular tiene una disposición en forma de anillos que se superponen, y es responsable de iniciar los movimientos peristálticos. En la parte final del intestino delgado, la capa muscular se engrosa para formar el esfínter ileosecal, el cual permanece en gran medida contraído. (Díaz-Rubio & Díaz-Rubio, 2007).

Su morfología establece una barrera semipermeable entre el medio interno y externo, mediante uniones intercelulares. Esta función de barrera intestinal es un sistema de defensa compuesto por elementos extracelulares como celulares que actúan de forma coordinada para impedir el paso de antígenos, toxinas u otros productos nocivos, manteniendo el correcto desarrollo del sistema inmune o tolerancia hacia antígenos de la dieta, por lo tanto, la alteración de sus mecanismos favorece el desarrollo de una respuesta inmune exagerada o desarrollo de enfermedades inflamatorias en el tracto digestivo. (Salvo-Romero et al., 2015). Las células intestinales están unidas entre sí por complejos de unión intercelulares, que miden de 0.1 a 0.6 μm y actúan como barrera de difusión. (Herrera Ruiz et al., 2012) Se clasifican como uniones estrechas, que permiten un cierre hermético entre las células que forman el epitelio, uniones adherentes, uniones mecánicas resistentes, que constan de desmosomas y hemidesmosomas, y las uniones comunicantes o “gap”, que actúan como un medio de comunicación entre las células vecinas. (Alberts, 2011) Las moléculas en el lumen intestinal pueden pasar a través del epitelio por la vía transcelular, en donde pasan iones y solutos que atraviesan el epitelio utilizando canales, transportadores y bombas o ATPasas, o por la vía paracelular, en la que el movimiento transepitelial se produce por el espacio intercelular entre las células vecinas. (Groschwitz & Hogan, 2009)

Las uniones estrechas o “tight junction” desempeñan una función clave en la vía paracelular, ya que mantienen el transporte unidireccional a través de los epitelios sellando las células vecinas de manera que las moléculas hidrosolubles no pueden pasar con facilidad por la vía paracelular, aunado a mantener la polaridad de las células epiteliales al evitar el movimiento de las proteínas entre las membranas apical y basolateral. (Arenas Bazán, 2017)

El intestino delgado en personas sanas permite la absorción de agua, iones, vitaminas, azúcares simples, grasas simples y aminoácidos, pero su impermeabilidad es imperfecta, ya que péptidos pequeños y aminoácidos pueden cruzar fácilmente la barrera intestinal, en menor proporción, también lo hacen los péptidos más grandes y algunas proteínas atraviesan la mucosa, aunque en menor cantidad (Seignalet et al.,

2014). Estudios estiman que aproximadamente 1/1,000 de las proteínas intactas llegan a la sangre portal. Dicha permeabilidad intestinal está regulada por péptidos sintetizados tanto por el sistema nervioso como por células endócrinas del tracto digestivo y páncreas, sin embargo en condiciones patológicas, la permeabilidad puede aumentar debido a la adherencia de microorganismos a la mucosa intestinal, medicamentos, disminución de prostaglandinas o efectos en las mitocondrias, lo cual puede llevar a la muerte celular y atrofia de las vellosidades intestinales, aunado a esto, la fijación de interferón gamma o interleucina 4 (moléculas presentes en procesos inflamatorios), a receptores en los enterocitos puede alterar la resistencia eléctrica temporalmente (Seignalet et al., 2014). Otros procesos patológicos como la enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn, intolerancias alimentarias o infecciones intestinales cursan con problemas de permeabilidad en el intestino, y esto surge por debilitamiento de las uniones oclusivas y/o por degradación de la capa de mucosa que protege el tracto gastrointestinal. El contenido luminal del intestino afecta la integridad y correcto funcionamiento de la barrera epitelial in vivo e in vitro (Abecia & McCartney, 2009). Por otro lado, de manera innata, el tracto gastrointestinal del recién nacido es inmaduro, con una alta permeabilidad (Sabillón & Abdu, 1997). Se define que un epitelio es permeable cuando presenta un voltaje transepitelial bajo y baja resistencia, y aquellos con un voltaje transepitelial alto y resistencia alta se consideran impermeables (Feldman et al., 2021). La permeabilidad intestinal normal se traduce por una resistencia eléctrica transepitelial superior a 1.000 ohms por centímetro cuadrado (Seignalet et al., 2014).

La resistencia eléctrica transepitelial (TEER) es definida como la resistencia que ejerce el tejido al paso de iones a través de la membrana celular, para ello se pueden utilizar sustancias inertes que traspasan la mucosa sin transformación ni ayuda (Noceto Turk et al., 2018).

Las alteraciones de la unión estrecha se indican fácilmente mediante los cambios de TEER, sin embargo, para estudiar la permeabilidad intestinal y la integridad de los tejidos o los modelos de cultivo celular, es necesario aplicar mediciones de marcadores

de permeabilidad de diferentes tamaños. Dependiendo del tamaño, los marcadores se utilizan como sondas paracelulares o transcelulares en estudios *in vitro* y *ex vivo*. Las bacterias pueden utilizarse no sólo como marcadores de permeabilidad, sino también para estudiar las interacciones con el epitelio (Schoultz & Keita, 2020).

Las uniones estrechas de las vellosidades tienen una resistencia mayor que las de las criptas. Estructuras compuestas por proteínas de membrana e intracelulares, definen las propiedades físicas y biológicas del espacio paracelular y la comunicación entre células contiguas. La unión estrecha bicelular (entre dos células), llamada zona ocluyente (ZO), incluye proteínas de membrana como claudinas, ocludinas, moléculas de adhesión, tricelulinas, entre otras. Las claudinas son una familia de 26 proteínas transmembrana que forman poros y determinan la selectividad de carga, la ausencia de éstas debilita la resistencia transepitelial. La mayoría de las proteínas transmembrana interactúa con proteínas de andamiaje asociadas a membrana o citosólicas, y las proteínas de soporte unen las proteínas de membrana a una serie de proteínas cinasas, fosfatasas, y elementos del citoesqueleto (actina y miosina), permitiendo una red compleja que regula la permeabilidad paracelular. El conocimiento actual sobre el movimiento de iones, solutos y líquido a través del epitelio proceden de varios estudios *in vitro* (modelos reduccionistas de líneas celulares o láminas epiteliales aisladas) y métodos complejos (modelos animales, técnica de perfusión de triple luz *in vivo*, organoides o monocapas epiteliales). En dichos modelos, se enfatiza el movimiento transepitelial de iones (sodio, principalmente) desde la mucosa a la serosa (conduciendo la absorción de líquido), cloro en dirección contraria conduce a la secreción de líquido (Feldman et al., 2021).

El intestino delgado presenta además dos patrones motores fundamentales que apoyan estos mecanismos de protección, siendo el primero el peristaltismo, que provoca la propulsión para mover el contenido en dirección anal, y la segmentación, que provoca la mezcla para favorecer la absorción de nutrientes y agua (Huizinga et al., 2014). Asimismo, existen moduladores de los movimientos peristálticos como el óxido nítrico (NO), un neurotransmisor producido en respuesta de la estimulación

nerviosa causando relajación del músculo liso del tracto digestivo (Takahashi, 2003). Sin embargo, existen otros estudios que nos hacen cuestionar el papel del óxido nítrico en el tejido intestinal, puesto que la inhibición de la síntesis de óxido nítrico elimina las contracciones rítmicas regulares en el intestino delgado de rata *in vivo* e *in vitro*; por ejemplo, en el duodeno (*in vitro*) y yeyuno (*in vivo*) de rata, los grupos de contracciones aumentan en amplitud y frecuencia tras el inhibidor de la NOS, cambiando la naturaleza de las contracciones, haciéndolas más frecuentes, irregulares y propulsivas (Bogeski et al., 2005); (Ferens et al., 2005). Asimismo, en el intestino delgado, los nervios nitrérgicos pueden generar NO, como respuesta a las condiciones de transporte, facilitado por su conectividad a través de uniones gap, así como regula el acoplamiento de las uniones entre neuronas centrales (Nagy et al., 2014); (Parsons & Huizinga, 2021). Este mecanismo de control por el NO es similar a lo observado en otros tejidos como los vasos sanguíneos, que dependen de una producción constante de este por parte de las células endoteliales para mantener el ritmo de la contracción-relajación (Matchkov V. V., 2010), aunque en otros estudios se determina que la administración de NO (10^{-10} a 3×10^{-6} M) en el músculo longitudinal del intestino, provoca contracción inmediata (Barthó & Lefebvre, 1994).

Efectos de prolactina en el aparato digestivo

Anteriormente, se ha investigado en conejos el efecto de la PRL en la secreción de leche y la permeabilidad del epitelio mamario, determinándose que el tratamiento con PRL aumentó la concentración de lactosa y el potasio (K) en la leche, mientras que disminuyó los niveles de sodio (Na) y cloro (Cl) en la etapa avanzada de la lactancia. De esta manera, se sugiere que la PRL afecta el transporte paracelular de iones y pequeñas moléculas a través del epitelio mamario, siendo este mecanismo responsable de los cambios en la composición de la fase acuosa de la leche (Linzell et al., 1975).

Durante el embarazo, la masa de los islotes del páncreas aumenta y la secreción de insulina se vuelve cada vez más sensible a la estimulación de la glucosa, por ende, se

ha llegado a la hipótesis de que los receptores PRL de las células β del páncreas tienen un papel central en la adaptación de los islotes al embarazo. C. Huang et al., 2009 añade validez a este modelo al demostrar que una consecuencia de la deficiencia de receptores de PRL es que conduce a una condición de diabetes gestacional en la que los islotes no consiguen adaptarse a la mayor necesidad de insulina (Sorenson & Brelje, 2009). En islotes de ratas neonatales, la PRL homóloga de rata (rPRL) aumentó la secreción de insulina, en conclusión, este estudio demuestra que rPRL tiene efectos directos sobre el crecimiento de islotes de ratas adultas y neonatales in vitro (Brelje & Sorenson, 1991). Se ha determinado que hay receptores para PRL en el hígado, bazo y páncreas, además, se ha demostrado que causa regeneración hepática después de la hepatectomía parcial; produce crecimiento del intestino delgado y acelera el transporte de bilis y taurocolatos durante la lactancia; aunado a la modulación de la proliferación de células beta del páncreas (Velásquez & Fernández-Michelena, 2004). Para evaluar el papel regulador de la PRL en la función secretora de bilis en el embarazo y período postparto de ratas, en un estudio las ratas fueron inyectadas con bromocriptina para bloquear la secreción de PRL, en el que, en un conjunto separado de experimentos, a las ratas ovariectomizadas a las que se les implantaron minibombas osmóticas que contenían concentraciones variables de PRL ovina (oPRL) en dosis de 100, 250 y 500 microgramos/día aumentó significativamente el flujo biliar máximo y la tasa máxima de secreción de ácidos biliares (SRm) de forma dependiente de la dosis, se sugiere que la actividad lactogénica es un potente regulador de la función de los islotes, se apoya la hipótesis de que los lactógenos, ya sea como PRL o como lactógeno placentario, son reguladores de la función de los islotes durante el embarazo (Y. Liu et al., 1992).

Las acciones intestinales de la PRL y OT han sido poco descritas, sin embargo, se sabe que la PRL estimula la absorción intestinal de calcio, aumenta el recambio óseo y reduce la excreción renal de calcio. El intestino delgado, que es el único órgano que aporta calcio nuevo al organismo, expresa intensamente ARNm y proteínas de receptores de PRL, especialmente en el duodeno y el yeyuno, lo que indica que el intestino es un tejido diana de la PRL. En las ratas hembra, la exposición aguda y a

largo plazo a niveles elevados de PRL aumenta significativamente el transporte transcelular activo, el inducido por el arrastre de disolventes y el pasivo de calcio en el intestino delgado. Estos efectos se observan no sólo en animales preñados y lactantes, sino también en animales no preñados y no lactantes. Los animales jóvenes son más sensibles a la PRL que los adultos. Las señales de transducción a nivel celular y molecular de la PRL en los enterocitos son en gran medida desconocidas y aún requieren investigación (Charoenphandhu & Krishnamra, 2007). En la lactancia, la PRL no sólo es una hormona importante para la lactogénesis, sino también para la regulación del metabolismo general del calcio en el embarazo y la lactancia, en parte mediante la estimulación de la reabsorción renal de calcio y la absorción transcelular de calcio en el intestino delgado. (Nakkrasae et al., 2010). Tres canales de calcio, TRPV5, TRPV6 y Cav1.3, se expresaron conjuntamente en la membrana apical de células epiteliales duodenales, yeyunales y colónicas. (Hoenderop et al., 2001); (Peng et al., 2000).

Se examinó la implicación de TRPV5 en la absorción de calcio estimulada por la PRL en monocapas epiteliales intestinales de línea celular caco-2, humana, por su facilidad de ser manipuladas genéticamente y características del intestino delgado como la presencia de borde en cepillo, expresión de enzimas como sucrasa-isomaltasa y expresión de transportadores celulares de calcio, así como la expresión de receptores de PRL funcionales, para proporcionar evidencia de que Cav1.3 era el único canal de calcio que mediaba el transporte de calcio estimulado por PRL. Anteriormente, (Charoenphandhu et al., 2006), demostraron que la PRL mejoraba el transporte transcelular de calcio al aumentar la captación de calcio apical (borde en cepillo) (Nakkrasae et al., 2010) Durante la última década, se ha postulado que el Familia de canales del potencial receptor transitorio (TRP) Subgrupo TRPV ("V" de vanilloide) 6 (TRPV6) es el principal canal de calcio para la entrada apical de calcio en el intestino delgado, mientras que se pensaba que el Familia de canales del potencial receptor transitorio (TRP) Subgrupo TRPV ("V" de vanilloide) (TRPV5), cuya expresión es mucho menor que la del TRPV6 tanto en el duodeno (Van Cromphaut et al., 2001) como en las células Caco-2, desempeñaba un papel menor. No obstante, los TRPV5

y TRPV6 intestinales podrían ser importantes para aumentar el transporte transcelular de calcio en determinadas condiciones estimulantes, como la acidosis metabólica crónica y la exposición prolongada a estrógenos o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Además, se sugiere que la permeabilidad paracelular aumentada por PRL no tiene relación con las funciones de estos tres canales de calcio, aunque el reordenamiento citoesquelético perijuncional, un paso inicial para aumentar la permeabilidad paracelular, puede estar controlado, en parte, por la entrada de calcio apical (Nakkrasae et al., 2010). Posterior a esto, se demostró que la fosforilación de serina de la proteína de la unión estrecha claudina-15 era esencial para el transporte paracelular de calcio potenciado por PRL en la monocapa Caco-2 (Charoenphandhu et al., 2009). Los cambios en la expresión de claudina en las células absorbentes intestinales estaban estrechamente relacionados con el aumento del transporte paracelular de calcio, por lo que es posible que la PRL actúe en el intestino mediando la permeabilidad celular por la regulación de las proteínas de uniones estrechas para la entrada del calcio por la vía paracelular. (Jantarajit et al., 2007). Se ha determinado que la PRL también aumentó el movimiento paracelular de calcio a través del epitelio duodenal de ratas macho de forma dependiente de PI3K. Ningún cambio en el TER duodenal sugirió que PRL no amplió simplemente las uniones estrechas para aumentar el movimiento paracelular del ion. Más bien, la sobreexpresión o fosforilación de algunas proteínas de la familia claudina (por ejemplo, claudina-2, -12 y -15) puede aumentar selectivamente la permeabilidad de las uniones estrechas intestinales al calcio sin ampliarlas (Dorkkam et al., 2013). Dorkkam et al., (2013) Se llevó a cabo un estudio en ratas macho para investigar los efectos de la PRL sobre el transporte transepitelial de calcio en el duodeno, segmento intestinal reconocido como el sitio más eficiente para dicho transporte tanto celular como paracelular en comparación con otros segmentos intestinales, empleando la técnica de cámara de Ussing en tejidos duodenales ex vivo, la cual utiliza una lámina plana de mucosa montada entre dos semicámaras llenas de buffer oxigenado continuamente. Esta técnica permite estudios detallados sobre el transporte de iones, la absorción de fármacos, la absorción de proteínas y diversos procesos fisiopatológicos en modelos animales y humanos, y proporciona un sistema avanzado

que facilita la realización de estudios exhaustivos sobre la barrera intestinal, incluyendo el uso de inhibidores y estimuladores (Schoultz & Keita, 2020), y como resultado en la exposición de PRL en la cámara de Ussing, la hormona potenció el transporte transcelular y paracelular duodenal de Ca^{2+} en ratas macho, con la dosis de 200 ng/mL, alteró el TER duodenal. El transporte transcelular de Ca^{2+} potenciado por la PRL depende del canal de Ca^{2+} tipo L. Tanto la Ca^{2+} -ATPasa de la membrana plasmática (PMCA) y el intercambiador $\text{NCX1 Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, dos proteínas que regulan las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} mediando el eflujo de Ca^{2+} en las células epiteliales absorbentes (Magyar et al., 2002), en el estudio, fueron esenciales para el eflujo basolateral de Ca^{2+} en el duodeno. JAK2, MEK, PI3K y Src mediaron la señalización de PRL en las células duodenales de ratas macho. De hecho, se ha informado de que estas quinasas median la señalización de PRL en otros tipos celulares, como hepatocitos, células endometriales, células mamarias, células Caco-2. No obstante, se requieren más investigaciones para demostrar en profundidad la transducción de señales de PRL en las células epiteliales duodenales (Dorkkam et al., 2013). La PRL es responsable de la adaptación de la mucosa intestinal, posiblemente para aumentar la superficie de absorción, y mejorar la expresión de los transportadores de calcio, que juntos podrían aumentar la absorción de calcio. (Wongdee et al., 2016) realizaron experimentos en ratas lactantes, con el objetivo de visualizar cambios en la mucosa intestinal, la expresión de ARNm del transportador de calcio duodenal y la expresión de proteína FGF-23 en el intestino de ratas lactantes, administrándose bromocriptina, un potente inhibidor de la secreción pituitaria de PRL, para determinar los efectos de esta. En concreto, la lactancia provocó un aumento de la altura de las vellosidades duodenal, yeyunal e ileal, así como de la profundidad de las criptas cecales, dichos cambios fueron abolidos por la bromocriptina, confirmando la contribución de la PRL a las adaptaciones de la mucosa en ratas lactantes. La qRT-PCR reveló además la regulación al alza inducida por la PRL de las expresiones de transportadores de calcio más importantes, como TRPV6, PMCA1b y NCX1. La PRL también aumentó la expresión de FGF-23, un regulador de retroalimentación negativa

de la absorción de calcio, tanto en el duodeno como en el ciego, que eran lugares de alta tasa de absorción de calcio (Wongdee et al., 2016).

Aunado a los experimentos anteriores, en un modelo ex vivo del segmento íleon de intestino delgado aislado de cobayo, la administración de PRL provocó contracciones una vez que se administró al baño de tejidos, por lo que la PRL parece tener un efecto contráctil en el músculo liso intestinal, involucrado en las contracciones peristálticas, siendo inhibidos por la atropina, un fármaco antagonista muscarínico (anticolinérgico) que bloquea los receptores muscarínicos, los cuales son activados por la acetilcolina, causando relajación del músculo liso, disminuyendo el tono, la amplitud y la frecuencia de las contracciones peristálticas. A su vez, los efectos ejercidos por la PRL son potenciadas por la neostigmina, un inhibidor de la colinesterasa, aumentando la concentración de acetilcolina al evitar su degradación, lo que intensifica la estimulación de los receptores muscarínicos, incrementando las contracciones musculares intestinales, sugiriendo que la PRL podría actuar indirectamente sobre el músculo liso a través de la liberación de acetilcolina y la activación de los receptores muscarínicos, correlacionándose con el aumento en el tránsito intestinal en ratones, aunque estos datos no fueron publicados. Este hallazgo refuerza la información obtenida con el informe de (Adams et al., 1976), en el que observaron que la atropina bloqueaba el aumento de la actividad motora intestinal en ratones lactantes que presentaban niveles elevados de PRL (Padmanabha Pillai et al., 1981).

Efectos de la oxitocina en el aparato digestivo

Principalmente, se han realizado estudios con OT para evidenciar sus efectos. En el epitelio mamario, se ha investigado en conejos los efectos de la OT sobre la secreción de leche y la permeabilidad. Inmediatamente después de una dosis única de 100 mu (milinidades) de OT no se evidenciaron efectos significativos en la composición de la leche, pero después de 1 u. (unidad) de OT, [Na] y [Cl] presentes en la leche aumentaron su concentración significativamente. Veinticuatro horas después de 1 u. (unidad) de OT, [Na] y [Cl] de la leche disminuyeron, mientras que [K], lactosa, grasa

y la concentración proteica aumentaron. Durante una infusión intravenosa de OT, [Na] y [Cl] de la leche aumentaron, mientras que la [K] y la [lactosa] disminuyeron. También aumentó el paso de sacarosa, Na y Cl de la sangre a la leche. Estos efectos de la OT tienen relación con la permeabilidad del epitelio mamario y las vías de circulación de los iones (Linzell et al., 1975).

Recientemente se ha demostrado la expresión de OT y OTR en el intestino, (Okumura et al., 2022). OTR se concentra en las uniones adherentes apicales de los enterocitos en la unión cripta-vellosidad del duodeno de rata (Welch et al., 2009) y otros órganos periféricos como en la mucosa y el músculo liso del cuerpo del estómago, el duodeno, el yeyuno y el íleon entre las ratas lactantes y postdestete (W.-J. Huang et al., 2008). Estos resultados sugieren que el ARNm de la OTR es detectable en el tracto gastrointestinal de las ratas y que la expresión de la proteína OTR en el tracto gastrointestinal de las ratas disminuye durante la lactancia temprana, denotando que los OTR entéricos no son exclusivamente neuronales, ya que los enterocitos expresan este receptor y se concentran en los complejos de unión, entre los límites entre cripta y vellosidades, con la posibilidad de que regulen neuronalmente la permeabilidad intestinal, así como la modulación de la proliferación de las células de la cripta (Welch et al., 2009). En un estudio, se observó que la permeabilidad intestinal macromolecular en ratones knockout (OTRKO) para los receptores de OT era mayor que en ratones de tipo silvestre (WT). En ratones WT, se administró OT exógena (100 µg/kg) por vía subcutánea para evaluar su efecto en el tiempo total de tránsito gastrointestinal (GITT), el vaciado gástrico, el tránsito intestinal delgado y la motilidad colónica. En ratones OTRKO C57BL/6, se extrajo y montó el colon completo en un experimento separado para obtener imágenes de los patrones motores espontáneos y crear mapas espaciotemporales. El colon vacío se canuló en ambos extremos y se colocó en un baño de órganos horizontal, superfundido tanto con solución de Krebs oxigenada a 35°C en el compartimento luminal como en el seroso. Se capturaron imágenes de la actividad contráctil utilizando una cámara LoGITTech Quickcam pro colocada a 7-8 cm sobre el intestino. Después de un equilibrio inicial de 30 minutos, se grabaron cuatro videos de 15 minutos cada uno. Estos mapas espaciotemporales se utilizaron para

medir la frecuencia de las contracciones migratorias motoras cecales (CMMC), definidas como constricciones que se propagaron al menos el 50% de la longitud de las preparaciones, así como para evaluar la velocidad y longitud de propagación de estas contracciones. Los resultados refieren que la OT (5×10^{-7} M) disminuyó significativamente tanto la frecuencia de los complejos motores migratorios colónicos (CMMCs), como la velocidad de propagación, que son parámetros dependientes del sistema nervioso entérico (ENS). La OT no afectó significativamente la longitud contráctil, lo que puede significar que no ejerce un efecto importante sobre el músculo liso. OT, además, no logró alterar la frecuencia CMMC o la velocidad de propagación en el colon aislado de ratones OTRKO. Por lo tanto, la acción de la OT en el colon aislado está mediada por la OTR (Welch et al., 2014). En el mismo estudio, se administró isotiocianato de fluoresceína (FITC)-dextrano por vía oral y se midió su fluorescencia en sangre después de 2 y 5 horas. Se evaluó la permeabilidad en dos momentos distintos después de la ingestión de FITC-dextrano para detectar posibles cambios temporales en la permeabilidad in vivo. Se observó que la fluorescencia FITC fue significativamente mayor en los ratones OTRKO que en los ratones WT tanto a las 2 como a las 5 horas después de la administración de FITC-dextrano. En resumen, se concluye que la permeabilidad macromolecular es más alta en los ratones OTRKO en comparación con sus contrapartes WT, lo que sugiere que los complejos de unión entre los enterocitos, que regulan la translocación paracelular de macromoléculas, son menos efectivos en los animales OTRKO que en los WT. Además, se realizó una administración intravenosa de peroxidasa de rábano (HRP), que se acumuló en el espacio intercelular y se detuvo en las uniones estrechas apicales entre enterocitos tanto en el intestino delgado como en el grueso de ratones WT y OTRKO. La longitud del espacio intercelular donde se retuvo la HRP fue sistemáticamente mayor en los ratones OTRKO en comparación con los WT, lo que sugiere que la OT actúa directamente sobre el intestino delgado y el colon para influir en funciones gastrointestinales, incluida la permeabilidad intestinal. (Welch et al., 2014).

Una de las funciones de la OT en el colon es la protección de lesiones oxidativas inducidas por ácido acético, y en combinación con la secretina (S), una hormona

duodenal liberada en respuesta a la acidificación de la luz intestinal (Welch et al., 2010), evitan la inflamación intestinal evitando la transmisión de señales provocadas por la misma a los núcleos paraventriculares, amígdala y corteza piriforme, (Welch et al., 2014) ya que la S puede activar los nervios sensoriales vagales, y además, se sintetiza en el cerebro y puede activar las neuronas hipotalámicas. (Welch et al., 2010). En un estudio se indujo una inflamación intestinal crónica mediante la administración rectal de ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico (TNBS) y se determinaron los efectos de la vagotomía subdiafragmática y de las combinaciones de S y OT sobre la activación asociada a la inflamación de las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVH), la amígdala central (CeA), la amígdala basolateral (BLA) y el córtex piriforme (PIR). Las observaciones sugieren que las señales procedentes del intestino inflamado por TNBS se transmiten a PVH, CeA, BLA y PIR independientemente del nervio vago; esta señalización se antagoniza mediante la administración periférica, pero no central, de S/OT, por tanto, reduce tanto las manifestaciones de inflamación en el intestino como la excitación de las neuronas centrales (Welch et al., 2010). La eficacia de la combinación S/OT para inhibir la activación de las neuronas cerebrales asociadas a la colitis parece estar relacionada con los efectos periféricos de estas hormonas (Welch et al., 2014), asimismo, se evalúa la relación entre la OT y la colecistoquinina (CCK), una hormona sintetizada en las células endocrinas de la mucosa del intestino delgado que se libera en la sangre tras la ingestión de alimentos grasos y ricos en proteínas, actuando sobre los nervios vagales aferentes, las neuronas del plexo mientérico y directamente sobre las células musculares intestinales, en la que su estrecha relación data de la evidencia de que los péptidos CCK también se sintetizan en las neuronas hipotalámicas oxitocinérgicas. La CCK administrada sistémicamente y los alimentos estimulan la secreción hipofisaria de OT en la rata a través de las neuronas vagales aferentes. Tanto las neuronas parvocelulares que se proyectan al complejo vagal dorsal como las magnocelulares que se proyectan a la hipófisis secretan OT en respuesta a la CCK, aunado a que la liberación de OT tras una comida es secundaria a la hipercolecistocininemia (Sjölund et al., 2002). En otro estudio se evaluó el efecto de la OT en la motilidad duodenal en ratas hembras, en el que el efecto inhibitor de

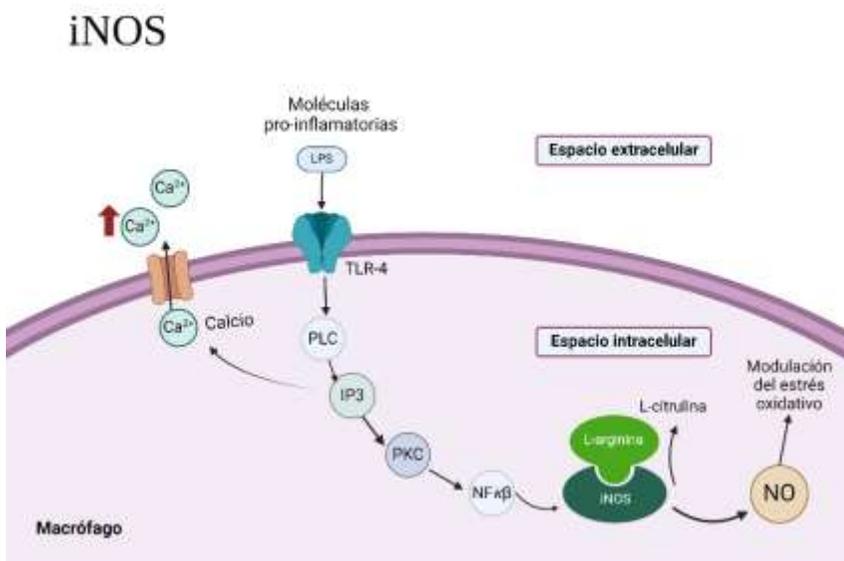
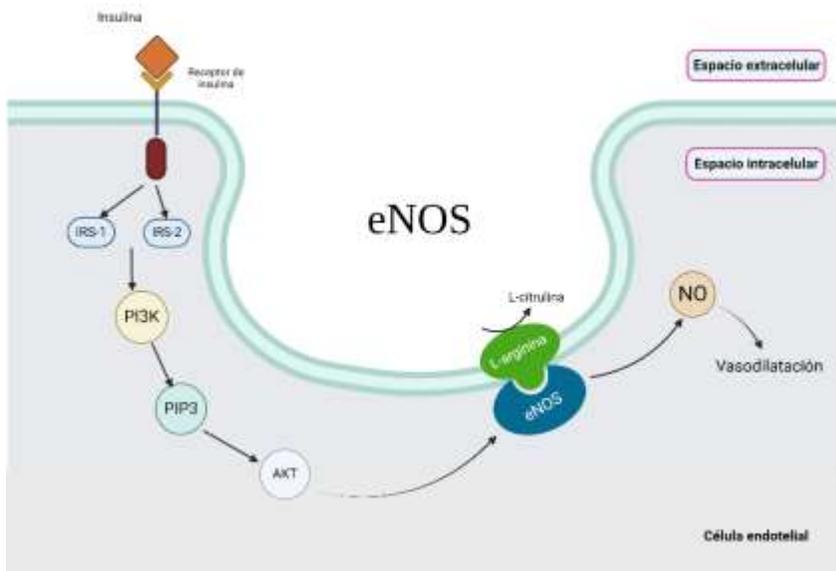
los altos niveles de OT sobre la motilidad intestinal se puede explicar por el alto nivel de colecistoquinina (CCK) en el duodeno, aunado a que estos efectos también pueden atribuirse al efecto de la OT sobre los adrenoceptores β -2 coexpresados con OTR en el duodeno y dicha coexpresión de OTR puede estar acoplada a una nueva vía de adrenoceptores β -2 que produce este efecto inhibitor, ya que las dosis bajas de OT aumentan la motilidad duodenal, pudiendo explicarse esto por un mecanismo indirecto (Abood & Ahmed, 2012). La regulación de la liberación de OT en los seres humanos y su efecto sobre la función intestinal, así como sus interacciones con otras hormonas deben evaluarse más a fondo (Sjölund et al., 2002).

El papel del óxido nítrico en la función intestinal

El NO es un radical libre producido por la activación de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), se expresa constitutivamente en las células endoteliales y endocárdicas, promoviendo la angiogénesis y la vasodilatación. (González et al., 2008). El NO es una molécula que tiene diversas funciones, como ser un segundo mensajero intracelular e intercelular, producido desde la activación de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS). Existen tres isoformas de NOS, dos de éstas isoformas participan en respuestas fisiológicas normales, por ejemplo, NOS neuronal (nNOS) está localizado en las neuronas (Takahashi, 2003), cuya función se ha demostrado que interviene en la regulación central de la presión arterial mediante la inducción de hipertensión sistémica al bloquear la actividad de la nNOS en la médula y el hipotálamo, asimismo, los efectos de la nNOS en la regulación del tono vascular son independientes de sus efectos en el SNC. La producción de NO por nervios que contienen nNOS (nervios nitrérgicos) estimula la guanilil ciclasa sensible al NO y disminuye el tono de los músculos lisos inervados en la periferia, incluidos los vasos sanguíneos, además, en la fosforilación de la nNOS participan las proteínas cinasas dependientes de Ca^{2+} /calmodulina (CaM), la proteína cinasa dependiente de AMP cíclico (PKA), la proteína cinasa dependiente de GMPc y la proteína cinasa C (PKC), en cambio, la relajación de las células musculares lisas está mediada por el GMP

cíclico (Pourbagher-Shahri et al., 2021) (Figura 7). En la periferia, muchos tejidos musculares lisos están inervados por nervios nitrérgicos, es decir, nervios que contienen nNOS y generan y liberan NO, por ende, algunas alteraciones del tono del músculo liso del tracto gastrointestinal como la enfermedad por reflujo gastroesofágico, pueden estar relacionadas con una sobreproducción de NO por la nNOS en los nervios nitrérgicos periféricos (Forstermann & Sessa, 2012). NOS endotelial (eNOS) está localizado en el endotelio (Takahashi, 2003). La eNOS, principal generadora de NO en el endotelio vascular, está presente en diversos tipos celulares como cardiomiocitos, plaquetas, neuronas cerebrales específicas, sincitiotrofoblastos placentarios y células epiteliales tubulares renales. Su actividad es regulada principalmente por la calmodulina activada por Ca^{2+} , que aumenta la producción de NO al incrementarse el Ca^{2+} intracelular. Además, la proteína de choque térmico 90 (hsp90) actúa como modulador alostérico, favoreciendo la actividad de la eNOS. La caveolina-1, por otro lado, actúa como inhibidor tónico de la eNOS localizada en caveolas, y su ausencia produce mayor relajación endotelial en ratones. La eNOS puede ser activada por estrés de cizallamiento de fluidos, independientemente del aumento de Ca^{2+} intracelular, mediante fosforilación en residuos de serina (Ser), treonina (Thr) y tirosina (Tyr) (Figura 7). Durante este proceso de regulación por fosforilación, los cambios en la actividad de las fosfatasa también pueden influir significativamente en la generación de óxido nítrico (Pourbagher-Shahri et al., 2021). NOS inducible (iNOS) normalmente no está presente en tejidos con en condiciones fisiológicas normales, éste es inducido durante los procesos inflamatorios, por ejemplo, los macrófagos lo producen en procesos inflamatorios (Takahashi, 2003) (Figura 7). Una vez expresada, la iNOS está constantemente activa y no está regulada por las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} , por último, la producción excesiva de NO por la iNOS desempeña un papel crucial en el shock séptico (Forstermann & Sessa, 2012). Se ha demostrado que el NO producido por macrófagos murinos es responsable de las alteraciones del ciclo de Krebs y de la acumulación de citrato asociada a la polarización, además, los macrófagos desvían el piruvato de la piruvato deshidrogenasa (PDH) de forma dependiente del NO e independiente del factor inducible por hipoxia 1 α (Hif1 α),

promoviendo así la anaplerosis basada en glutamina, en el que la acumulación de NO conduce a la supresión y pérdida de los complejos mitocondriales de la cadena de transporte de electrones (ETC). Se revela que la reconfiguración metabólica de los macrófagos, in vitro e in vivo, depende de que el NO se dirija a vías específicas, lo que resulta en una menor producción de mediadores inflamatorios (Palmieri et al., 2020). El NO tiene un impacto funcional en la acumulación de metabolitos característicos de la polarización de macrófagos M1, como el citrato, el succinato y el itaconato, elevándose también la captación de glucosa (Pourbagher-Shahri et al., 2021).



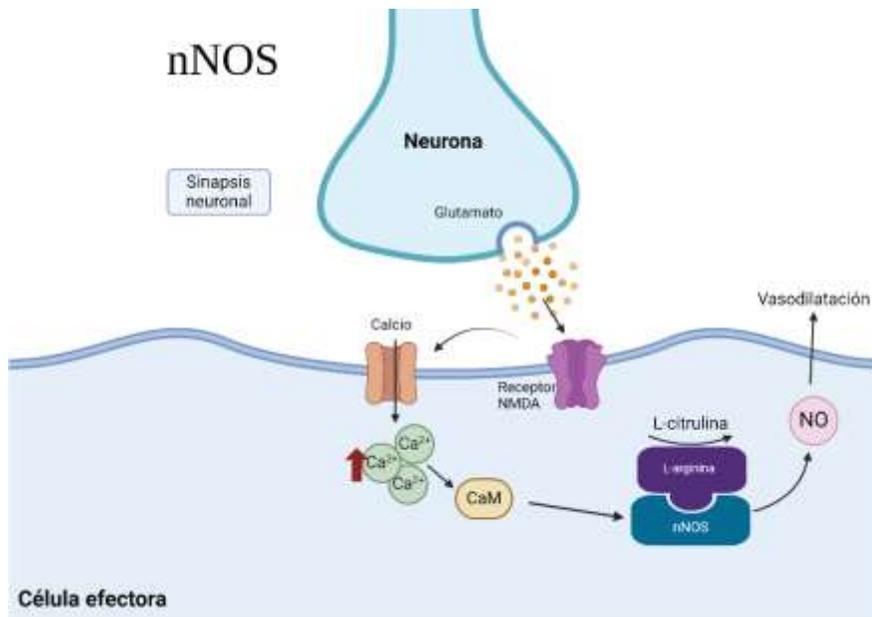


Figura 7. Mecanismos de acción de las NOS. (Boucher et al., 2014; Dimmeler et al., 1999; Hubbard & Miller, 2007; Montagnani et al., 2001)

En el tracto gastrointestinal se ha demostrado que el NO es un neurotransmisor inhibitorio no adrenérgico, no colinérgico (NANC), que atraviesa fácilmente las membranas celulares y es producido en respuesta de la estimulación nerviosa causando relajación del músculo liso del tracto digestivo (Takahashi, 2003). En el tracto gastrointestinal de una persona adulta, la mayor parte de neuronas que producen NO se encuentran en el plexo mientérico donde actúan como inhibitorias y motoneuronas (Ceregrzyn & Kuwahara, 2002). Asimismo, se ha propuesto que los nervios nitrérgicos, que secretan NO, desempeñan un papel fundamental en la dirección de las actividades peristálticas en todo el tracto gastrointestinal (Parsons & Huizinga, 2021). Por otro lado, la inhibición de la síntesis de NO provoca un aumento en la contracción sostenida o tono muscular en el músculo liso del estómago, por lo que el óxido nítrico puede actuar para relajar estas fibras musculares (Meile et al., 2006). Asimismo, en otro estudio se compara el NO y acetilcolina (ACh) como efectores de los movimientos inhibitorios y excitatorios, respectivamente, en el tono muscular del tracto gastrointestinal, para la modulación de la peristalsis in vitro, aunado a un hallazgo importante que indica que el NO ejerce una acción inhibitoria tónica sobre la motilidad espontánea en el intestino

delgado de los niños, pero no en el de los adultos (Wittmeyer et al., 2010). En otros tejidos, como las células endoteliales, el NO difunde a las células del músculo liso vascular, donde se une a la guanilato ciclasa, induciendo así la producción intracelular de guanidinemonofosfato cíclico (GMPc) con la consiguiente relajación del músculo liso (Meile et al., 2006). La NOS endotelial se encuentra en las células endoteliales vasculares y en el tracto gastrointestinal, y participa en la regulación del flujo sanguíneo (Ceregrzyn & Kuwahara, 2002). Esto se refleja en estudios como el realizado en anillos de aorta de rata, en el que se evidencia que en los anillos aórticos precontractados con norepinefrina (30 nM), la OT indujo una respuesta vascular bifásica vasorrelajación a dosis bajas (10^{-9} a 10^{-8} M) de OT con una relajación máxima de alrededor del 23% de inhibición de la vasoconstricción inducida por la norepinefrina. Sin embargo, la OT a dosis altas (10^{-7} M) evocó una respuesta de constricción demostrando que la OT puede activar diferentes vías de señalización para causar vasorrelajación o vasoconstricción. La estimulación por la OT del óxido nítrico derivado de PI3K/eNOS puede participar en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular (Xu et al., 2022).

Por otro lado, el efecto vasodilatador tónico mediado por receptores 2-adrenérgicos bloqueado por la infusión de PRL implica la liberación endotelial de NO, concordando con hallazgos anteriores, según los cuales el fragmento N-terminal 16-kDa de la PRL inhibe la actividad de la NO sintasa inducida por la acetilcolina en las células endoteliales de la vena umbilical bovina y la relajación de los vasos coronarios del corazón de rata perfundido aislado (Gonzalez et al., 2004), y que la liberación de NO del endotelio puede modular o mediar los efectos adrenérgicos en la vasculatura coronaria y periférica (Molinari et al., 2007).

Estudio de las acciones de PRL y OT en un modelo ex vivo de intestino delgado de rata

Los modelos fisiológicos ex vivo de tejidos aislados permiten evaluar el funcionamiento particular de un tejido, por ejemplo, el intestino delgado del sistema digestivo, aunado a las comunicaciones bioquímicas involucradas entre los mismos. El sistema de tejidos

aislados investiga la fisiología de intestinos, realizándose mediciones isométricas con transductores. La medición isométrica se utiliza para evaluar la contracción, manteniendo la longitud del tejido constante. El sistema de anillos aislados, acoplado a los transductores isométricos, se utiliza principalmente para monitorear la tensión en secciones de tejido y anillos de conductos. El transductor isométrico está elaborado de un material conductor que permite medir la presión, carga o par, basado en el efecto piezorresistivo, una propiedad que poseen algunos materiales para cambiar su resistencia eléctrica al someterse a determinados esfuerzos. (González et al., 2018).

De acuerdo a lo anterior descrito, la metodología para el sistema de tejidos aislados es la siguiente: “A los anillos o segmentos del tejido en estudio, se les colocarán en sus extremos dos ganchos metálicos, que se sumergirán en cámaras de doble pared con solución fisiológica oxigenada a 37 °C. Uno de los ganchos se fijará en el fondo de la cámara, mientras que el otro está conectado al transductor isométrico, acoplado a su vez a un sistema de adquisición de datos, los cuales serán visualizados en una computadora por medio de un software especializado, que registra en tiempo real, tanto la tensión basal que se aplica a los anillos en estudio, como los efectos dilatadores (disminución de la tensión) o contráctiles (aumento de la tensión) ejercidos por un agente determinado (Cameron, 1986). De esta forma, el anillo en estudio puede ser tratado o no con sustancias bioactivas control, para contraer el anillo o incrementar su tensión, a través de aumentar su resistencia eléctrica. Adicionalmente, en la solución fisiológica que contiene al anillo, bajo un tratamiento determinado, se realizará la cuantificación de una variedad de mediadores o moléculas que se producen de ese tratamiento; tales como óxido nítrico o evaluar la expresión proteica en el mismo tejido u órgano en el cual se realizan las evaluaciones fisiológicas” (González et al., 2018).

Los modelos murinos permiten estudiar la estructura y función de diversos órganos, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Estos modelos pueden clasificarse en orgánicos, tisulares y celulares. Dentro de los modelos tisulares se encuentra el uso de anillos aislados de intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon), para la evaluación del tono del músculo liso.

Antecedentes inmediatos obtenidos en el Laboratorio de Fisiología Celular en torno a la PRL y su asociación con el NO como mediador de sus acciones

De acuerdo con la relación entre las hormonas y su capacidad de inhibir o incrementar la tensión en los tejidos mediante los mecanismos de acción relacionados con el NO. Previamente en el laboratorio de fisiología celular se evaluó la respuesta inducida por la PRL y el lactógeno placentario en anillos de intestino, a una exposición de 0.01, 0.1, 1 y 10 nM. Dicha respuesta se obtuvo introduciendo los anillos en solución Tyrodes con un agente contráctil, cloruro de potasio (KCl, 30 nM) y un relajante (Norepinefrina, NE, 55 nM), administrándose en concentraciones acumulativas. La PRL administrada en concentraciones acumulativas a los anillos sin una previa contracción por KCl muestra que la hormona no afecta por sí misma el tono del músculo liso gastrointestinal ni la generación de NO. Por otro lado, cuando la PRL fue administrada en los anillos precontraídos con KCl, este indujo un efecto dual y transitorio de relajación y posteriormente se mostró una contracción sostenida del anillo. González, datos aún no publicados., por lo que se concluye que la PRL ejerce efectos bifásicos en el tono muscular de aorta, siendo consistentes con otros estudios (Ceregrzyn & Kuwahara, 2002). eNOS se expresa de manera constitutiva en las células endoteliales y endocárdicas, promoviendo tanto la angiogénesis como la vasodilatación al relajar el músculo liso de las paredes de los vasos sanguíneos. Las vasoinhibinas (Vi), péptidos derivados de la PRL, tienen la capacidad de inhibir la formación de nuevos vasos sanguíneos y la expansión del diámetro vascular. En células endoteliales coronarias (CEC) y en vasos coronarios de corazones aislados de cobayas perfundidos, se ha observado que la PRL estimula la producción de NO e induce la relajación de los vasos sanguíneos. Sin embargo, las vasoinhibinas inhiben estas acciones. Es importante destacar que estas acciones son dependientes del NO, ya que son bloqueadas por la infusión de L-NAME, un inhibidor competitivo de la NOS. Estos hallazgos sugieren que la PRL y las vasoinhibinas ejercen efectos contrarios en la regulación del tono vascular, posiblemente a través de un eficiente mecanismo de retroalimentación para controlar la función vascular. Estos resultados son relevantes para mejorar la comprensión y el

manejo de enfermedades relacionadas con la angiogénesis y las patologías cardiovasculares (González et al., 2008).

Justificación

La PRL y la OT emergen como moléculas clave que podrían influir significativamente en el desarrollo y la salud gastrointestinal del lactante, ya que la leche materna presenta estas hormonas en su composición (Healy et al., 1980); (Takeda et al., 1986), y ha demostrado ser fundamental para la protección contra diversas enfermedades infecciosas y alérgicas (Brahm & Valdés, 2017); (Moscoso & Quera, 2016), así como para el desarrollo óptimo del sistema digestivo del lactante (Minchala-Urgiles et al., 2021); (Wongdee et al., 2016); (Dorkkam et al., 2013). La PRL, conocida por su papel en la lactancia, también parece desempeñar funciones en la adaptación y maduración del tracto gastrointestinal del lactante, promoviendo la absorción de nutrientes esenciales como el calcio (Dorkkam et al., 2013). Por otro lado, la OT, además de sus efectos como neurotransmisor en el sistema nervioso central, podría facilitar la motilidad intestinal y mejorar la digestión en los lactantes (Welch et al., 2014). Estas hormonas pueden contribuir significativamente a fortalecer la barrera intestinal y regular la respuesta inmunológica del lactante, reduciendo así el riesgo de trastornos digestivos funcionales y enfermedades inflamatorias intestinales durante la infancia (Bustos-Fernández & Hanna-Jairala, 2022). Por lo tanto, entender y estudiar las acciones específicas de la PRL y la OT, a nivel intestinal podría coadyuvar en la generación de estrategias más efectivas para promover la salud intestinal y el bienestar general de los lactantes, especialmente en aquellos que dependen de fórmulas lácteas infantiles como alternativa a la leche materna (Martín Martínez, 2005).

Hipótesis

La prolactina y oxitocina como moléculas bioactivas de la leche materna regulan la motilidad y permeabilidad del intestino delgado en función de la modulación de la producción de óxido nítrico.

Objetivo general

Evaluar y estudiar las acciones inducidas por la prolactina y oxitocina sobre el tono muscular y la permeabilidad de segmentos aislados de intestino delgado de rata y su asociación con la producción del óxido nítrico como mediador.

Objetivos particulares

- 1.- Evaluar en un modelo “*ex vivo*” de anillos aislados de intestino delgado de rata cambios en el tono muscular inducido por concentraciones crecientes, acumulativas e individuales de prolactina y oxitocina, así como su combinación (PRL + OT)
- 2.- Identificar si el NO es un mediador asociado a los cambios en el tono muscular de anillos aislados de intestino delgado de rata tratados con concentraciones crecientes, acumulativas e individuales de prolactina y oxitocina, así como su combinación (PRL + OT).
- 3.- Evaluar si la PRL, OT o su combinación regulan el paso de glucosa desde el lado de la mucosa al lado seroso, a través del modelo de intestino delgado evertido.

Metodología

Sustancias químicas

Prolactina humana recombinante (PRL) obtenida de invitrogen, Thermo Fisher Scientific Inc., Alcobendas (Madrid), ESPAÑA, Oxitocina (OT) sigma, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.

Biomodelos experimentales

Ratas macho de la cepa wistar (100 a 150 g) se alojaron dos por jaula bajo un ritmo circadiano de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con agua y comida *ad libitum*. Para la resección del intestino delgado se administró pentobarbital sódico vía intraperitoneal (50 mg/kg), una vez alcanzada la sedación profunda, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, y la guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud (NIH, publicación No. 92-3415 Bethesda, MD, EUA, 1992). CEID registro CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726, CEID2020-012, CEID2023-05-R1.

Determinación del grado de contracción de anillos aislados de intestino delgado de rata en presencia de PRL y OT

Para la determinación de los efectos fisiológicos en anillos aislados de intestino delgado de rata, se seccionó transversalmente un segmento de 1.0 cm de duodeno, el cual se colocó en una caja Petri con solución de Tyroides (NaCl 136.9 mM, KCl 2.69 mM, MgCl₂ 1.05 mM, CaCl₂ 1.8 mM, Dextrosa 5.55 mM, NaH₂PO₄ 0.42 mM, NaHCO₃ 11.9 mM) a pH 7.4 y a 37°C. Posteriormente se eliminó el tejido adiposo periférico, y el duodeno, yeyuno o íleon se segmentó en anillos de 1 cm de longitud. Los anillos individuales se montaron en baños fisiológicos acoplados a transductores de fuerza de Grass (FT.03). Dichos anillos fueron contenidos en la solución Tyrodes y acoplados a transductores isométricos, se aplicó una carga pasiva de 0.5 g y los segmentos de intestino se estabilizaron durante media hora. Posteriormente, fueron precontraídos con cloruro de potasio (KCl) y se realizó la administración de concentraciones crecientes y acumulativas de la hormona en estudio (Rango de 0.01 a 1 nM). Los datos obtenidos fueron colectados y analizados en un software Labscribe. (Figura 8)

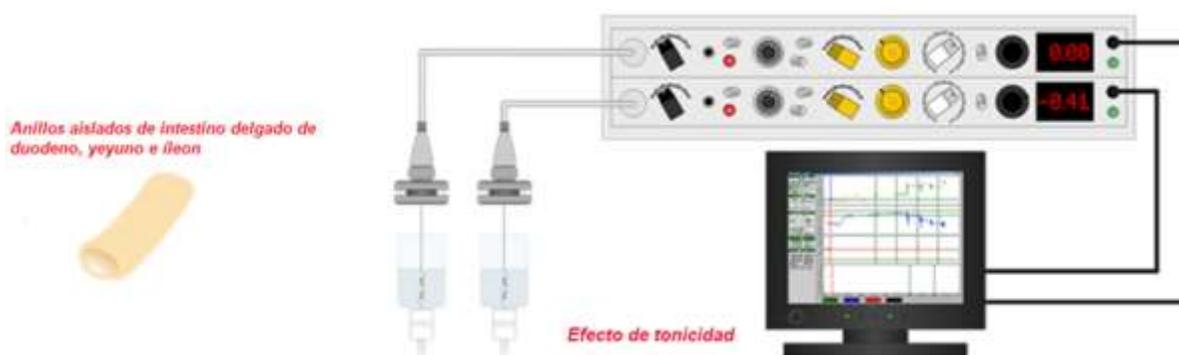


Figura 8. Metodología anillos intestinales en el fisiógrafo.

Determinación y análisis de nitratos y nitritos

Se diluyó en serie una solución estándar de nitrato (100 mM) por duplicado en una placa de microtitulación de poliestireno (Corning) de 96 pocillos y fondo plano. El medio de dilución se utilizó como blanco estándar. Después de cargar la placa con las muestras (100 μ l), se añadió rápidamente VCl_3 (100 μ l) a cada pocillo, seguido de la adición de los reactivos de Griess, SULF (50 ml) y NEDD (50 ml). Los valores en blanco de las muestras se obtuvieron sustituyendo el reactivo de Griess por medio de dilución. El nitrito se midió de forma similar, excepto que las muestras y los patrones de nitrito sólo se expusieron a los reactivos de Griess. En ambos casos se midió la absorbancia a 595 nm utilizando un lector de placas tras la incubación (normalmente 30-45 min). Se utilizó la regresión lineal de los valores medios de la absorbancia a 595 nm para cada conjunto de estándares menos los valores en blanco para determinar las concentraciones de nitrito o NO_x total en las muestras, a continuación, se restaron estos valores para obtener la concentración de nitritos y nitratos.

Preparación de curva estándar NO_2/NO_3 a partir de solución			
Estándar	Concentración (μ M)	Volumen stock μ L	Volumen medio μ L
1	200	200	800
2	100	500 (1)	500
3	50	500 (2)	500

4	25	500 (3)	500
5	10	400 (4)	600
6	5	500 (5)	500
7	2.5	500 (6)	500
8	1	400 (7)	600
9	0	0	1000
Medio: Solución fisiológica			

Determinación de glucosa a través de sacos intestinales evertidos

Cada segmento intestinal de yeyuno se lavó a fondo con solución fisiológica Tyrodes. A continuación, el segmento se evertió de acuerdo con (Hamilton & Butt, 2013). Brevemente, la porción superior se fijó a una pipeta Pasteur con un trozo de hilo y la porción inferior se ató con otro trozo de hilo. El segmento intestinal se llenó con 300 μ L de solución fisiológica, que contenía glucosa 5,5 mM, y el lado de la mucosa se incubó o no con PRL, OT o PRL+OT. Al mismo tiempo, un número apropiado de tubos de ensayo de 5 mL, cada uno conteniendo 3 mL de una solución fisiológica (glucosa 5,5 mM) se preincubaron a 37° C a 1 y 30 minutos. Al final del tiempo, se midió la concentración de glucosa "fuera" (lado mucoso) con un glucómetro contour plus ELITE. (Figura 9).

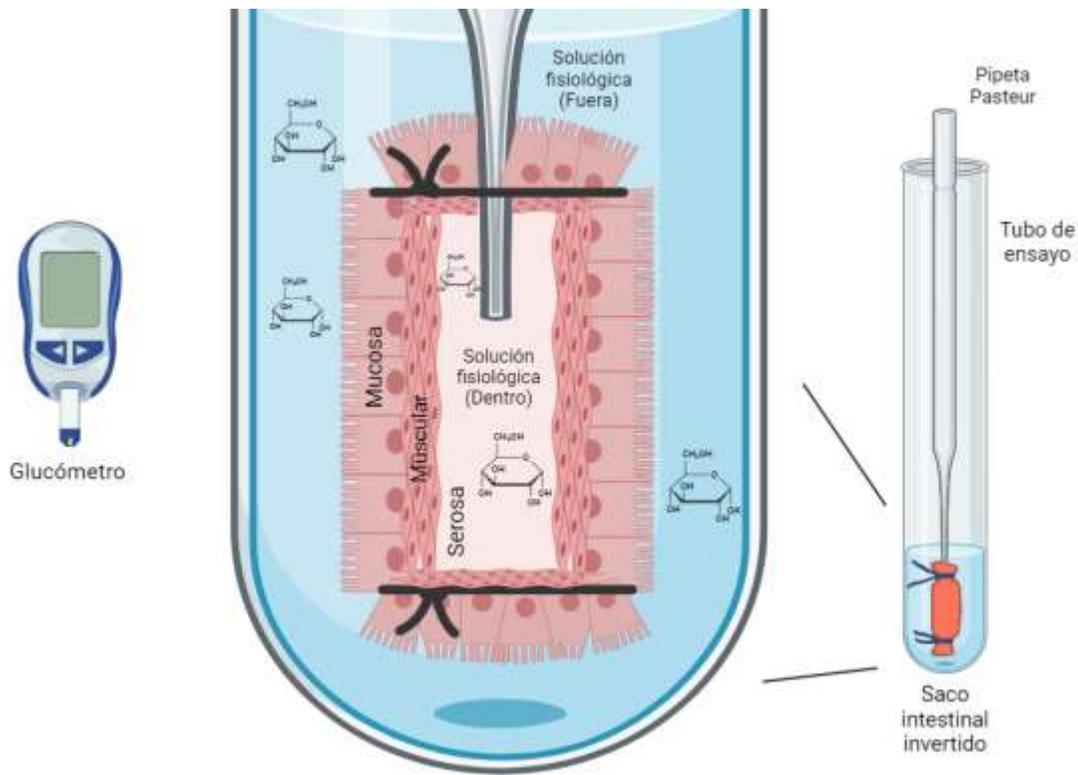


Figura 9. Metodología saco intestinal evertido.

Análisis estadístico

Los datos de tensión derivados de los tratamientos con las hormonas bajo las administraciones acumulativa e individual se expresaron como media \pm los errores estándar de cinco experimentos independientes sometidos a análisis estadístico mediante la prueba t de student o el ANOVA unidireccional y la prueba post hoc de Tukey para la detección de diferencias entre grupos. Los datos de concentración individual en tensión y absorción de glucosa se expresaron como media \pm intervalo de confianza de tres experimentos independientes sometidos a análisis estadístico mediante la prueba ANOVA unidireccional o la prueba post hoc de Tukey para la detección de diferencias entre grupos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa JASP. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Elaboración de controles de contracción y relajación en segmentos de intestino delgado

Para comprobar la viabilidad del intestino, se realizaron controles con cloruro de potasio (KCl) para ejercer un efecto contráctil. El KCl actúa generando una apertura de los canales de calcio, promoviendo un potencial de acción que provocará una contracción (Kirschstein et al., 2009). Una vez estabilizado el tejido, se toma la medición de la tensión, y este será el 100% de la tensión ejercida por el tejido. Para el control del efecto de relajación, se administra nitroprusiato de sodio (NPS), un donador de NO, que bloqueará los canales de calcio y generará un efecto de relajación en el intestino (Figura 10).

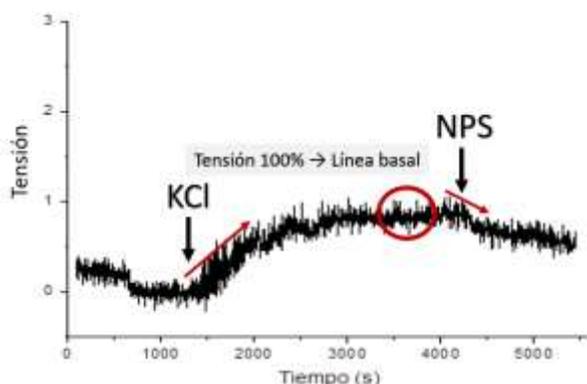


Figura 10. Controles contracción y relajación

Concentraciones crecientes y acumulativas de PRL y OT indujeron efectos duales sobre la tensión de los anillos aislados de intestino de rata joven

Los efectos inducidos por concentraciones acumulativas (0.01, 0.1, y 1 nM) de PRL y OT fueron evaluados en anillos de intestino delgado pre-contraídos con KCl. Las concentraciones acumulativas de PRL y OT mostraron efectos transitorios sobre la tensión.

Cuando se administró PRL al duodeno, se promovió un efecto contráctil transitorio y enseguida la tensión muscular se estabilizó en valores inferiores a la contracción de KCl por la concentración de PRL de 0,1 y 1 nM (valores estadísticamente no significativos). La PRL indujo un perfil de efecto contráctil transitorio en yeyuno. En el duodeno el efecto contráctil transitorio fue seguido a la tensión muscular cuya magnitud alcanzó gradualmente el 100% del valor de contracción de KCl. En contraste, el tratamiento con PRL en íleon, exhibió un efecto relajante transitorio seguido de la recuperación gradual del efecto contráctil.

El tratamiento de OT en duodeno indujo un efecto contráctil transitorio seguido de una estabilización del efecto relajante. En contraste, en yeyuno la OT indujo un efecto relajante transitorio, seguido de un efecto contráctil como los inducidos por KCl. En íleon con OT, se observó un efecto contráctil.

La oxitocina aumenta la producción de NO en el duodeno, el yeyuno y el íleon

A concentraciones crecientes y acumulativas de 0,01, 0,1 y 1,0 nM, la PRL no tuvo ningún efecto sobre la producción de NO en el duodeno y el yeyuno, pero tuvo un efecto a $p < 0,05$ en el íleon, donde la PRL indujo un aumento en la producción de NO en comparación con las muestras de control no tratadas. OT indujo en los segmentos un aumento de la producción de NO que fue significativo a $p < 0,001$ a concentraciones crecientes y acumulativas de 0,01, 0,1 y 1,0 nM de OT.

Sin embargo, no se evidenció una asociación directa entre los niveles de NO y la tensión intestinal bajo el tratamiento hormonal.

La prolactina y la oxitocina mostraron un perfil opuesto en el perfil de contracción transitorio en el segmento precontraído de yeyuno

Los registros representativos del yeyuno muestran que en presencia de PRL predomina un efecto contráctil transitorio mientras que en presencia de OT predomina

un efecto relajante transitorio. Si superponemos ambos registros, se observa este efecto complementario de ambas hormonas (Figura 15). Por este motivo, decidimos evaluar el efecto directo de estas hormonas y su combinación en la capacidad de regular la absorción de nutrientes, utilizando sacos intestinales invertidos de segmentos yeyunales.

Las administraciones individuales de PRL y OT, así como su combinación presentan un comportamiento característico en función del segmento intestinal

Las concentraciones individuales de PRL y OT indujeron efectos diferenciales sobre la contracción de los anillos aislados del intestino de rata en la función del segmento intestinal, y aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los efectos sobre la tensión en función de la concentración, se decidió utilizar y evaluar la concentración intermedia de ambas hormonas para estudiar sus efectos en condiciones de administración individual y su combinación (PRL+OT) durante un periodo de 20 minutos.

Se adjunta un cuadro con el resumen de los resultados (Figura 11).

	Duodeno		Yeyuno		Íleon	
	Contracción (%)	NO (µM)	Contracción (%)	NO (µM)	Contracción (%)	NO (µM)
Control	100%	25.45 ± 2.56	100%	28.52 ± 1.35	100%	11.14 ± 2.19
PRL	108.60 ± 11.61 *	66.21±8.18 ***	137.81 ± 32.68 **	13.22±2.55**	109.95 ± 62.93	27.33±4.13*
OT	83.04 ± 13.004 ***	6.03±2.01**	123.96 ± 15.48	21.33±3.92	98.10 ± 10.45	27.44±2.25*
PRL+OT	77.67 ± 21.34**	6.34±0.64**	109.95 ± 62.93 *	13.35±4.55**	88.08 ± 2.34***	25.93±7.86*

Figura 11. Resumen de los resultados obtenidos en los experimentos para la determinación de los efectos de contracción y producción de NO con los tratamientos de PRL, OT y PRL+OT, en los tres segmentos intestinales.

La prolactina y la oxitocina aumentan la absorción de glucosa en los sacos intestinales invertidos

Teniendo en cuenta que 1) en los anillos aislados de yeyuno se observaron efectos opuestos en el que la PRL provocaba contracción y la OT provocaba relajación, semejantes a los movimientos peristálticos, 2) que los eventos de contracción y relajación intestinal son determinantes en los proceso de absorción de nutrientes, y 3) el yeyuno representa la región más larga del intestino delgado, en donde existe una mayor absorción de nutrientes, al poseer una mayor superficie de contacto (Basile et al., 2023). Por lo anterior, se decidió evaluar la absorción de glucosa, en la región mucosa y serosa en el yeyuno, en este se decidió evaluar el efecto de las hormonas en el proceso de absorción de la glucosa. Con un glucómetro se evaluó el contenido de glucosa fuera del saco intestinal (Mucosa intestinal) y dentro del saco intestinal (Serosa). En los sacos intestinales yeyunales se administraron 3 μ L de OT, 3 μ L de PRL y 3 μ L de PRL+OT, en concentración 0.1 nM. A nivel de la mucosa, la PRL promovió una mayor absorción de glucosa, reduciendo en un 20% el contenido de glucosa. Cuando se administró OT, se redujo en 50% el contenido de glucosa fuera del saco. La combinación PRL+OT no presentó algún efecto significativo en la captación de glucosa. A nivel de la serosa, la PRL+OT aumentó 50% el contenido de glucosa, pero no se modificó en presencia del tratamiento con PRL o con OT.

Discusión

En el presente estudio, se revela la acción de OT y PRL sobre la regulación de la contracción del intestino delgado de ratas infantiles y su relación con el proceso de absorción de glucosa. Este estudio sugiere que las hormonas promueven la absorción de nutrientes, como la glucosa, y controlan su entrada en los tejidos. Se sugiere una nueva función de estas hormonas en el intestino delgado y podrían explicar su presencia en la leche materna, junto con otros componentes como enzimas, inmunoglobulinas o probióticos, que podrían ayudar a reducir los síntomas de la mala digestión causada por un intestino delgado inmaduro. Por ejemplo, el cólico intestinal,

una de las dolencias más frecuentes prevalece entre el 10 y el 40% de los bebés alimentados con fórmula láctea infantil comparado contra el 10 y el 20% alimentados con leche materna (Lewandowska & Zych, 2017). El cólico es causado por las flatulencias, una acumulación excesiva de aire o gas en el estómago o los intestinos, que incluye ruidos abdominales, malestar estomacal, calambres, dolor y diarrea (Price et al., 1988). Una de las causas de las flatulencias pueden ser la mala digestión de la lactosa, un disacárido común en la alimentación humana, tanto en lactantes como en adultos, su digestión requiere una enzima especializada llamada lactasa (Fassio et al., 2018). En un recién nacido, la lactasa es funcional en un 70% en comparación con un adulto, explicando por qué los bebés deben consumir exclusivamente leche materna o preparados para lactantes durante los primeros meses de vida, y por qué su distribución de macronutrientes debe ser de un 15% de proteínas, un 35% de carbohidratos y un 50% de grasas (Cuadros-Mendoza et al., 2017; Porras & Polo, n.d.).

Aunque la fórmula infantil se define como un alimento infantil adecuado como sustituto total o parcial de la leche humana y tiene una composición de macronutrientes como la leche materna, se ha investigado la adición de componentes para prevenir la incidencia de problemas gastrointestinales como cólicos o reflujo (Martín Martínez, 2005); (Herrera H et al., 2013). Uno de los componentes presentes en la leche materna es la PRL (Hennart et al., 1981). De acuerdo con los resultados obtenidos, se demuestra que ejerce un papel importante en la regulación del tono muscular y se correlaciona con la absorción de glucosa. Uno de los mediadores involucrados en los movimientos de relajación del músculo liso en el intestino, es el NO, un importante neurotransmisor inhibitorio no adrenérgico, no colinérgico (NANC) en el tracto gastrointestinal (GI). El NO se sintetiza mediante la activación de la NO sintasa neuronal (nNOS) en el plexo mientérico y desempeña un importante papel fisiológico, como la regulación del tono muscular del esfínter de la parte inferior del esófago, el píloro, el esfínter de Oddi y el ano, además de regular el reflejo de acomodación del fundus y el reflejo peristáltico del intestino. La reducción de la expresión de la nNOS, asociada a una producción local alterada de NO, puede ser responsable de los trastornos de la motilidad en el tracto gastrointestinal, como en el caso de los pacientes

con dispepsia funcional, que presentaban una reducción de la liberación de NO y/o de la expresión de la nNOS (Takahashi, 2003).

En anillos intestinales aislados de duodeno y yeyuno, la presencia de los tratamientos individuales de hormonas presenta un patrón diferente a las concentraciones acumulativas, con OT disminuye la producción de NO, mientras que PRL aumenta dicha producción, y su combinación disminuye la producción de NO. Por lo tanto, podemos suponer que sus hormonas regulan la producción de NO en función de regular la tensión en el segmento intestinal. Li et al., (2015) plantearon la hipótesis de que la OT en el intestino podría desempeñar un efecto antinociceptivo mediante la activación de nNOS en las neuronas entéricas, provocando la liberación de NO y la apertura de canales KATP en las fibras nerviosas mesentéricas espinales que inervan la pared del intestino (Li et al., 2015). Los resultados del presente estudio concuerdan con los de (Lv et al., 2010), que demostraron que la OT (10^{-5} y 10^{-6} M) inhibía la contracción espontánea de las tiras musculares en el duodeno de ratas (Lv et al., 2010), Nuestro estudio demuestra que la OT ejerce diferentes efectos dependiendo del segmento.

Por otro lado, al investigar el NO como mediador al administrar PRL en concentraciones crecientes y acumulativas, se descubre que los segmentos de duodeno y yeyuno no presentan diferencias estadísticamente significativas en la producción de este mediador, recordando que la fisiología intestinal propia de cada segmento es única, y el íleon, al estar cerca del colon, puede tener más actividad en la regulación de la motilidad intestinal, por lo que puede presentar más neuronas nitrérgicas, que producen óxido nítrico (OpenAI, 2024). Recordando que existen 7 isoformas del receptor de PRL en humanos, 4 en ratones y 3 en ratas, y que cada una de éstas tiene diferentes propiedades de señalización, se ha estudiado el receptor de la isoforma larga, que ha sido el más caracterizado, contrario a su isoforma corta, de la cual se sabe poco, actuando a través de la isoforma larga, la PRL activa muchas quinasas, incluyendo la Jak2/Stat, la quinasa Src, la fosfatidilinositol-3 quinasa (PI3K)/AKT, la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y las vías Nek3-vav2-

Rac1 (Binart et al., 2010). Aunado a esto, poco se sabe de las vías de señalización que puede activar la PRL en el intestino delgado, sin embargo, los resultados obtenidos nos dan el indicio de que su activación en el intestino delgado en concentración única (0.1 nM) conduce a una cascada de señalización que implica la activación de los receptores muscarínicos, probablemente debido a que PRL promueve la liberación de acetilcolina y estimula estos receptores, que activan a la fosfolipasa C (PLC), una enzima que se encuentra acoplada al receptor a través de proteínas G, la PLC hidroliza el fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) en IP₃ y DAG, y el IP₃ liberado se une a receptores en el retículo endoplásmico, liberando calcio desde el retículo hacia el citoplasma, provocando contracción del músculo liso intestinal (Diakonova, 2015). Por otro lado, a pesar de que no hay muchos estudios para comprender la cascada de señalización de la OT en el intestino delgado, se puede sugerir que la OT se une a su receptor, que activa los receptores beta adrenérgicos, probablemente debido a que promueve la liberación de noradrenalina, y el receptor beta adrenérgico activa la vía de la adenilato ciclasa, produciendo óxido nítrico y culminando con la relajación del músculo liso intestinal (Viero et al., 2010) (Figura 12).

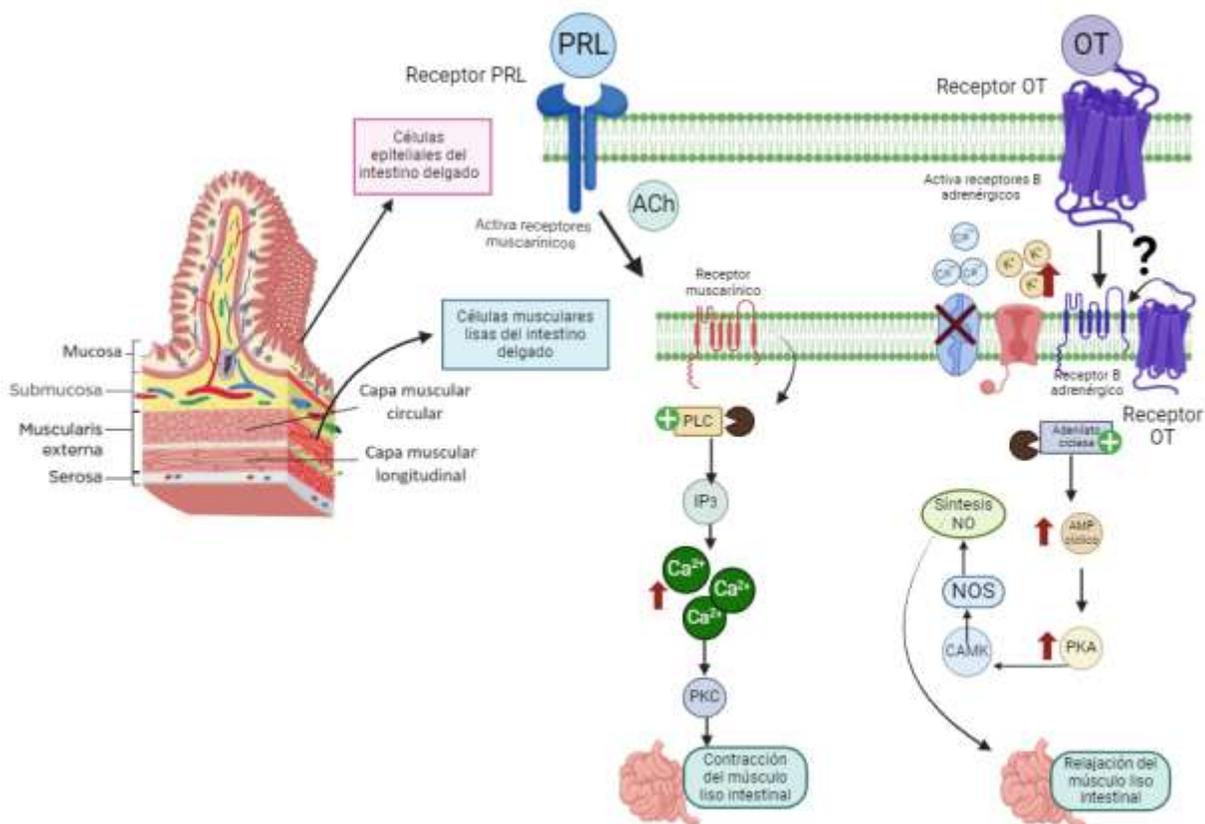


Figura 12. Mecanismo de acción propuesto para los efectos inducidos en el intestino delgado de las hormonas PRL y OT. (Viero et al., 2010); (Kavarthapu & Dufau, 2022); (Martín Pérez, 2010); (Álvarez-Santos et al., 2020)

Asimismo, puede que la PRL no provoque una cascada de señalización debido a que, en lugar de unirse a su receptor, pase por la barrera intestinal, ya que en el yeyuno e íleon, se ha demostrado que la PRL láctea pasa del tracto gastrointestinal a la circulación de la rata lactante (Gonnella et al., 1989), aunque se desconoce el mecanismo.

En sacos intestinales invertidos de yeyuno, se demuestra que la PRL y OT aumenta la absorción de glucosa, y esta información se asocia con estudios en los que se demuestra que la OT aumenta la captación de la glucosa por otros tejidos, como mioblastos murinos (Lee et al., 2008), las células madre derivadas del músculo

(MDSCs) bovinas (Zhang et al., 2017), o en cardiomiocitos de ratas neonatales (Florian et al., 2010). Mientras que PRL tiene efectos de manera indirecta en la homeostasis de la glucosa, como estimular la proliferación de células beta del páncreas que, a su vez, liberarán insulina para captación de la glucosa en el torrente sanguíneo (Petryk et al., 2000).

La fermentación de carbohidratos por la flora bacteriana colónica produce gases y ácidos grasos de cadena corta (SCFAs), la absorción de estos últimos recupera energía (Olesen et al., 1999). Por lo tanto, es probable que la presencia de estas hormonas en la leche materna esté diseñada para absorber tanta glucosa como sea posible para evitar que las bacterias de la microbiota inmadura del bebé la conviertan en gas y provoquen molestias al expulsarla, sin embargo, los resultados obtenidos nos demuestran que si bien, estas hormonas de manera individual ejercen un efecto de mayor captación de glucosa, en combinación no tienen este mismo efecto, sino que se antagoniza. Una probable causa sea el hecho de que en nuestro modelo experimental decidimos utilizar concentraciones equimolares como un primer abordaje experimental, se incita a que los próximos estudios realicen los experimentos con concentraciones que presenta la leche materna. Aunque en el lado de la mucosa no se evidenció una mayor captación de glucosa, en el lado seroso se observó que existe mayor concentración de glucosa. Al momento se desconoce su importancia fisiológica, o si acaso el músculo liso se encuentre captando la glucosa para almacén y reserva futura de energía, también es probable que el músculo liso de las ratas infantiles en contacto con la combinación de dichas hormonas, ejerza un efecto protector para que la absorción de glucosa sea más ralentizada, se incita a que los experimentos con la combinación PRL+OT se extienda por mayores periodos de tiempo.

Asimismo, es probable que dicho comportamiento de la combinación PRL+OT sea debido a que puede existir interacción molecular entre ambas hormonas, semejante a la que se genera cuando se forma la macroprolactina y por ende, inhibir su función, en esta forma compleja de alta masa molecular, la PRL se hace bio-nodisponible y, en consecuencia, parece bioinactiva in vivo (Gibney et al., 2005). La existencia de la

macroprolactina se conoce desde hace 30 años, sin embargo, su importancia aún es desconocida, así como su estructura, ya que diversas formas han sido descritas, como aquellas en la que se sugiere que la macroprolactina es un gran complejo antígeno-anticuerpo formado por PRL monomérica y autoanticuerpos anti-PRL, siendo éstos últimos anticuerpos IgG con baja afinidad receptora, u otro estudio en el que se describe que es un complejo heterogéneo de PRL unida de forma covalente y no covalente con una mayor glicosilación, detallando que la formación de macroprolactina tiene diferentes etiologías (Sadideen & Swaminathan, 2006). Se ha demostrado la presencia de PRL no glicosilada de 23 kDa (NG-PRL) en la macroprolactina unida a IgG, esta PRL unida a IgG tiene una actividad biológica similar a la PRL libre in vitro y se elimina de la circulación más lentamente que la PRL libre (Hattori & Inagaki, 1997), en otro estudio se ha demostrado la presencia tanto de NG-PRL como de PRL glucosilada (G-PRL) en la macroprolactina aislada (Fahie-Wilson et al., 2005). Haciendo énfasis en la PRL sérica, en caso de existir macroprolactina, su actividad biológica es limitada, debido a que el gran complejo PRL-IgG puede no alcanzar los receptores debido a su tamaño y la incapacidad para atravesar el endotelio vascular (Sadideen & Swaminathan, 2006), no obstante, en el intestino delgado, un órgano encargado de la absorción puede tener otra función.

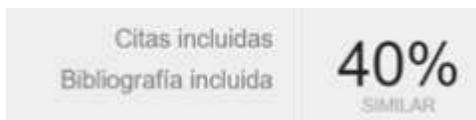
Nuestros resultados abren la posibilidad de añadir nuevos componentes a los preparados para lactantes que no pueden consumir leche materna, como los bebés con galactosemia, y subrayan la importancia de la leche materna en los primeros meses de vida para la maduración y regulación del intestino delgado y, posiblemente, del tracto gastrointestinal.

Conclusiones

Las hormonas PRL y OT, presentes en la leche materna, ejercen funciones a nivel gastrointestinal, específicamente en el intestino delgado, por lo que se deduce que estas moléculas actúan como agentes en la regulación de la motilidad intestinal y su consiguiente efecto en la absorción de nutrientes como la glucosa, en los lactantes.

Actualmente el panorama de la incidencia de enfermedades gastrointestinales ha ido en aumento en la población infantil y adulta, por lo que una de las causas puede ser la alimentación con leche de fórmula antes que la lactancia materna. Sin embargo, no se limita la innovación e investigación para perfeccionar las fórmulas lácteas infantiles, sino que el estudiar los componentes presentes en la leche materna y elucidar su función en el organismo nos pueden ofrecer un panorama positivo para que los lactantes sean alimentados de manera óptima para promover la correcta asimilación de nutrientes y maduración intestinal.

Resumen de reporte de similitud





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos
Programa de Maestría

Formato M28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a Julio/12 /2024

L.B. María Zita Acosta Nava
Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada El papel de la prolactina y oxitocina sobre el tono muscular de intestino de roedor presentada por el autor Perla Alejandra Figueroa Carrasco. La tesis es requisito para obtener el grado de Maestría en el Posgrado en Ciencias en bioprocesos. El análisis reveló un porcentaje de similitud de **40%** excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Dr. Jaime David Pérez Martínez
Coordinador del Posgrado en Ciencias en Bioprocesos

Bibliografía

- Abecia, L., & McCartney, A. K. (2009). Efecto de los productos de fermentación del triptófano en la resistencia eléctrica transepitelial en un modelo “in vitro” de colon. *XXXIX Jornadas de Estudio. XIII Jornadas Sobre Producción Animal: Zaragoza. 12 y 13 de Mayo de 2009, Vol. 1, 2009, ISBN 978-84-613-2311-1, Págs. 796-798, 1, 796–798.* <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3210363>
- Abood, AtefM. M., & Ahmed, M. (2012). Effect of oxytocin on duodenal motility in female rats. *Journal of The Arab Society for Medical Research, 7(2), 73.* <https://doi.org/10.4103/1687-4293.132871>
- Abramicheva, P. A., & Smirnova, O. V. (2019). Prolactin Receptor Isoforms as the Basis of Tissue-Specific Action of Prolactin in the Norm and Pathology. *Biochemistry (Moscow), 84(4), 329–345.* <https://doi.org/10.1134/S0006297919040011>
- Adams, S. A., Ajam, I. K., Matthews, B. F., & Sullivan, P. B. (1976). Proceedings: Increased gastric emptying and intestinal motility in lactating mice. *The Journal of Physiology, 257(1), 57–58.*
- Alanazi, M. M., Havranek, T., Bakos, J., Cubeddu, L. X., & Castejon, A. M. (2020). Cell proliferation and anti-oxidant effects of oxytocin and oxytocin receptors: role of extracellular signal-regulating kinase in astrocyte-like cells. *Endocrine Regulations, 54(3), 172–182.* <https://doi.org/10.2478/enr-2020-0020>
- Alberts, B. (2011). *Introducción a la Biología Celular.* <https://books.google.com.mx/books?id=MsfRvQEACAAJ>
- Ángeles Zúñiga, P. (2018, December 20). *¿Qué beneficios sanitarios aporta la lactancia materna al bebé y a la madre?* Elsevier. <https://www.elsevier.com/es-es/connect/beneficios-y-ventajas-sanitarias-de-la-lactancia>
- Antfolk, M., & Jensen, K. B. (2020). A bioengineering perspective on modelling the intestinal epithelial physiology in vitro. *Nature Communications, 11(1), 6244.* <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20052-z>
- Arenas Bazán, M. C. (2017). Importancia de las uniones estrechas en las enfermedades intestinales. In *Universidad de Sevilla.* <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/64784/ARENAS%20BAZ%C3%81N%20C%20MAR%C3%8DA%20CONCEPCI%C3%93N.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Asociación Española de Pediatría (AEP). (2015). *Manual de Lactancia Materna.* https://books.google.com.mx/books/about/Manual_de_Lactancia_Materna.html?id=Ulxj72VZD0C&redir_esc=y

- Augustine, R. A., Seymour, A. J., Campbell, R. E., Grattan, D. R., & Brown, C. H. (2018). Integrative neurohumoral regulation of oxytocin neurone activity in pregnancy and lactation. *Journal of Neuroendocrinology*, *30*(8), e12569. <https://doi.org/10.1111/jne.12569>
- Barthó, L., & Lefebvre, R. A. (1994). Nitric oxide causes contraction in the rat isolated small intestine. *European Journal of Pharmacology*, *259*(1), 101–104. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(94\)90166-X](https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)90166-X)
- Basile, E., Launico, M., & Sheer AJ. (2023, October 28). *Physiology, Nutrient Absorption*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK597379/>
- Binart, N., Bachelot, A., & Bouilly, J. (2010). Impact of prolactin receptor isoforms on reproduction. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *21*(6), 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.01.008>
- Bogeski, G., Shafton, A. D., Kitchener, P. D., Ferens, D. M., & Furness, J. B. (2005). A quantitative approach to recording peristaltic activity from segments of rat small intestine *in vivo*. *Neurogastroenterology & Motility*, *17*(2), 262–272. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2004.00605.x>
- Boucher, J., Kleinridders, A., & Kahn, C. R. (2014). Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *6*(1), a009191–a009191. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009191>
- Bowen, M. T., Liu, J., & Buisman-Pijlman, F. T. A. (2016). Oxytocin. In *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (pp. 82–92). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800634-4.00008-1>
- Brahm, P., & Valdés, V. (2017). Beneficios de la lactancia materna y riesgos de no amamantar. *Revista Chilena de Pediatría*, *88*(1), 07–14. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062017000100001>
- Brelje, T. C., & Sorenson, R. L. (1991). Role of Prolactin Versus Growth Hormone on Islet BCell Proliferation in Vitro: Implications for Pregnancy*. *Endocrinology*, *128*(1), 45–57. <https://doi.org/10.1210/endo-128-1-45>
- Bustos-Fernández, L. M., & Hanna-Jairala, I. (2022). Eje cerebro intestino microbiota. Importancia en la práctica clínica. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, *42*(2), 106–116. <https://doi.org/10.47892/rgp.2022.422.1438>
- Ceregrzyn, M., & Kuwahara, A. (2002). *Chapter 10 The role of nitric oxide in motility of the developing gastrointestinal tract* (pp. 271–324). [https://doi.org/10.1016/S1877-1823\(09\)70126-2](https://doi.org/10.1016/S1877-1823(09)70126-2)

- Charoenphandhu, N., & Krishnamra, N. (2007). Prolactin is an important regulator of intestinal calcium transport. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 85(6), 569–581. <https://doi.org/10.1139/Y07-041>
- Charoenphandhu, N., Limlomwongse, L., & Krishnamra, N. (2006). Prolactin directly enhanced Na^+/K^+ - and Ca^{2+} -ATPase activities in the duodenum of female rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 84(5), 555–563. <https://doi.org/10.1139/y05-161>
- Charoenphandhu, N., Nakkrasae, L., Kraidith, K., Teerapornpuntakit, J., Thongchote, K., Thongon, N., & Krishnamra, N. (2009). Two-step stimulation of intestinal Ca^{2+} absorption during lactation by long-term prolactin exposure and suckling-induced prolactin surge. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(3), E609–E619. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00347.2009>
- Cordero, M. J. A., & Cordero, M. J. A. (2005). *Lactancia materna*. Elsevier. <https://books.google.com.mx/books?id=Zi6a9oXZYksC>
- Cuadros-Mendoza, C. A., Vichido-Luna, M. Á., Montijo-Barríos, E., Zárate-Mondragón, F., Cadena-León, J. F., Cervantes-Bustamante, R., Toro-Monjárez, E., & Ramírez-Mayans, J. A. (2017). Actualidades en alimentación complementaria. *Acta Pediátrica de México*, 38(3), 182. <https://doi.org/10.18233/APM38No3pp182-2011390>
- Cubides-Munevar, A. M., Linero-Terán, A. S., Saldarriaga-Vélez, M. A., Umaña-Bautista, E. J., & Villamarín Betancourt, E. A. (2020). Alergia a la proteína de leche de vaca. Enfoque diagnóstico y terapéutico. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 35(1), 92–103. <https://doi.org/10.22516/25007440.379>
- DeMayo, F. J., Zhao, B., Takamoto, N., & Tsai, S. Y. (2002). Mechanisms of Action of Estrogen and Progesterone. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 955(1), 48–59. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02765.x>
- Diakonova, M. (2015). *Recent Advances in Prolactin Research* (M. Diakonova, PhD, Ed.; Vol. 846). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-12114-7>
- Díaz-Rubio, M., & Díaz-Rubio, E. R. (2007). Capítulo 1.1. Estructura muscular y nerviosa del aparato digestivo. In *Trastornos motores del aparato digestivo* (2nd ed.). Editorial Médica Panamericana. https://books.google.com.mx/books?id=LI4b_DVYsUsC&newbks=1&newbks_redir=0&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

- Dimmeler, S., Fleming, I., Fisslthaler, B., Hermann, C., Busse, R., & Zeiher, A. M. (1999). Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature*, 399(6736), 601–605. <https://doi.org/10.1038/21224>
- Dorkkam, N., Wongdee, K., Suntornsaratoon, P., Krishnamra, N., & Charoenphandhu, N. (2013). Prolactin stimulates the L-type calcium channel-mediated transepithelial calcium transport in the duodenum of male rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 430(2), 711–716. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.11.085>
- Drcondorich, L. (2019, November 28). *Fisiología de la Hormona Prolactina (COMPLETO, SENCILLO Y FÁCIL)*. https://www.youtube.com/watch?V=WO13HyZ1nXc&ab_channel=drcondorichlive
- Fahie-Wilson, M. N., John, R., & Ellis, A. R. (2005). Macroprolactin; high molecular mass forms of circulating prolactin. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 42(3), 175–192. <https://doi.org/10.1258/0004563053857969>
- Fassio, F., Facioni, M., & Guagnini, F. (2018). Lactose Maldigestion, Malabsorption, and Intolerance: A Comprehensive Review with a Focus on Current Management and Future Perspectives. *Nutrients*, 10(11), 1599. <https://doi.org/10.3390/nu10111599>
- Feldman, M., Friedman, L. S., & Brandt, L. J. (2021). *Sleisenger y Fordtran. Enfermedades digestivas y hepáticas: Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento*. Elsevier Health Sciences. https://books.google.com.mx/books?id=O_tFEAAQBAJ
- Ferens, D. M., Chang, E. C., Bogeski, G., Shafton, A. D., Kitchener, P. D., & Furness, J. B. (2005). Motor patterns and propulsion in the rat intestine *in vivo* recorded by spatio-temporal maps. *Neurogastroenterology & Motility*, 17(5), 714–720. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2005.00684.x>
- Florez-Acevedo, S., & Cardenas-Parra, L. F. (2016). Oxytocin's Modulator Role in Social Interaction and Social Stress. *Universitas Psychologica*, 15(5). <http://orcid.org/0000-0002-8786-0614>
- Florian, M., Jankowski, M., & Gutkowska, J. (2010). Oxytocin Increases Glucose Uptake in Neonatal Rat Cardiomyocytes. *Endocrinology*, 151(2), 482–491. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0624>
- Forstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>

- Gal Iglesias, B., López Gallardo, M., Martín Velasco, A. I., & Prieto Montalvo, J. (2007). *Bases de la fisiología* (2nd ed.). Editorial Tebar. https://books.google.com.mx/books?id=GpNkL8SiYW8C&newbks=1&newbks_re_dir=0&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Gareau, M. G., Jury, J., Yang, P. C., MacQueen, G., & Perdue, M. H. (2006). Neonatal Maternal Separation Causes Colonic Dysfunction in Rat Pups Including Impaired Host Resistance. *Pediatric Research*, 59(1), 83–88. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000190577.62426.45>
- Gibney, J., Smith, T. P., & McKenna, T. J. (2005). Clinical relevance of macroprolactin. *Clinical Endocrinology*, 62(6), 633–643. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02243.x>
- Gómez Gallego, C., Pérez Conesa, D., Bernal Cava, M. J., Periago Castón, M. J., & Ros Berruezo, G. (2009). Functional compounds in breast milk. In *Enfermería Global* (Issue 16). Servicio de Publicaciones, Universidad de Murcia. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412009000200020&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Gonnella, P. A., Harmatz, P., & Walker, W. A. (1989). Prolactin is transported across the epithelium of the jejunum and ileum of the suckling rat. *Journal of Cellular Physiology*, 140(1), 138–149. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041400117>
- Gonzalez, C., Corbacho, A. M., Eiserich, J. P., Garcia, C., Lopez-Barrera, F., Morales-Tlalpan, V., Barajas-Espinosa, A., Diaz-Muñoz, M., Rubio, R., Lin, S.-H., Martinez de la Escalera, G., & Clapp, C. (2004). 16K-Prolactin Inhibits Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase, Intracellular Calcium Mobilization, and Endothelium-Dependent Vasorelaxation. *Endocrinology*, 145(12), 5714–5722. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0647>
- González, C., Lemini, M., Garcia, C., Ramiro-Diaz, J. M., Castillo-Hernandez, J. R., Rubio, R., & Clapp, C. (2008). Effects of prolactin and vasoinhibins on nitric oxide synthase activity in coronary endothelial cells and vessels in isolated perfused guinea pig hearts. *Toxicology Letters*, 180, S34. <https://doi.org/10.1016/J.TOXLET.2008.06.655>
- González, C., Navarro Tovar, G., & Ramírez Lee, M. A. (2018). Perfil fisiológico de los nanomateriales. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencia y Nanotecnología*, 11(20), 27. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2018.20.63062>
- Grattan, D. R. (2001). *Chapter 11 The actions of prolactin in the brain during pregnancy and lactation* (pp. 153–171). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(01\)33012-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(01)33012-1)

- Groschwitz, K. R., & Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124(1), 3–20. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.05.038>
- Guevara-Garay, L. A., Cuartas-Castaño, D. A., & Llano-Naranjo, F. (2014). Kappa caseína de la leche: aspectos bioquímicos, moleculares, productivos y nutricionales. *Revista Médica de Risaralda*, 20(1), 29–33. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672014000100007&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Gutiérrez de Terán Moreno, G. (2015). *FACTORES FISIOLÓGICOS Y SOCIALES QUE INFLUYEN EN EL ÉXITO DE LA LACTANCIA MATERNA* [Doctoral, Universidad del País Vasco]. https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/19879/TESIS_GUTIERREZ%20DE%20TERAN_MORENO_GLORIA.pdf?sequence=1
- Gutiérrez-Rodríguez, A., & Camacho-Arroyo, I. (2016). Papel del factor de bloqueo inducido por progesterona (pibf) en embarazo y cáncer. *Tip*, 19(2), 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2016.06.004>
- Hamilton, K. L., & Butt, A. G. (2013). Glucose transport into everted sacs of the small intestine of mice. *Advances in Physiology Education*, 37(4), 415–426. <https://doi.org/10.1152/advan.00017.2013>
- Hatmal, M. M., Al-Hatamleh, M. A. I., Olaimat, A. N., Alshaer, W., Hasan, H., Albakri, K. A., Alkhafaji, E., Issa, N. N., Al-Holy, M. A., Abderrahman, S. M., Abdallah, A. M., & Mohamud, R. (2022). Immunomodulatory Properties of Human Breast Milk: MicroRNA Contents and Potential Epigenetic Effects. *Biomedicines*, 10(6), 1219. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061219>
- Hattori, N., & Inagaki, C. (1997). Anti-Prolactin (PRL) Autoantibodies Cause Asymptomatic Hyperprolactinemia: Bioassay and Clearance Studies of PRL-Immunoglobulin G Complex¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(9), 3107–3110. <https://doi.org/10.1210/jcem.82.9.4250>
- Healy, D. L., Rattigan, S., Hartmann, P. E., Herington, A. C., & Burger, H. G. (1980). Prolactin in human milk: correlation with lactose, total protein, and alpha-lactalbumin levels. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 238(1), E83–E86. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1980.238.1.E83>
- Hennart, P., Delogne-Desnoeck, J., Vis, H., & Robyn, C. (1981). Serum levels of prolactin and milk production in women during a lactation period of thirty months. *Clinical Endocrinology*, 14(4), 349–353. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1981.tb00619.x>

- Hernández-Guzmán, A., Bazán-Pérez, A., Ortiz-Reyes, R. A., Maldonado-García, J. L., & Terrones-Lozano, A. (2022). Perspectiva neuroinmunoendocrina de la lactancia materna: prolactina, más que una hormona lactógena. *Revista Mexicana de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición*, 9(2), 78–84. <https://doi.org/10.24875/RME.21000019>
- Herrera H, M., Machado, L., & Villalobos, D. (2013). Nutrición en recién nacidos a término y en niños de 1 a 6 meses. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 76(3), 117–125. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492013000300007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Herrera Ruiz, D., Hernández Baltazar, E., Espinosa Lara, J. C., Luz Martínez, I. de la, Beltrán Torres, A. A., & Martínez Alejo, J. M. (2012). Variable complexity techniques for assessing drug absorption. In *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* (Vol. 43, Issue 1). Asociación Farmacéutica Mexicana. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Hoenderop, J. G. J., Vennekens, R., Muller, D., Prenen, J., Droogmans, G., Bindels, R. J. M., & Nilius, B. (2001). Function and expression of the epithelial Ca²⁺ channel family: comparison of mammalian ECaC1 and 2. *The Journal of Physiology*, 537(3), 747–761. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.00747.x>
- Hómez de Delgado, B. (2003). Hormonas en la mama: De la fisiología a la enfermedad. In *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* (Vol. 6, Issue 2). Sociedad Venezolana de Endocrinología y Metabolismo. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102008000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Huang, C., Snider, F., & Cross, J. C. (2009). Prolactin Receptor Is Required for Normal Glucose Homeostasis and Modulation of β -Cell Mass during Pregnancy. *Endocrinology*, 150(4), 1618–1626. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1003>
- Huang, W.-J., Hsu, C.-H., Wang, P. S., Chang, F.-Y., & Doong, M.-L. (2008). Expression of Oxytocin Receptor Protein in Gastrointestinal Tract of Lactating Rats. *Biology of Reproduction*, 78(Suppl_1), 104–104. <https://doi.org/10.1093/biolreprod/78.s1.104>
- Hubbard, S. R., & Miller, W. T. (2007). Receptor tyrosine kinases: mechanisms of activation and signaling. *Current Opinion in Cell Biology*, 19(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2007.02.010>
- Huizinga, J. D., Chen, J.-H., Fang Zhu, Y., Pawelka, A., McGinn, R. J., Bardakjian, B. L., Parsons, S. P., Kunze, W. A., Wu, R. Y., Bercik, P., Khoshdel, A., Chen, S.,

- Yin, S., Zhang, Q., Yu, Y., Gao, Q., Li, K., Hu, X., Zarate, N., ... Chen, D. (2014). The origin of segmentation motor activity in the intestine. *Nature Communications*, 5(1), 3326. <https://doi.org/10.1038/ncomms4326>
- Hull, K. L. (2011). *Human Form, Human Function: Essentials of Anatomy & Physiology*. Lippincott Williams & Wilkins. <https://books.google.com.mx/books?id=pUhq9LDcBiMC>
- Jantarajit, W., Thongon, N., Pandaranandaka, J., Teerapornpantakit, J., Krishnamra, N., & Charoenphandhu, N. (2007). Prolactin-stimulated transepithelial calcium transport in duodenum and Caco-2 monolayer are mediated by the phosphoinositide 3-kinase pathway. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(1), E372–E384. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00142.2007>
- Juez García, G., Niño Moya, R., Ortega Weason, R., Mena Nannig, P., Santander Rigollete, S., & González Opazo, M. (2010). *Lactancia Materna CONTENIDOS TÉCNICOS PARA PROFESIONALES DE LA SALUD* (G. Juez García, R. Niño Moya, R. Ortega Weason, P. Mena Nanning, S. Santander Rigollete, & M. González Opazo, Eds.; 2nd ed.). Gobierno de Chile. https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/manual_lactancia_materna.pdf
- Kavarthapu, R., & Dufau, M. L. (2022). Prolactin receptor gene transcriptional control, regulatory modalities relevant to breast cancer resistance and invasiveness. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.949396>
- Kirschstein, T., Rehberg, M., Bajorat, R., Tokay, T., Porath, K., & Köhling, R. (2009). High K⁺-induced contraction requires depolarization-induced Ca²⁺ release from internal stores in rat gut smooth muscle. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(8), 1123–1131. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.98>
- Klein, B. Y., Tamir, H., Hirschberg, D. L., Glickstein, S. B., & Welch, M. G. (2013). Oxytocin modulates mTORC1 pathway in the gut. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 432(3), 466–471. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.01.121>
- Klein, B. Y., Tamir, H., Hirschberg, D. L., Ludwig, R. J., Glickstein, S. B., Myers, M. M., & Welch, M. G. (2016). Oxytocin opposes effects of bacterial endotoxin on ER-stress signaling in Caco2BB gut cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1860(2), 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2015.10.025>
- Klein, B. Y., Tamir, H., Ludwig, R. J., Glickstein, S. B., & Welch, M. G. (2017). Colostrum oxytocin modulates cellular stress response, inflammation, and autophagy

- markers in newborn rat gut villi. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 487(1), 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.04.011>
- Kline, J. B., & Clevenger, C. V. (2001). Identification and Characterization of the Prolactin-binding Protein in Human Serum and Milk. *Journal of Biological Chemistry*, 276(27), 24760–24766. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011786200>
- Lawrence, R. A. (2022). Physiology of Lactation. In *Breastfeeding* (pp. 58–92). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-68013-4.00003-1>
- Lee, E. S., Uhm, K.-O., Lee, Y. M., Kwon, J., Park, S.-H., & Soo, K. H. (2008). Oxytocin stimulates glucose uptake in skeletal muscle cells through the calcium–CaMKK–AMPK pathway. *Regulatory Peptides*, 151(1–3), 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2008.05.001>
- Lewandowska, A., & Zych, B. (2017). Intestinal colic in newborn babies: incidence and methods of proceeding applied by parents. *Journal of Education, Health and Sport*, 7(6), 63–76. <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/4503>
- Li, J., Xue, B., Han, T., Huang, K., Gong, L., Ma, X., Liu, K., Cui, S., Zhang, M., Kunze, W., & Liu, C. (2015). Oxytocin down-regulates mesenteric afferent sensitivity via the enteric <scp>OTR</scp> / <scp>nNOS</scp> / <scp>NO</scp> / K_{ATP} pathway in rat. *Neurogastroenterology & Motility*, 27(1), 51–62. <https://doi.org/10.1111/nmo.12469>
- Linzell, J. L., Peaker, M., & Taylor, J. C. (1975). The effects of prolactin and oxytocin on milk secretion and on the permeability of the mammary epithelium in the rabbit. *The Journal of Physiology*, 253(2), 547–563. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1975.sp011206>
- Lippert, T. H., Mueck, A. O., Seeger, H., & Pfaff, A. (2003). Effects of Oxytocin Outside Pregnancy. *Hormone Research in Paediatrics*, 60(6), 262–271. <https://doi.org/10.1159/000074243>
- Liu, N., Yang, H., Han, L., & Ma, M. (2022). Oxytocin in Women’s Health and Disease. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2022.786271>
- Liu, Y., Hyde, J. F., & Vore, M. (1992). Prolactin regulates maternal bile secretory function post partum. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 261(2), 560–566.
- López-Ramírez, C. E., Arámbula-Almanza, J., & Camarena-Pulido, E. E. (2014). Oxitocina, la hormona que todos utilizan y que pocos conocen. *Ginecol Obstet Mex*, 82, 472–482.

- Lv, Y., Feng, M., Che, T., Sun, H., Luo, Y., Liu, K., & Liu, C. (2010). CCK mediated the inhibitory effect of oxytocin on the contraction of longitudinal muscle strips of duodenum in male rats. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 460(6), 1063–1071. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0880-7>
- Magyar, C. E., White, K. E., Rojas, R., Apodaca, G., & Friedman, P. A. (2002). Plasma membrane Ca^{2+} -ATPase and NCX1 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger expression in distal convoluted tubule cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 283(1), F29–F40. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00252.2000>
- Martín Martínez, B. (2005). Estudio comparativo de la leche de mujer con las leches artificiales. *Anales de Pediatría*, 03, 43–53. <https://www.analesdepediatría.org/es-estudio-comparativo-leche-mujer-con-articulo-13081720>
- Martín Pérez, J. (2010). *Fisiología de la prolactina*.
- Matchkov V. V. (2010). Mechanisms of cellular synchronization in the vascular wall. Mechanisms of vasomotion. *Danish Medical Bulletin*, 57(10)(B4191).
- Meile, T., Glatzle, J., Habermann, F. M., Kreis, M. E., & Zittel, T. T. (2006). Nitric oxide synthase inhibition results in immediate postoperative recovery of gastric, small intestinal and colonic motility in awake rats. *International Journal of Colorectal Disease*, 21(2), 121–129. <https://doi.org/10.1007/s00384-005-0744-3>
- Méndez, I., Cariño, C., & Díaz, L. (2005). La prolactina en el sistema inmunológico: aspectos de síntesis y efectos biológicos. *Revista de Investigación Clínica*, 57(3), 447–456. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762005000300009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Mercado, M., & Baumann, G. (1994). A growth hormone/prolactin-binding protein in human milk. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 79(6), 1637–1641. <https://doi.org/10.1210/jcem.79.6.7989468>
- Minchala-Urgiles, R. E., Ramírez-Coronel, A. A., Estrella-González, M. de los Á., Altamirano-Cárdenas, L. F., Pogyo-Morocho, G. L., Andrade-Molina, M. C., Sarmiento-Pesántez, M. M., González-León, F. M., Abad-Martínez, N. I., Cordero-Zumba5, N. B., Romero-Galabay, I. M., & Caizaguano-Dutan, M. K. (2021). *La lactancia materna como alternativa para la prevención de enfermedades materno-infantiles: Revisión sistemática*. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.4543500>
- Molinari, C., Grossini, E., Mary, D. A. S. G., Uberti, F., Ghigo, E., Ribichini, F., Surico, N., & Vacca, G. (2007). Prolactin Induces Regional Vasoconstriction through the β_2 -Adrenergic and Nitric Oxide Mechanisms. *Endocrinology*, 148(8), 4080–4090. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1577>

- Montagnani, M., Chen, H., Barr, V. A., & Quon, M. J. (2001). Insulin-stimulated Activation of eNOS Is Independent of Ca²⁺ but Requires Phosphorylation by Akt at Ser1179. *Journal of Biological Chemistry*, 276(32), 30392–30398. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103702200>
- Moscoso, F. J., & Quera, R. P. (2016). Enfermedad celíaca. Revisión. In *Rev Med Chile* (Vol. 144).
- Nagy, J. I., Urena-Ramirez, V., & Ghia, J.-E. (2014). Functional alterations in gut contractility after connexin36 ablation and evidence for gap junctions forming electrical synapses between nitrergic enteric neurons. *FEBS Letters*, 588(8), 1480–1490. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.002>
- Nakkrasae, L., Thongon, N., Thongbunchoo, J., Krishnamra, N., & Charoenphandhu, N. (2010). Transepithelial calcium transport in prolactin-exposed intestine-like Caco-2 monolayer after combinatorial knockdown of TRPV5, TRPV6 and Cav1.3. *The Journal of Physiological Sciences*, 60(1), 9. <https://doi.org/10.1007/s12576-009-0068-0>
- Neville, M. C., & Morton, J. (2001). Simposio: Lactogénesis II en mujeres: mecanismos, determinantes y consecuencias. *J. Nutr.* <https://amamantarasturias.org/wp-content/uploads/2019/11/lactogenesis.pdf>
- Noceto Turk, P. C., Montes, C. G., Couyoupetrou, M., Llauro, V. S., & Pesce, G. O. (2018). Puesta a punto de la técnica de Ussing Chamber para estudios de permeabilidad intestinal en tejido de cerdo. *Ciencia Reguladora*, 23–26. <http://fi-admin.bvsalud.org/document/view/vfac2>
- Oae, S., & Okuyama, T. (1992). *Organic Sulfur Chemistry: Biochemical Aspects*. Taylor & Francis. https://books.google.com.mx/books?id=Cf5-iJ7BX_UC
- Okumura, T., Nozu, T., Ishioh, M., Igarashi, S., Funayama, T., Kumei, S., & Ohhira, M. (2022). Oxytocin acts centrally in the brain to improve leaky gut through the vagus nerve and a cannabinoid signaling in rats. *Physiology & Behavior*, 254, 113914. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2022.113914>
- Olesen, M., Gudmand-Hoyer, E., Holst, J. J., & Jorgensen, S. (1999). Importance of Colonic Bacterial Fermentation in Short Bowel Patients (Small Intestinal Malabsorption of Easily Digestible Carbohydrate). *Digestive Diseases and Sciences*, 44(9), 1914–1923. <https://doi.org/10.1023/A:1018819428678>
- OpenAI. (2024). ChatGTP. In *ChatGTP*.
- Ostrom, K. M. (1990). A review of the hormone prolactin during lactation. *Progress in Food & Nutrition Science*, 14(1), 1–43.

- Padmanabha Pillai, N., Ramaswamy, S., Gopalakrishnan, V., & Ghosh, M. N. (1981). Contractile effect of prolactin on guinea pig isolated ileum. *European Journal of Pharmacology*, 72(1), 11–16. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(81\)90291-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(81)90291-0)
- Palmieri, E. M., Gonzalez-Cotto, M., Baseler, W. A., Davies, L. C., Ghesquière, B., Maio, N., Rice, C. M., Rouault, T. A., Cassel, T., Higashi, R. M., Lane, A. N., Fan, T. W.-M., Wink, D. A., & McVicar, D. W. (2020). Nitric oxide orchestrates metabolic rewiring in M1 macrophages by targeting aconitase 2 and pyruvate dehydrogenase. *Nature Communications*, 11(1), 698. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14433-7>
- Parsons, S. P., & Huizinga, J. D. (2021). Nitric Oxide Is Essential for Generating the Minute Rhythm Contraction Pattern in the Small Intestine, Likely via ICC-DMP. *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.592664>
- Patiño, N. M. (2008). *Farmacología médica/ Medical Pharmacology*. Editorial Médica Panamericana. <https://books.google.com.mx/books?id=EUBNE4Y0v9sC>
- Peng, J.-B., Chen, X.-Z., Berger, U. V., Weremowicz, S., Morton, C. C., Vassilev, P. M., Brown, E. M., & Hediger, M. A. (2000). Human Calcium Transport Protein CaT1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 278(2), 326–332. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3716>
- Petryk, A., Fleenor, D., Driscoll, P., & Freemark, M. (2000). Prolactin induction of insulin gene expression: the roles of glucose and glucose transporter-2. *Journal of Endocrinology*, 164(3), 277–286. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1640277>
- Pevzner, M., & Dahan, A. (2020). Mastitis While Breastfeeding: Prevention, the Importance of Proper Treatment, and Potential Complications. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 1–6. <https://doi.org/10.3390/JCM9082328>
- Picciano, M. F. (2001). Nutrient Composition of Human Milk. *Pediatric Clinics of North America*, 48(1), 53–67. [https://doi.org/10.1016/S0031-3955\(05\)70285-6](https://doi.org/10.1016/S0031-3955(05)70285-6)
- Pillay J., & Davis TJ. (2023, July). *Physiology, lactation*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499981/>
- Porras, I. C., & Polo, A. V. (2016). *Nutrición en pediatría y neonatología*.
- Postel-Vinay, M. C., Belair, L., Kayser, C., Kelly, P. A., & Djiane, J. (1991). Identification of prolactin and growth hormone binding proteins in rabbit milk. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(15), 6687–6690. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.15.6687>
- Pourbagher-Shahri, A. M., Farkhondeh, T., Talebi, M., Kopustinskiene, D. M., Samarghandian, S., & Bernatoniene, J. (2021). An Overview of NO Signaling

Pathways in Aging. *Molecules*, 26(15), 4533.
<https://doi.org/10.3390/molecules26154533>

Powe, C. E., Knott, C. D., & Conklin-Brittain, N. (2010). Infant sex predicts breast milk energy content. *American Journal of Human Biology*, 22(1), 50–54.
<https://doi.org/10.1002/ajhb.20941>

Powe, C. E., Knott, C. D., & Conklin-Brittain, N. (2010). Infant sex predicts breast milk energy content. *American Journal of Human Biology*, 22(1), 50–54.
<https://doi.org/10.1002/ajhb.20941>

Price, K. R., Lewis, J., Wyatt, G. M., & Fenwick, G. R. (1988). Review article Flatulence — Causes, relation to diet and remedies. *Food / Nahrung*, 32(6), 609–626.
<https://doi.org/10.1002/food.19880320626>

Ramos-Martinez, E., Ramos-Martínez, I., Molina-Salinas, G., Zepeda-Ruiz, W. A., & Cerbon, M. (2021). The role of prolactin in central nervous system inflammation. *Reviews in the Neurosciences*, 32(3), 323–340. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2020-0082>

Richa, V., Rahul, G., & Sarika, A. (2010). Macroprolactin; a frequent cause of misdiagnosed hyperprolactinemia in clinical practice. *Journal of Reproduction & Infertility*, 11(3), 161–167.

Sabillón, F., & Abdu, B. (1997). Composición de la Leche Materna. *HONDURAS PEDIÁTRICA*, XVÜI-No. 4, 120–124. <http://www.bvs.hn/RHP/pdf/1997/pdf/Vol18-4-1997-7.pdf>

Sadideen, H., & Swaminathan, R. (2006). Macroprolactin: what is it and what is its importance? *International Journal of Clinical Practice*, 60(4), 457–461.
<https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2006.00732.x>

Salazar, S., Chávez, M., Delgado, X., & Eudis Rubio, T. P. (2009). Lactancia materna. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 72(4), 163–166.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492009000400010&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Salvo-Romero, E., Alonso-Cotoner, C., Pardo-Camacho, C., Casado-Bedmar, M., & Vicario, M. (2015). Función barrera intestinal y su implicación en enfermedades digestivas. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 107(11), 686–696.
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082015001100007&lng=es&nrm=iso&tlng=en

Sanés Espert, A. (2003). Leche materna, un alimento único. *Natura Medicatrix: Revista Médica Para El Estudio y Difusión de Las Medicinas Alternativas*, ISSN 0212-9078, Vol. 21, N°. 6, 2003, Págs. 345-349, 21(6), 345–349.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4914531&info=resumen&idioma=ENG>

- Schultz, I., & Keita, A. V. (2020). The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. *Cells*, 9(8), 1909. <https://doi.org/10.3390/cells9081909>
- Seignalet, J., Coll, M. R., & Verdugo, J. M. G. (2014). *Alimentación, la tercera medicina*. Integral. <https://books.google.com.mx/books?id=gz7ODwAAQBAJ>
- Sjölund, K., Ohlsson, B., Rehfeld, J. F., & Forsling, M. L. (2002). Cholecystokinin Stimulation Leads to Increased Oxytocin Secretion in Women. *The European Journal of Surgery*, 168(2), 114–118. <https://doi.org/10.1080/11024150252884340>
- Skelly, C. L., Zulfiqar, H., & Sankararaman, S. (2022). Meconium. *The Lancet*, 270(6987), 178. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(57\)90624-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(57)90624-4)
- Sorenson, R. L., & Brelje, T. C. (2009). Prolactin Receptors Are Critical to the Adaptation of Islets to Pregnancy. *Endocrinology*, 150(4), 1566–1569. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1710>
- Stuebe, A. M. (2022). 15 - Medical Complications of Mothers. In R. A. Lawrence & R. M. Lawrence (Eds.), *Breastfeeding (Ninth Edition)* (pp. 546–571). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-68013-4.00015-8>
- Takahashi, T. (2003). Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *Journal of Gastroenterology*, 38(5), 421–430. <https://doi.org/10.1007/s00535-003-1094-y>
- Takeda, S., Kuwabara, Y., & Mizuno, M. (1986). Concentrations and origin of oxytocin in breast milk. *Endocrinologia Japonica*, 33(6), 821–826. <https://doi.org/10.1507/endocrj1954.33.821>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2018). *Principios de anatomía y fisiología*. Editorial Médica Panamericana. <https://books.google.com.mx/books?id=tQK-twEACAAJ>
- Van Cromphaut, S. J., Dewerchin, M., Hoenderop, J. G. J., Stockmans, I., Van Herck, E., Kato, S., Bindels, R. J. M., Collen, D., Carmeliet, P., Bouillon, R., & Carmeliet, G. (2001). Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor–knockout mice: Functional and molecular aspects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(23), 13324–13329. <https://doi.org/10.1073/pnas.231474698>
- Vargas, D. (2019, July 22). *EJE HIPOTALAMO HIPOFISIS, HORMONA DE CRECIMIENTO, PROLACTINA, ADH, OXITOCINA |Fisio-Endocrino|2*. Youtube. https://www.youtube.com/watch?v=bK515VppZIs&ab_channel=DavidVargas

- Velásquez, N., & Fernández-Michelena, M. (2004). Secreción extrahipofisaria de prolactina. Revisión. In *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela* (Vol. 64, Issue 1). Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Venezuel. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322004000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Viero, C., Shibuya, I., Kitamura, N., Verkhatsky, A., Fujihara, H., Katoh, A., Ueta, Y., Zingg, H. H., Chvatal, A., Sykova, E., & Dayanithi, G. (2010). REVIEW: Oxytocin: Crossing the Bridge between Basic Science and Pharmacotherapy. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16(5). <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00185.x>
- Voogt, J. L., Lee, Y., Yang, S., & Arbogast, L. (2001). *Chapter 12 Regulation of prolactin secretion during pregnancy and lactation* (pp. 173–185). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(01\)33013-3](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(01)33013-3)
- Wang, Y., Song, J., Sun, H., Xu, F., Li, K., Nie, C., Zhang, X., Peng, X., Xia, L., Shen, Z., Yuan, X., Zhang, S., Ding, X., Zhang, Y., Kang, W., Qian, L., Zhou, W., Wang, X., Cheng, X., & Zhu, C. (2020). Erythropoietin prevents necrotizing enterocolitis in very preterm infants: a randomized controlled trial. *Journal of Translational Medicine*, 18(1), 308. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02459-w>
- Welch, M. G., Anwar, M., Chang, C. Y., Gross, K. J., Ruggiero, D. A., Tamir, H., & Gershon, M. D. (2010). Combined administration of secretin and oxytocin inhibits chronic colitis and associated activation of forebrain neurons. *Neurogastroenterology & Motility*, 22(6), 654-e202. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2010.01477.x>
- Welch, M. G., Margolis, K. G., Li, Z., & Gershon, M. D. (2014). Oxytocin regulates gastrointestinal motility, inflammation, macromolecular permeability, and mucosal maintenance in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 307(8), G848–G862. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00176.2014>
- Welch, M. G., & Ruggiero, D. A. (2005). *Predicted role of secretin and oxytocin in the treatment of behavioral and developmental disorders: implications for autism* (pp. 273–315). [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(05\)71012-6](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(05)71012-6)
- Welch, M. G., Tamir, H., Gross, K. J., Chen, J., Anwar, M., & Gershon, M. D. (2009). Expression and developmental regulation of oxytocin (OT) and oxytocin receptors (OTR) in the enteric nervous system (ENS) and intestinal epithelium. *The Journal of Comparative Neurology*, 512(2), 256–270. <https://doi.org/10.1002/cne.21872>
- Wittmeyer, V., Merrot, T., & Mazet, B. (2010). Tonic inhibition of human small intestinal motility by nitric oxide in children but not in adults. *Neurogastroenterology & Motility*, 22(10), 1078-e282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2010.01532.x>

- Wongdee, K., Teerapornpuntakit, J., Sripong, C., Longkunan, A., Chankamngoen, W., Keadsai, C., Kraidith, K., Krishnamra, N., & Charoenphandhu, N. (2016). Intestinal mucosal changes and upregulated calcium transporter and FGF-23 expression during lactation: Contribution of lactogenic hormone prolactin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 590, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.11.038>
- Xu, Q., Zhuo, K., Zhang, X., Zhang, Y., Xue, J., & Zhou, M.-S. (2022). Oxytocin-induced endothelial nitric oxide dependent vasorelaxation and ERK1/2-mediated vasoconstriction in the rat aorta. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 26(4), 255–262. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2022.26.4.255>
- Zhang, L., Zhao, Y., Ning, Y., Wang, H., & Zan, L. (2017). Ectopical expression of FABP4 gene can induce bovine muscle-derived stem cells adipogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(2), 352–358. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.11.067>