

Efecto hipoglicemiante de la NeuroEPO en ratas con y sin diabetes *mellitus*

Hypoglycemic effect of NeuroEPO in diabetic and non-diabetic rats

Tammy Fernández Romero¹, Sonia Clapés Hernández¹, Carlos Luis Pérez Hernández^{1*}
José Javier Barreto López¹, Gisselle Fernández Peña¹

¹Universidad de Ciencias Médicas de La Habana,
Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: carlosph@infomed.sld.cu

Cómo citar este artículo

Fernández Romero T, Clapés Hernández S, Pérez Hernández CL, Barreto López JJ, Fernández Peña G. Efecto hipoglicemiante de la NeuroEPO en ratas con y sin diabetes mellitus. Rev haban cienc méd [Internet]. 2022 [citado]; 21(1):e4617. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4617>

Recibido: 19 de Diciembre del año 2021
Aprobado: 10 de Febrero del año 2022

RESUMEN

Introducción: La NeuroEPO es una variante no-hematopoyética de la eritropoyetina recombinante humana, que pudiera tener efecto hipoglicemiante.

Objetivo: Evaluar la influencia de la NeuroEPO sobre la glicemia de ratas con diabetes *mellitus* y ratas no-diabéticas.

Material y Métodos: Se realizaron experimentos en ratas Wistar con diabetes inducida por estreptozotocina, con y sin tratamiento con insulina, y en ratas no-diabéticas con una sobrecarga de glucosa. En cada experimento, un grupo recibió una inyección subcutánea de NeuroEPO (0,5 mg/kg) y otro el vehículo, y se determinó la glicemia durante 120 minutos. Se realizaron comparaciones mediante análisis de varianza de una y dos vías, seguidas por la prueba de Bonferroni. Las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$.

Resultados: En las ratas diabéticas sin tratamiento con insulina, los niveles de glicemia del grupo con NeuroEPO disminuyeron de forma significativa. En las ratas no-diabéticas que recibieron NeuroEPO y una sobrecarga de glucosa, la glicemia fue similar al grupo control. En las ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO e insulina la reducción de la glicemia fue mayor que en el grupo que solo recibió insulina.

Conclusiones: La NeuroEPO tiene un efecto hipoglicemiante en ratas diabéticas, por un mecanismo insulínico que muestra sinergismo con la insulina en el tratamiento de la hiperglicemia. Sin embargo, la NeuroEPO no influye en la tolerancia a la glucosa de ratas no-diabéticas, al menos de forma inmediata. Es necesario profundizar en los mecanismos mediante los cuales la NeuroEPO puede reducir la hiperglicemia, y la influencia de esta sustancia en condiciones de normoglicemia.

Palabras Claves:

Eritropoyetina y citoprotección, NeuroEPO, diabetes *mellitus*, estreptozotocina, prueba de tolerancia a la glucosa, prueba de tolerancia a la insulina.

ABSTRACT

Introduction: NeuroEPO is a non-hematopoietic variant of human recombinant erythropoietin, which may have a hypoglycemic effect.

Objectives: To evaluate the influence of NeuroEPO on glycemia in diabetic and non-diabetic rats.

Material and Methods: The experiments were conducted in Wistar rats with streptozotocin-induced diabetes with and without insulin treatment, and in non-diabetic rats with glucose overload. In each experiment, one group received a subcutaneous injection of NeuroEPO (0.5 mg/kg) and the other group received a vehicle. Glycemia was determined in 120 min. Comparisons were made using one-and two-way analysis of variance, followed by the Bonferroni test. The differences were considered significant with p values $< 0,05$.

Results: In diabetic rats without insulin treatment, glycemic levels decreased significantly in the group that received NeuroEPO. In nondiabetic rats that received NeuroEPO and a glucose overload, glycemia was similar to that in the control group. In diabetic rats that received NeuroEPO and insulin, the glycemia reduction was greater than in the group that only received insulin.

Conclusions: NeuroEPO has a hypoglycemic effect in diabetic rats due to an insulinotropic mechanism that shows synergism with insulin in the treatment of hyperglycemia. However, NeuroEPO does not influence the glucose tolerance in non-diabetic rats, at least immediately. It is necessary to delve into the mechanisms by which NeuroEPO can reduce hyperglycemia and the influence of this substance under conditions of normoglycemia.

Keywords:

diabetes *mellitus*; erythropoietin and cytoprotection; glucose tolerance test; insulin tolerance test; NeuroEPO; streptozotocin.

INTRODUCCIÓN

La diabetes *mellitus* (diabetes) es un síndrome heterogéneo, caracterizado por hiperglicemia crónica y trastornos en el metabolismo de los glúcidos, los lípidos y las proteínas, como consecuencia de un déficit absoluto o relativo de la secreción de insulina, o resistencia a la acción de esta hormona. Su origen es multifactorial y entre sus causas se encuentran factores genéticos, ambientales, inmunológicos y virales.⁽¹⁾

Las estadísticas de diabetes indican que constituye un importante problema de salud en el mundo. El incremento notable de la morbilidad y mortalidad por diabetes ha determinado que actualmente sea reconocida como una verdadera pandemia.⁽¹⁾ Las estadísticas en Cuba, sitúan a la diabetes entre las 10 primeras causas de muerte,⁽²⁾ como ocurre a nivel mundial.

Hasta la fecha no existe cura para la diabetes y la herramienta más eficaz para disminuir las complicaciones continúa siendo el estricto control metabólico. Sin embargo, es difícil lograr un control metabólico estable en los pacientes diabéticos, por lo que se hace necesario evaluar nuevas estrategias de tratamiento.⁽³⁾

La eritropoyetina (EPO) es una glicoproteína cuya función primaria es estimular la eritropoyesis, pero durante los últimos años se ha demostrado su distribución y la de su receptor en tejidos no hematopoyéticos,⁽⁴⁾ lo cual sugiere que está implicada en otras actividades fisiológicas. El efecto no hematopoyético de la EPO que ha sido bien documentado es la protección y reparación de tejidos dañados, a lo cual contribuyen sus acciones angiogénicas, antiapoptóticas, antiinflamatorias, neurotróficas y antioxidantes.⁽⁴⁾

El efecto citoprotector de la EPO es mediado por un receptor distinto del vinculado a la eritropoyesis (EPOR), conocido como TPR (del inglés *tissue protective receptor*), el cual se expresa principalmente en tejido lesionado o estresado metabólicamente; su expresión precede al aumento local de la producción tisular de EPO, por lo que la aplicación de EPO exógena podría acelerar los mecanismos citoprotectores innatos.⁽⁵⁾

La EPO recombinante humana (rhuEPO) ha sido muy utilizada en el tratamiento de varios tipos de anemias,⁽⁴⁾ pero existen múltiples estudios de su influencia en la recuperación de tejidos dañados en órganos como el cerebro,^(6,7,8) el corazón,^(9,10) los pulmones⁽¹¹⁾ y el músculo esquelético.⁽¹²⁾

Además, existen evidencias de que la rhuEPO reduce la glicemia en condiciones de hiperglicemia, por lo que se han incrementado las investigaciones sobre su potencial papel citoprotector en la diabetes.^(13,14,15,16,17,18)

Por otra parte, se sabe que la activación de los receptores de la EPO en tejidos no hematopoyéticos requiere concentraciones de EPO mayores que las necesarias para estimular la eritropoyesis. Como consecuencia, el empleo de altas dosis de rhuEPO produce efectos adversos asociados a la estimulación de vías hematopoyéticas y pro-cuagulantes, en especial la hipertensión y el tromboembolismo venoso.⁽⁴⁾ Por tal motivo, el uso clínico de la rhuEPO en la protección de tejidos se ha visto limitado y se han desarrollado derivados que potencian los efectos citoprotectores, pero sin acciones hematopoyéticas.^(4,5)

En el Centro de Inmunología Molecular de Cuba, durante la producción de la rhuEPO se obtiene una variante con bajo contenido de ácido siálico, conocida como NeuroEPO.⁽¹⁹⁾ El uso de una formulación nasal que contiene como principio activo la NeuroEPO, ha mostrado neuroprotección en modelos como la isquemia cerebral^(19,20,21) y la enfermedad de Alzheimer,^(19,22,23) sin efectos adversos a nivel hematológico.^(19,24)

Teniendo en cuenta las evidencias de que la rhuEPO reduce la glicemia en la diabetes *mellitus*, el **objetivo** del presente trabajo es evaluar la influencia de la NeuroEPO sobre la glicemia de ratas con diabetes *mellitus* y ratas no-diabéticas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental en ratas Wistar (**Figura 1**), obtenidas del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) de Cuba, siguiendo los preceptos éticos establecidos.⁽²⁵⁾ Los experimentos se realizaron en los laboratorios del Departamento de Bioquímica del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", entre 2019 y 2020. En cada grupo se empleó un número de animales similar al reportado en investigaciones previas, en las que se evaluó la homeostasis de la glucosa en ratas diabéticas.^(13,15,16,17,26)

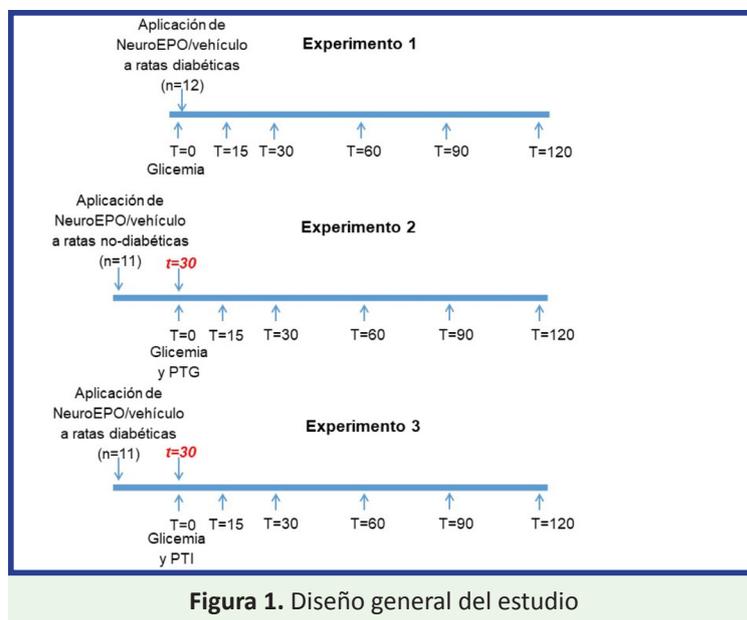


Figura 1. Diseño general del estudio

Se realizaron 3 experimentos en ratas Wistar con 6 horas de ayuno iniciado en la mañana. T: tiempo (minutos) en que se determinó la glicemia; PTG: prueba de tolerancia a la glucosa; PTI: prueba de tolerancia a la insulina. En los experimentos 2 y 3, la primera glicemia (T0) se realizó a los 30 minutos (t=30) de administrada la NeuroEPO o el vehículo.

Animales y condiciones ambientales

Se emplearon ratas hembras, fértiles y vírgenes, con peso inicial de 200 g \pm 20 g, que fueron mantenidas en cajas independientes, con ciclos constantes de luz y oscuridad, a una temperatura de 21 - 23 °C, y con libre acceso a alimento estándar⁽²⁶⁾ (CENPALAB) y agua filtrada. Los animales se mantuvieron durante una semana en adaptación al medio antes de comenzar los procedimientos.

Inducción de la diabetes

Para provocar la diabetes en las ratas se administró una inyección intraperitoneal de estreptozotocina (SIGMA), 65 mg/kg en 200 μ L de *buffer* citrato de sodio 0,1 M pH 4,5; una semana después se determinó la glicemia y se consideraron diabéticas las ratas con glicemia superior a 11 mM.⁽²⁶⁾ Una vez diagnosticada la diabetes, las ratas se distribuyeron de forma aleatoria en los grupos de estudio.

Preparados y vía de administración

Se utilizó NeuroEPO y vehículo (suministrados por el Centro de Inmunología Molecular de Cuba), que se administraron a los grupos correspondientes por vía subcutánea, en la región dorsal de los animales. La dosis de NeuroEPO evaluada fue 0,5 mg/kg y del vehículo se administró igual volumen que de NeuroEPO.

Determinación de la glicemia

Previo a cada experimento, las ratas se mantuvieron en un ayuno de seis horas iniciado en la mañana.⁽²⁷⁾ Las glicemias se determinaron con un glucómetro SUMA y sus biosensores, en sangre obtenida mediante un corte en la punta de la cola del animal. Los resultados se analizaron como el porcentaje de la glicemia inicial (%);⁽²⁶⁾ se consideró la glicemia inicial como 100 % y correspondió con la glicemia en el tiempo 0 de cada experimento.

Experimento 1

Con el objetivo de evaluar la influencia de la NeuroEPO sobre la glicemia de ratas diabéticas, se utilizaron dos grupos de 12 ratas cada uno:

- D-NeuroEPO: ratas diabéticas que recibieron una aplicación única de la dosis de NeuroEPO.
- D-vehículo: ratas diabéticas que recibieron una aplicación única del vehículo.

La glicemia se determinó antes de administrar la NeuroEPO o el vehículo (tiempo 0), y a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos de suministrada la sustancia correspondiente.

Experimento 2

Con el objetivo de evaluar la influencia de la NeuroEPO sobre la tolerancia a la glucosa de ratas no-diabéticas, se emplearon dos grupos de 11 ratas cada uno:

- ND-NeuroEPO: ratas sanas que recibieron una aplicación única de la dosis de NeuroEPO, seguida de una prueba de tolerancia a la glucosa.
- ND-vehículo: ratas sanas que recibieron una aplicación única del vehículo, seguida de una prueba de tolerancia a la glucosa.

A los 30 minutos de la aplicación de la NeuroEPO o el vehículo, se determinó la glicemia (tiempo 0) y se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa; la prueba consistió en administrar una solución de glucosa 2 g/kg por vía oral, mediante sonda, y luego determinar la glicemia a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.⁽²⁷⁾

Experimento 3

Con el objetivo de evaluar la influencia de la combinación de NeuroEPO e insulina sobre la glicemia de ratas diabéticas, se utilizaron dos grupos de 11 ratas cada uno:

- D-NeuroEPO-insulina: ratas diabéticas que recibieron una aplicación única de la dosis de NeuroEPO, seguida de una prueba de tolerancia a la insulina.
- D-vehículo-insulina: ratas diabéticas que recibieron una aplicación única del vehículo, seguida de una prueba de tolerancia a la insulina.

A los 30 minutos de la aplicación de la NeuroEPO o el vehículo, se determinó la glicemia (tiempo 0) y se realizó una prueba de tolerancia a la insulina; la prueba consistió en administrar 0,75 UI/kg de insulina por vía subcutánea en el área dorsal de la rata, y luego determinar la glicemia a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.⁽²⁷⁾

Procesamiento estadístico

Se empleó el programa GraphPad Prism, versión 5.01. Las comparaciones se realizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía y de dos vías, seguidas de la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni. Las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$. Los resultados se expresaron como valores de la media y el error estándar de la media.

Los datos primarios de esta investigación se encuentran depositados en Mendeley Data como principio de acceso abierto a la información.⁽²⁸⁾

La investigación forma parte de un proyecto Nacional del Ministerio de Salud Pública de Cuba (código 1901086).

RESULTADOS

En el experimento 1, en el que se administró la NeuroEPO o el vehículo a ratas diabéticas sin tratamiento con insulina, se observó una reducción de la glicemia en el grupo que recibió la NeuroEPO, que llegó a ser significativa a los 120 minutos con respecto a la glicemia basal y a la del grupo con el vehículo (**Figura 2 A**).

Al analizar los resultados del experimento 2, en el que se administró la NeuroEPO o el vehículo a ratas no-diabéticas y luego se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa, se encontraron niveles de glicemia similares en ambos grupos (**Figura 2 B**).

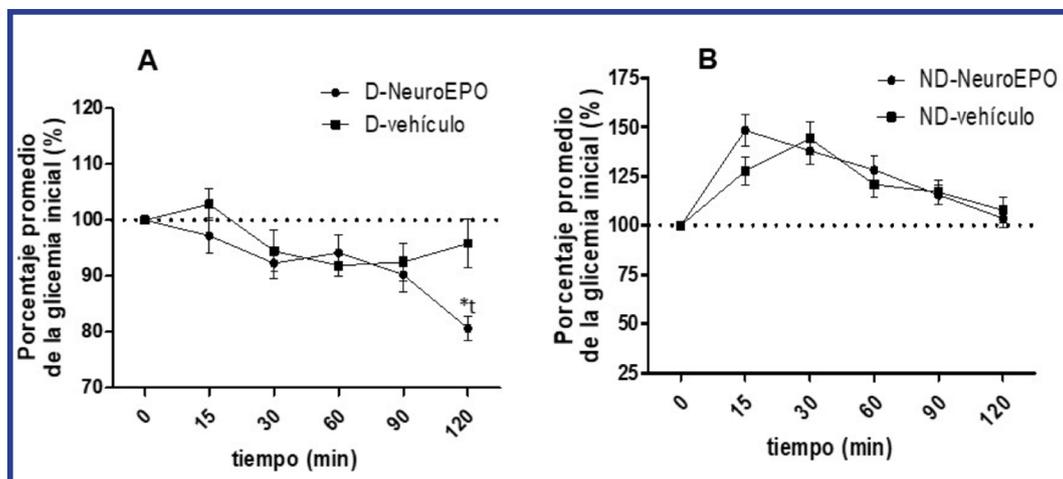


Figura 2- Glicemias de ratas diabéticas y no-diabéticas, inyectadas con NeuroEPO o vehículo

El tiempo 0 y la línea de puntos corresponden con la glicemia inicial determinada A) antes y B) 30 minutos después de la inyección subcutánea de NeuroEPO (0,5 mg/kg) o vehículo. En cada tiempo, se muestra el porcentaje promedio con respecto a la glicemia inicial y el error estándar de la media.

A) Ratas diabéticas inyectadas con NeuroEPO (D-NeuroEPO) o vehículo (D-vehículo). n=12 en cada grupo. * $p < 0,05$ con respecto a la glicemia inicial (ANOVA de una vía y prueba de Bonferroni). t $p < 0,01$ con respecto al grupo con vehículo (ANOVA de dos vías y prueba de Bonferroni).

B) Ratas no-diabéticas inyectadas con NeuroEPO (ND-NeuroEPO) o vehículo (ND-vehículo) y una prueba de tolerancia a la glucosa (2 g/kg de glucosa por vía oral). n=11 en cada grupo. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de dos vías $p > 0,05$).

Los resultados del experimento 3, en el que se administró la NeuroEPO o el vehículo a ratas diabéticas y luego se realizó una prueba de tolerancia a la insulina, mostraron que la glicemia del grupo que recibió NeuroEPO e insulina disminuyó significativamente con respecto al grupo que recibió vehículo e insulina (**Figura 3**).

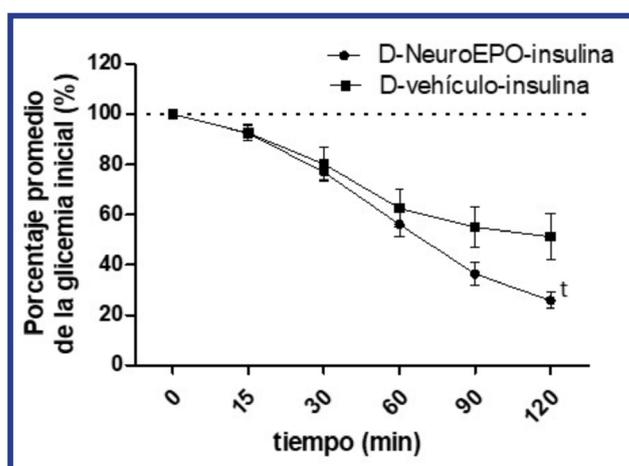


Figura 3- Glicemia de ratas diabéticas que recibieron insulina luego de una inyección de NeuroEPO o vehículo

Se aplicó una inyección subcutánea de NeuroEPO (0,5 mg/kg) o vehículo. A los 30 min se determinó la glicemia (glicemia inicial, representada por el tiempo 0 y la línea de puntos) y se administraron 0,75 UI/kg de insulina por vía subcutánea. En cada tiempo, se muestra el porcentaje promedio con respecto a la glicemia inicial y el error estándar de la media (n=11).

D-NeuroEPO-insulina: ratas diabéticas inyectadas con NeuroEPO e insulina. D-vehículo-insulina: ratas diabéticas inyectadas con vehículo e insulina. t $p < 0,01$ con respecto al grupo con vehículo (ANOVA de dos vías y prueba de Bonferroni).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo los resultados mostraron que una inyección subcutánea de 0,5 mg/kg de NeuroEPO redujo la hiperglicemia de las ratas diabéticas sin tratamiento con insulina, pero no modificó la glicemia de las ratas no-diabéticas que recibieron una sobrecarga de glucosa por vía oral. Además, se observó una reducción mayor de la glicemia en las ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO e insulina, en comparación con las que solo recibieron insulina.

En otros estudios se ha encontrado una reducción de la glicemia en ratas diabéticas luego de la administración de EPO, asociada a una disminución de la expresión de la fosfoenolpirúvico carboxiquinasa (PEPCK) y de la intensidad de la gluconeogénesis hepática. También se ha observado un aumento de la forma fosforilada de la AMPK (quinasa dependiente de AMP), que es la forma más activa de la enzima, asociado a la reducción de la expresión de la PEPCK.^(16,29)

Las evidencias indican que la disminución de la gluconeogénesis hepática es uno de los mecanismos mediante los cuales la EPO pudiera tener efecto hipoglicemiante en ratas diabéticas. Sin embargo, esas investigaciones se han efectuado luego de varias aplicaciones de la EPO, a diferencia del estudio actual en el que se realizó una administración única de una dosis de la NeuroEPO.

Un mecanismo que pudiera explicar la reducción de la hiperglicemia en ratas diabéticas luego de una aplicación única de una dosis de NeuroEPO, es la estimulación del consumo de glucosa por los tejidos, no mediada por la acción de la insulina endógena. Está demostrado que la administración de estreptozotocina a ratas destruye las células beta del páncreas y genera un modelo de diabetes tipo 1, en el que los niveles remanentes de insulina en sangre pueden ser solo de 4-8 % de los que se encuentran en ratas no-diabéticas.^(16,17) Además, en ratas no-diabéticas se ha observado que la insulinemia no se incrementa luego de una aplicación única de una dosis de EPO.⁽¹⁶⁾

En un estudio previo, se observó un aumento de la expresión de los EPOR en músculo esquelético de ratas diabéticas, que se revirtió con el tratamiento con insulina, así como en células musculares cultivadas en condiciones de alta concentración de glucosa.⁽¹⁷⁾ Además, se conoce que la expresión de los EPOR es estimulada por citocinas proinflamatorias en ambientes de estrés metabólico.⁽⁵⁾ Lo anterior sugiere que en la diabetes se produce un incremento de la expresión de los EPOR, como consecuencia de la hiperglicemia y el estado pro-inflamatorio, que puede favorecer la acción de la EPO exógena; un mecanismo similar pudiera explicar la reducción de la hiperglicemia de las ratas diabéticas que recibieron la NeuroEPO, en el cual pueden participar los TPR.

Resultados similares a los obtenidos en esta investigación fueron publicados por Niu H. *et al.*⁽¹⁶⁾ quienes observaron una reducción en la glicemia de ratas diabéticas luego de una única aplicación de una dosis de EPO. Los investigadores encontraron un aumento de la forma fosforilada de la AMPK, asociado a un incremento en la expresión de los transportadores de glucosa GLUT4 en el músculo esquelético de las ratas que recibieron la EPO.

La interacción de la EPO con los TPR activa múltiples vías de señalización, en las que el paso inicial es la autofosforilación de Janus Kinasa 2 (Jak2). Como resultado, se activan tres vías principales, una de las cuales es la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/proteína quinasa B (PKB) o Akt. La vía PI3K/Akt se relaciona con la inhibición de la apoptosis, la reducción de la inflamación, el incremento del flujo de sangre y la recuperación del tejido dañado.⁽⁵⁾ Además, la PI3K/Akt es una de las vías mediante las cuales la insulina incrementa la entrada de glucosa a las células musculares y adipocitos, por estimulación de la translocación de los GLUT4 a la membrana de estas células.^(30,31) Lo anterior evidencia que la EPO pudiera incrementar la entrada de glucosa a los tejidos por activación de una vía de señalización común a la activada por la insulina.

Por otra parte, estudios previos han mostrado que la EPO no reduce la glicemia en ratas no-diabéticas,^(13,14) similar a lo observado en la presente investigación con el empleo de la NeuroEPO. Los resultados de conjunto sugieren que la hiperglicemia pudiera provocar una sobreexpresión de los receptores de la NeuroEPO, con lo cual se incrementaría la interacción NeuroEPO-receptor y, como consecuencia, la translocación de los GLUT4 y la entrada de glucosa a los tejidos.

El hecho de que la NeuroEPO no modificara la glicemia en ratas no-diabéticas aportaría seguridad a los pacientes no-diabéticos que reciban esta sustancia por otras causas, ya que no sufrirían episodios de hipoglicemia como efecto adverso. No obstante, se debe profundizar en este resultado, ya que en la investigación actual solo se evaluó la influencia de una aplicación única de la NeuroEPO sobre la tolerancia a la glucosa de ratas no-diabéticas.

Otro resultado de esta investigación muestra una reducción mayor de la glicemia de las ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO e insulina, con respecto a las que solo recibieron insulina. En otros estudios se ha observado que la administración de EPO incrementa la sensibilidad a la insulina en la diabetes, tanto en ratas,^(14,16,29) como en humanos.⁽³¹⁾ En uno de esos estudios, la administración de EPO a ratas con diabetes tipo 2 incrementó la expresión de los EPOR en el músculo esquelético, la fosforilación y activación de moléculas señales, como PI3K y Akt, la translocación de los GLUT4 y la autofagia, además de reducir la apoptosis.⁽²⁹⁾ Los resultados indican que la EPO pudiera reducir la resistencia a la insulina en la diabetes por mecanismos que implican la interacción EPO-EPOR.

En las investigaciones en las que se ha encontrado un incremento de la sensibilidad a la insulina asociada a la administración de la EPO, el efecto se ha evidenciado luego de aplicaciones repetidas de esta sustancia. Sin embargo, el hecho de que una aplicación única de la NeuroEPO sea suficiente para reducir la hiperglicemia en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, puede indicar un efecto sinérgico entre la NeuroEPO y la insulina cuando se administran combinadas; en condiciones de hiperglicemia, cada una es capaz de desencadenar mecanismos que incrementan el consumo de glucosa por los tejidos.

El estudio se enfocó en la influencia de la NeuroEPO sobre los niveles de glucosa en sangre y los resultados sugieren una acción insulínica en ratas diabéticas, pero es necesario profundizar en este y otros mecanismos de reducción de la hiperglicemia. En ratas no-diabéticas, la investigación se *limitó* a evaluar la influencia de una aplicación única de una dosis de la NeuroEPO sobre la tolerancia a la glucosa, pero se requieren evaluaciones en condiciones de normoglicemia, en especial con varias aplicaciones de esta sustancia y otros niveles de dosis.

CONCLUSIONES

La NeuroEPO tiene un efecto hipoglicémico en ratas diabéticas, por un mecanismo insulínico que muestra sinergismo con la insulina en el tratamiento de la hiperglicemia. Sin embargo, la NeuroEPO no influye en la tolerancia a la glucosa de ratas no-diabéticas, al menos de forma inmediata.

RECOMENDACIONES

Continuar las investigaciones sobre el efecto hipoglicémico de la NeuroEPO, ya que pudiera ser considerada en estudios futuros como una estrategia terapéutica adicional a la insulina para mejorar el control glicémico y reducir las complicaciones en los pacientes diabéticos.

AGRADECIMIENTOS

A los profesionales del Centro de Inmunología Molecular de Cuba, en particular a la Dra. Teresita Rodríguez, gerente del grupo NeuroEPO, por proporcionar el producto para la realización del estudio. Al personal técnico del Bioterio del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", por su contribución en la atención y manejo de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Licea ME, Acosta A, Álvarez VA, Aldana D, Arnold Y, Álvarez Y, *et al.* Diabetes mellitus. Una mirada integral [Internet]. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2021 [Citado 19/06/2021]. Disponible en: <http://www.bvscuba.sld.cu/libro/diabetes-mellitus-una-mirada-integral/>
2. Dirección de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. Anuario estadístico de salud 2019 [Internet]. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2020 [Citado 19/06/2021]. Disponible en: <http://files.sld.cu/bvscuba/files/2020/05/Anuario-Electrónico-Español-2019-ed-2020.pdf>
3. American Diabetes Association. Introduction: Standards of medical care in diabetes-2021. Diabetes Care [Internet]. 2020;44(Suppl. 1):S1–S2. Disponible en: <http://doi.org/10.2337/dc21-Sint>
4. Suresh S, Rajvanshi PK, Noguchi CT. The many facets of erythropoietin physiologic and metabolic response. Front Physiol [Internet]. 2020;10:1534. Disponible en: <http://doi.org/10.3389/fphys.2019.01534>
5. Peng B, Kong G, Yang C, Ming Y. Erythropoietin and its derivatives: from tissue protection to immune regulation. Cell Death Dis [Internet]. 2020;11(2):2-12. Disponible en: <http://doi.org/10.1038/s41419-020-2276-8>
6. Gholamzadeh R, Eskandari M, Bigdeli MR, Mostafavi H. Erythropoietin pretreatment effect on blood glucose and its relationship with inflammatory factors after brain ischemic-reperfusion injury in rats. Basic Clin Neurosci [Internet]. 2018;9(5):347-56. Disponible en: <http://doi.org/10.32598/bcn.9.5.347>
7. Castillo C, Burgos CF, Hidalgo A, Silva Grecchi T, Gavilán J, Roberto J, *et al.* Neuroprotective effects of erythropoietin on neurodegenerative and ischemic brain diseases: the role of erythropoietin receptor. Neural Regen Res [Internet]. 2017;12(9):1381-9. Disponible en: <http://doi.org/10.4103/1673-5374.215240>
8. Rey F, Balsari A, Giallongo T, Ottolenghi S, Di Giulio AM, Samaja M, *et al.* Erythropoietin as a neuroprotective molecule: an overview of its therapeutic potential in neurodegenerative diseases. ASN Neuro [Internet]. 2019;11:1-8. Disponible en: <http://doi.org/10.1177/1759091419871420>
9. Kudenchuck PJ. Erythropoietin for out-of-hospital cardiac arrest: growing together or apart?. JACC [Internet]. 2016;68(1):50-2. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.03.598>
10. Bing Liu, Yuzeng Xue, Huali Wei, Junmeng Liu, Na Jia, Ming Lan. Effect of erythropoietin activating EPO-EPOR signalling pathway on improving cardiac function in diabetic rats. Acta Medica Mediterranea [Internet]. 2020;36:2999-3004. Disponible en: http://doi.org/10.19193/0393-6384_2020_5_461
11. Zhu M, Wang L, Yang J, Xie K, Zhu M, Liu S, *et al.* Erythropoietin ameliorates lung injury by accelerating pulmonary endothelium cell proliferation via Janus kinase-signal transducer and activator of transcription 3 pathway after kidney ischemia and reperfusion injury. Transplant Proc [Internet]. 2019;51(3):972-8. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.transproceed.2019.01.059>
12. Wu SH, Lu IC, Tai MH, Chai CY, Kwan AL, Huang SH. Erythropoietin alleviates burn-induced muscle wasting. Int J Med Sci [Internet]. 2020;17(1):33-44. Disponible en: <http://doi.org/10.7150/ijms.38590>
13. Chen L, Sun Q, Liu S, Hu H, Lv J, Ji W, *et al.* Erythropoietin improves glucose metabolism and pancreatic β -cell damage in experimental diabetic rats. Mol Med Rep [Internet]. 2015;12(4):5391-8. Disponible en: <http://doi.org/10.3892/mmr.2015.4006>
14. Maiese K. Erythropoietin and diabetes mellitus. World J Diabetes [Internet]. 2015;6(14):1259-73. Disponible en: <http://doi.org/10.4239/wjd.v6.i14.1259>
15. El Desouki NI, Tabl GA, Abdel Aziz KK, Salim EI, Nazeeh N. Improvement in beta-islets of Langerhans in alloxan-induced diabetic rats by erythropoietin and spirulina. JOBAZ [Internet]. 2015;71:20-31. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.04.003>
16. Niu HS, Shan Ch, Niu Sh, Cheng J, Lee K. Erythropoietin ameliorates hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. Drug Des Dev Ther [Internet]. 2016;10:1877-84. Disponible en: <http://doi.org/10.2147/DDDT.S1058677>

17. Kuo Sh, Li Y, Cheng KcH, Niu Ch, Cheng J, Niu H. Investigation of the pronounced erythropoietin-induced reduction in hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. *Endocr J* [Internet].2018;65(2):181-91. Disponible en: <http://doi.org/10.1507/endocrj.EJ17-0353>
18. EL Okela AZ, El Arbagyb AR, Yasseinb YS, Khodirc Kasemb HE. Effect of erythropoietin treatment on hemoglobin A1c levels in diabetic patients with chronic kidney disease. *J Egypt Soc Nephrol Transplant* [Internet].2019;19(3):86-94. Disponible en: http://doi.org/10.4103/jesnt.jesnt_2_19
19. Rama R, Garzón F, Rodríguez Cruz Y, Maurice T, García Rodríguez JC. Neuroprotective effect of Neuro-EPO in neurodegenerative diseases: "Alea jacta est". *Neural Regen Res* [Internet].2019;14(9):1519-21. Disponible en: <http://doi.org/10.4103/1673-5374.255968>
20. Garzón F, Rodríguez Y, García JC, Rama R. Neuroprotective effects of NeuroEPO using an in vitro model of stroke. *Behav Sci (Basel)* [Internet]. 2018;8(26):1-11. Disponible en: <http://doi.org/10.3390/bs8020026>
21. Garzón F, Coimbra D, Parcerisas A, Rodríguez Y, García JC, Soriano E, *et al.* NeuroEPO preserves neurons from glutamate-induced excitotoxicity. *J Alzheimers Dis* [Internet].2018;65(4):1469-83. Disponible en: <http://doi.org/10.3233/JAD-180668>
22. Maurice T, Mustafa MH, Desrumaux C, Keller E, Naert G, García Barceló M, *et al.* Intranasal formulation of erythropoietin (EPO) showed potent protective activity against amyloid toxicity in the A β ₂₅₋₃₅ non-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Psychopharmacol* [Internet].2013;27(11):1044-57. Disponible en: <http://doi.org/10.1177/0269881113494939>
23. Rodríguez Y, Strehaiano M, Rodríguez T, García JC, Maurice T. An intranasal formulation of erythropoietin (Neuro-EPO) prevents memory deficits and amyloid toxicity in the APPS_{we} transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* [Internet].2017;55(1):231-48. Disponible en: <http://doi.org/10.3233/JAD-160500>
24. Santos MO, Díaz MA, Jiménez RD, Pomares IY, Festary CT, González CA, *et al.* Nasal administration of the neuroprotective candidate NeuroEPO to healthy volunteers: a randomized, parallel, open-label safety study. *BMC Neurol* [Internet].2017;7(1):129. Disponible en: <http://doi.org/10.1186/s12883-017-0908-0>
25. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8 ed [Internet]. Washington: National Academies Press; 2011. Disponible en: <http://doi.org/10.17226/12910>
26. Quinna NA, Badwan AA. Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Design Development Therapy* [Internet].2015;9:2515-25. Disponible en: <http://doi.org/10.2147/DDDT.S79885>
27. Bowe JE, Franklin ZJ, Hauge Evans AC, King AJ, Persaud SJ, Jones PM. Metabolic phenotyping guidelines: assessing glucose homeostasis in rodent models. *J Endocrinol* [Internet].2014;222(3):G13–G25. Disponible en: <http://doi.org/10.1530/JOE-14-0182>
28. Fernández T, Clapes S, Pérez CL, Barreto J, Fernandez G. Hypoglycemic effect of NeuroEPO in diabetic and non-diabetic rats [Internet]. Amsterdam: Mendeley Data; 2021 [Citado 19/06/2021]. Disponible en: <https://data.mendeley.com/datasets/pty6hwbgnw/2>
29. Pan Y, Hong X, Li L, Hong Y, Yan Q, Min H, *et al.* Erythropoietin reduces insulin resistance via regulation of its receptor-mediated signalling pathways in db/db mice skeletal muscle. *Int J Biol Sci* [Internet].2017;13(10):1329-40. Disponible en: <http://doi.org/10.7150/ijbs.19752>
30. Klip A, McGraw TE, James DE. Thirty sweet years of GLUT4. *J Biol Chem* [Internet].2019;294(30):11369-8. Disponible en: <http://doi.org/10.1074/jbc.REV119.008351>
31. Kasemb HE, El Mohsen WA, Shebla IS, El Rahman AA, Kamelb MA. Insulin resistance in patients with end-stage renal disease on hemodialysis: effect of short-term erythropoietin therapy. *J Egypt Soc Nephrol Transplant* [Internet]. 2020;20(2):111-9. Disponible en: http://doi.org/10.4103/jesnt.jesnt_25_19

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Contribución de autoría

Tammy Fernández Romero: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, administración del proyecto, redacción-borrador original, redacción-revisión y edición.

Sonia Clapés Hernández: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, administración del proyecto, redacción-borrador original, redacción-revisión y edición.

Carlos Luis Pérez Hernández: Curación de datos, análisis formal, redacción-borrador original, redacción-revisión y edición.

José Javier Barreto López: Curación de datos, análisis formal, investigación, redacción-borrador original, redacción-revisión y edición.

Gisselle Fernández Peña: Curación de datos, análisis formal, redacción-borrador original, redacción-revisión y edición.

Todos los autores hemos participado en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final.