








Influencia de la NeuroEPO en el desarrollo feto-placentario de ratas en un modelo de insuficiencia placentaria

Influence of NeuroEPO on the fetal-placental development of rats in a model of placental insufficiency

Nínive Núñez López^{1*} , Vivian Tejeda Borjas¹ , Yainet Cruz Álvarez¹ ,
Yordanca Morgado Gamboa¹ , Sebastián Andrés San Martín Henríquez² 

¹Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Facultad de Ciencias Médicas “Victoria de Girón”, Departamento de Embriología. La Habana, Cuba.

²Universidad de Valparaíso, Centro de Investigaciones Biomédicas, Escuela de Medicina. Valparaíso, Chile.

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

Cómo citar este artículo

Núñez López N, Tejeda Borjas V, Cruz Álvarez Y, Morgado Gamboa Y, San Martín Henríquez SA: Influencia de la NeuroEPO en el desarrollo feto-placentario de ratas en un modelo de insuficiencia placentaria. Rev haban cienc méd [Internet]. 2023 [citado]; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5481>

Recibido: 06 de octubre de 2023

Aprobado: 27 de octubre de 2023

RESUMEN

Introducción: La insuficiencia placentaria es la causa más común del retardo del crecimiento intrauterino (RCIU). Esta condición requiere nuevas estrategias que permitan disminuir la hipoxia y la desnutrición feto placentaria. Hay evidencias de que la NeuroEPO logra proteger a los tejidos en hipoxia.

Objetivo: Evaluar la influencia de la NeuroEPO en el desarrollo feto-placentario en ratas con insuficiencia placentaria.

Material y Métodos: Se utilizaron ratas Wistar gestadas con modelo de ligadura unilateral de la arteria uterina derecha en el día 16 de la gestación (EG). Ese día de forma aleatoria a la mitad de las madres se le administró NeuroEPO (0,5 mg/kg/día subcutáneo por tres días) y al resto placebo. El día 20 EG se extrajo la unidad fetoplacentaria, según el cuerno ligado se formaron cuatro grupos: un grupo Control I, un grupo RCIU I, un grupo Control NeuroEPO II y un grupo RCIU NeuroEPO II. Se evaluaron variables reproductivas, variables de crecimiento y estudios histológicos en las placentas.

Resultados: Las variables reproductivas no variaron entre los grupos ligados, el grupo RCIU presentó una disminución del peso fetal, una placenta insuficiente con aumento del área de la zona de unión y disminución de la zona de intercambio. El laberinto presentó menos áreas de vasos sanguíneos fetales con más células del trofoblasto. En el grupo RCIU con NeuroEPO aumentó el peso fetal, aunque el peso no fue similar al control. El resto de las variables placentarias se observaron semejantes al control.

Conclusiones: La administración de NeuroEPO permitió un mejor desarrollo del feto y su placenta, posiblemente a los efectos citoprotectores de esta molécula.

Palabras Claves:

Hipoxia fetal, insuficiencia placentaria, eritropoyetina.

ABSTRACT

Introduction: Placental insufficiency is the most common cause of intrauterine growth retardation (IUGR). This condition requires new strategies that will make it possible to reduce hypoxia and fetal-placental malnutrition. There is evidence that NeuroEPO manages to protect tissues in hypoxia.

Objective: To assess the influence of NeuroEPO on feto-placental development in rats with placental insufficiency.

Material and Methods: Wistar rats gestated with a model of unilateral ligation of the right uterine artery on day 16 of gestation (GA) were used. That same day, half of the mothers were randomly administered NeuroEPO (0.5 mg/kg/day subcutaneously for three days) and the rest received placebo. On day 20EG, the fetoplacental unit was extracted. According to the ligated horn, four groups were formed: A Control I group, an IUGR I group, a NeuroEPO II Control group, and a NeuroEPO II IUGR group. Reproductive variables, growth variables and histological studies in the placentas were evaluated.

Results: Reproductive variables did not vary between the linked groups; the IUGR group presented a decrease in fetal weight, an insufficient placenta with an increase in the area of the union zone and a decrease in the exchange zone. The labyrinth presented fewer areas of fetal blood vessels with more trophoblast cells. In the IUGR group with NeuroEPO, fetal weight increased, although the weight was not similar to the control group. The rest of the placental variables were similar to the control.

Conclusions: The administration of NeuroEPO allowed better development of the fetus and its placenta, possibly due to the cytoprotective effects of this molecule.

Keywords:

Fetal hypoxia, placental insufficiency, erythropoietin.



INTRODUCCIÓN

La insuficiencia placentaria (IP) se define como la incapacidad de este órgano para suplir los requerimientos nutricionales del feto, como consecuencia origina retraso del crecimiento intrauterino (RCIU).⁽¹⁾ El RCIU constituye una complicación del embarazo con un alto riesgo de morbilidad perinatal y postnatal, así como el desarrollo de enfermedades crónicas en la adultez.⁽²⁾

Hasta la fecha, no existe un tratamiento comprobado para prevenir o tratar el RCIU.⁽²⁾ Varios tratamientos se han empleado con resultados contradictorios.⁽³⁾ La única estrategia es garantizar un diagnóstico oportuno para una atención prenatal adecuada.⁽²⁾ Por lo tanto, es necesario investigar opciones terapéuticas eficientes, para superar o prevenir los daños provocados por la IP.⁽⁴⁾

La eritropoyetina (EPO) es una glicoproteína cuya función es estimular la eritropoyesis. Recientemente se ha demostrado que la EPO tiene también efectos citoprotectores en tejidos no hematopoyéticos, por sus acciones angiogénicas, antiapoptóticas, antiinflamatorias, neurotróficas y antioxidantes.⁽⁵⁾ Por otra parte, existen evidencias de que la EPO se expresa tempranamente durante la gestación y estimula la proliferación e inhibe la apoptosis en células de la decidua y el trofoblasto,⁽⁶⁾ favoreciendo la morfogénesis adecuada de la placenta. En Cuba (2007) se obtuvo una eritropoyetina recombinante humana con bajo contenido de ácido siálico (NeuroEPO).⁽⁷⁾ Esta isoforma presenta mayor afinidad con su receptor y elimina el riesgo de producir eritropoyesis. Existen evidencias de que esta molécula protege los tejidos en zonas de isquemia cerebral.⁽⁸⁾

Para investigar nuevas opciones terapéuticas se utilizan modelos de animales. El modelo de ligadura de las arterias uterinas en roedores reproduce una disminución del flujo placentario y como resultado un RCIU.⁽⁹⁾ Teniendo en cuenta las evidencias del efecto angiogénico y protector de la NeuroEpo en los tejidos isquémicos, nosotros hipotetizamos que la NeuroEPO favorece el crecimiento feto placentario en condiciones de hipoxia. Esta investigación tiene como **objetivo** evaluar la influencia de esta molécula en el desarrollo feto-placentario en ratas con insuficiencia placentaria.

MATERIAL Y MÉTODO

La investigación preclínica se desarrolló en el Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón" (La Habana, Cuba), en el período 2019 a 2022.

Se utilizaron ratas Wistar del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) de Cuba.

Se emplearon ratas, con peso inicial de 200 g \pm 20 g. Estas fueron alojadas en una jaula individual a 23 °C en un ciclo de luz-oscuridad de 12 h respectivamente, con agua y alimento ad libitum. El trabajo con los animales tuvo en cuenta las regulaciones establecidas para el cuidado y uso de los mismos.⁽¹⁰⁾ Se utilizó el menor número de animales posible para este estudio.^(9,11)

Las ratas se aparearon durante la noche. En la mañana, cuando se encontraron espermatozoides en el lavado vaginal, se consideró día 0. En el día 16 EG a las ratas se les realizó la ligadura de la arteria uterina derecha entre el segundo y tercer feto.⁽¹¹⁾ Una hora después, las madres se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos experimentales. Un grupo I (Control) inyectado con placebo (NaCl 0.9 %) y un grupo II con NeuroEPO (0,5 mg/kg/día subcutáneo diario).⁽¹²⁾ Esta dosis fue utilizada durante tres días consecutivos. Ambos preparados procedieron del Centro de Inmunología Molecular de Cuba.

Eutanasia y recogida de muestras

El día 20 EG las madres fueron anestesiadas con tiopental sódico (50 mg/kg de peso intraperitoneal) y se realizó la laparotomía. Se excluyeron del estudio las madres que no tenían sacos gestacionales en el cuerno ligado. Cada grupo quedó constituido por 7 madres. Los cuernos uterinos y la unidad feto-placentaria fueron extraídos. Posteriormente a las madres se les realizó eutanasia por punción intracardiaca bajo anestesia. Las unidades feto-placentaria de los dos grupos fueron subdivididos según el cuerno uterino donde se encontraba. Se tomó el cuerno izquierdo como control interno, conformando 4 grupos: un grupo Control I (n=35), un grupo con RCIU I (n=20), un grupo Control NeuroEPO II (n=38) y un grupo RCIU NeuroEPO II (n=24). En las madres se determinaron las variables reproductivas y en la descendencia, las variables de crecimiento. Posteriormente se seleccionó una muestra al azar de 6 placentas por grupos para el estudio histológico.

Procedimientos

Seis cortes de placentas teñidas con hematoxilina/eosina (H/E) por cada grupo fueron fotografiadas con un microscopio óptico (Motic BA310) y cámara acoplada (Moticam 10.0 MP). En las microfotografías a un aumento de 1x se calculó el área total y por zonas de la placenta. A un aumento de 40x se capturaron 48 microfotografía por grupos, para calcular el área del espacio ocupado por la sangre y por las células trofoblásticas en el laberinto. Las áreas se midieron con el software libre ImageJ (Disponible en: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). En las imágenes a diferentes aumentos se determinaron las características de las células según la localización en las zonas de la placenta.

Para el estudio de los vasos fetales, se utilizaron cinco cortes de placentas con tinción de PAS (ácido periódico-reactivo de Schiff) y con tinción de orceína por grupo. En los cortes se capturaron 35 microfotografías a un aumento de 40x de las arterias intraplacentarias de mediano calibre del laberinto por grupo. En estas imágenes se cuantificó el grado de la intensidad de esas coloraciones con el software *Image-Pro Plus Demo*. La intensidad se determinó mediante el marcador IOD (*Integrated Optical Density*).⁽¹³⁾

Variables

Para las variables reproductivas se cuantificó el número de implantaciones, de reabsorciones, de fetos vivos y muertos, y se determinó la pérdida postimplantación (número de implantaciones- número de fetos \times 100/número de implantaciones).⁽¹⁴⁾

Variables de Crecimiento: peso (g), longitud corporal (LC) (mm), diámetro craneano anteroposterior (DAP) (mm), diámetro craneano biparietal (DBP) (mm), longitud de la cola (mm), peso placentario (mg), eficiencia placentaria (peso fetal (g)/peso placenta (g)).⁽¹⁵⁾

Variables histológicas en placentas: área total de la mitad sagital de la placenta (mm²), área de laberinto (mm²), área de zona de unión (mm²). Razón área de la zona del laberinto / área de la zona de unión. Descripción de las zonas de la placenta y los tipos celulares, área de sangre en el laberinto (μ m²), área de células trofoblásticas en el laberinto (μ m²).⁽¹⁶⁾ Densidad de la coloración con tinción de PAS la cual tiñó las membranas basales de los vasos y la sustancia amorfa compuesta por glicoproteínas y la tinción de orceína para fibras elásticas.

Análisis estadístico

Los datos se presentan en figuras y gráficos, con medidas de tendencia central y de dispersión. Se usó el programa estadístico GraphPad Prism 5.01, las pruebas estadísticas aplicadas fueron: prueba de Shapiro-Wilk para identificar normalidad y la prueba de Kruskal-Wallis para comparar variables no paramétricas. Las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$.

El proyecto fue aprobado por el Consejo Científico de la Institución.

RESULTADOS

Al analizar las variables reproductivas (Tabla 1) se apreció un comportamiento similar en los 4 grupos con respecto al número de implantaciones. En los grupos con reducción del flujo placentario por la ligadura arteria uterina se incrementaron las reabsorciones y las pérdidas postimplantación. Estos grupos presentaron menor número de fetos vivos con respecto a los controles. La administración de la NeuroEPO no modificó las variables reproductivas en los grupos con la ligadura.

Tabla 1. Variables reproductivas en ratas en el día 20 de la gestación				
Variables e índices	Control	CIUR	Control NeuroEPO	CIUR NeuroEPO
Implantaciones (N)	36	31	39	36
Media \pm DS	5,1 \pm 1,5	4,4 \pm 1,6	5,6 \pm 2,1	5,3 \pm 1,6
Reabsorciones (N)	1	11*	1	11**
Media (%)	0,14 (2,8)	1,71 (38,7)	0,14 (2,6)	1,57 (31,4)
Fetos Vivos (N)	35	20	38	24
Media (%)	5 (97,2)	2,9 (61,3)	5,4(97,4)	3,7 (66,6)
Fetos Muertos (N)	0	0	0	1
(%)	---	---	---	(2,7)
Pérdida post implantación	2,77	35,48*	2,56	33,33**

El total: N. Se presenta el valor promedio \pm la desviación estándar de las variables o porcentaje de las mismas; * $p < 0,05$ entre grupos control y RCIU; ** $p < 0,05$ entre grupos Control NeuroEPO y RCIU NeuroEPO (prueba Kruskal-Wallis).

En relación con los indicadores de crecimiento y desarrollo fetal (Tabla 2), los descendientes del grupo RCIU presentaron una disminución significativa del peso corporal, con respecto al grupo Control. El grupo RCIU tratado con NeuroEPO aumentó el peso fetal al compararlo con el grupo RCIU, pero no recuperó el peso fetal a los niveles del grupo control. Los valores del tamaño fetal (longitud corporal y la longitud de la cola) no se modificaron en los grupos. De la misma forma, se observó el diámetro craneano anteroposterior (DAP); sin embargo, el diámetro biparietal (DBP) mostró disminución de esta variable.

Tabla 2. Crecimiento feto placentario en el día 20 de la gestación				
Indicadores crecimiento fetal	Control n =35	RCIU n =20	Control NeuroEPO n =38	RCIU NeuroEPO n =24
Peso de fetal (g)	4,0±0,6	3,0±0,4*	3,7±0,3	3,5±0,4** +
Longitud corporal (mm)	34,5±5,1	33,8±4,7	36,4±2,3	35,6±2,2
Longitud de la cola (mm)	12,8±0,9	12,6±0,8	13,1±1	12,8±1
DBP (mm)	0,53±0,11	0,42±0,13*	0,49±0,08	0,49±0,13
DAP (mm)	0,74±0,9	0,68±0,15	0,70±0,10	0,70±0,11
Peso de placenta (g)	0,67±0,11	0,62±0,112	0,61±0,10	0,57±0,15**
Eficiencia placentaria	6,1±1,4	5,1±1,3*	6,2±1,0	6,4±1,5+

Se presenta el valor promedio ± la desviación estándar de las variables o índices de las mismas; *p < 0,05 entre grupos control y RCIU; **p < 0,05 entre grupos control NeuroEPO y RCIU NeuroEPO; +p < 0,05 entre grupos RCIU y RCIU NeuroEPO (prueba Kruskal-Wallis).

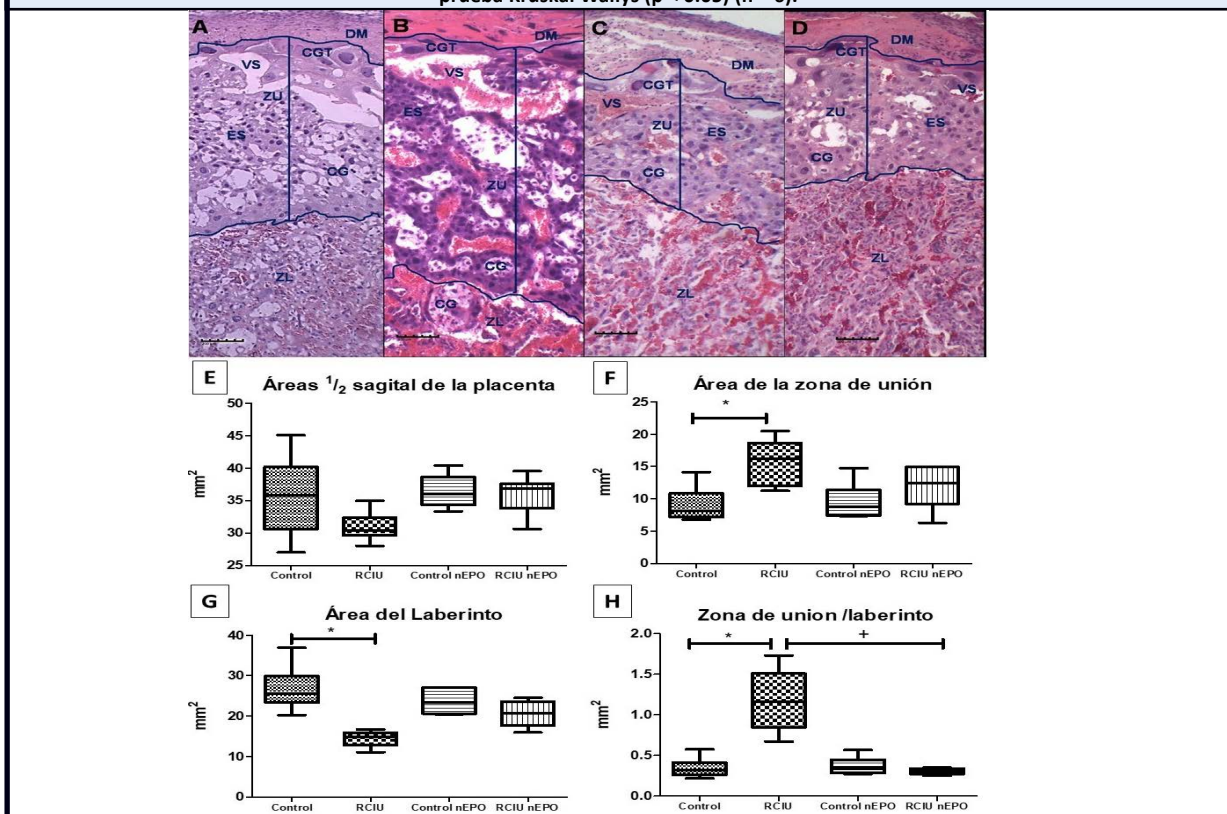
Las placentas en el grupo RCIU con NeuroEPO tuvieron un peso menor, con diferencias significativas con respecto al control. Cuando se calculó la relación entre el peso fetal y placentario para estimar la eficiencia placentaria o el aporte nutricional al feto, el grupo RCIU mostró un índice disminuido con respecto al control. El grupo con RCIU tratado con NeuroEPO aumentó este índice con valores superiores al control con diferencias significativas.

Morfometría e histología de las placentas

En la estructura placentaria se observaron tres zonas bien definidas histológicamente: 1) decidua materna 2) zona de unión zona y 3) zona del laberinto (Figura 1 A; B; C; D). Al comparar la decidua materna y las células gigantes del trofoblasto se mostraron similares en los cuatro grupos (Figura 1). La zona de unión fue diferente en las placentas del grupo RCIU. Esta zona estuvo engrosada e irregular (Figura 1 B), con gran acumulación de células ricas en glucógeno (CG), formando grandes quistes. El resto de las células espongiotrofoblásticas mantuvieron la estructura celular y la forma de sus núcleos semejante a los demás grupos.

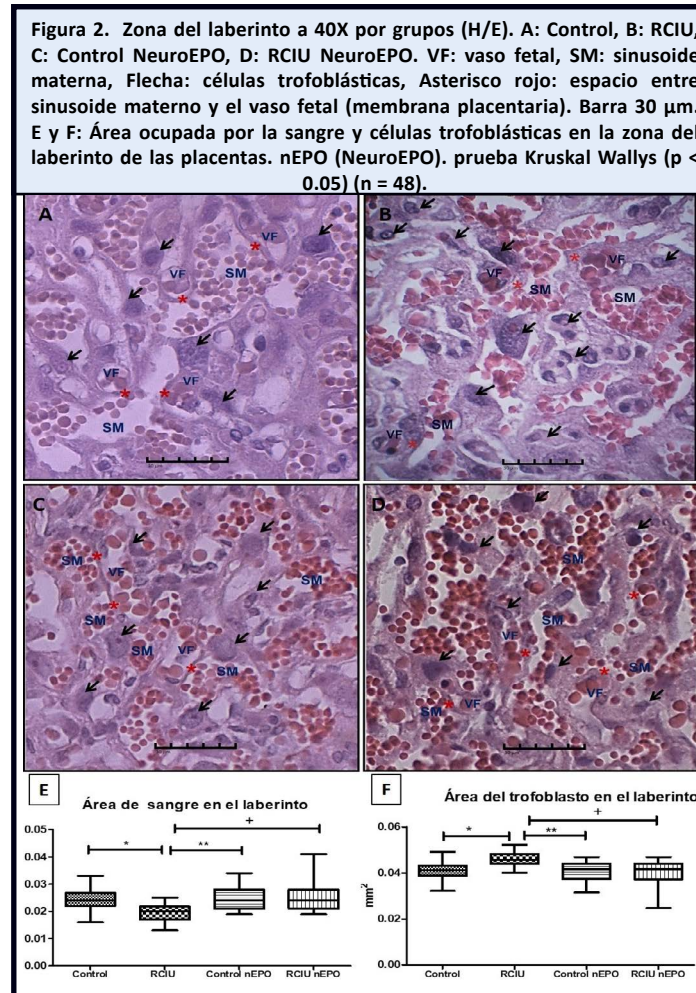
En las placentas se cuantificaron las áreas (Figura 1 E; F; G; H). El área de la mitad sagital de las placentas no se modificó en los grupos. En el grupo RCIU la zona del laberinto fue menor con aumento de la zona de unión y la relación zona de unión /zona de laberinto. Todas estas variables mostraron diferencias significativas respecto al control. Estos resultados sugieren que la zona de intercambio de nutrientes en la placenta esta disminuida con respecto a la zona de unión en este grupo. El grupo RCIU tratado con NeuroEPO recuperó los valores del control.

Figura 1. Ubicación y componentes celulares de las zonas de la placenta a 10x por grupos. A: Control, B: RCIU, C: Control NeuroEPO, D: RCIU NeuroEPO. DM: decidua materna; ZU: zona de unión; CTG: células trofoblásticas gigantes; CG: células de glucógeno; ES: espongiotrofoblastos; ZL: zona de Laberinto. Barra 100 µm. E; F; G; H: Área ocupada por las zonas de la placenta. nEPO (NeuroEPO) prueba Kruskal Wallis (p < 0.05) (n = 6).

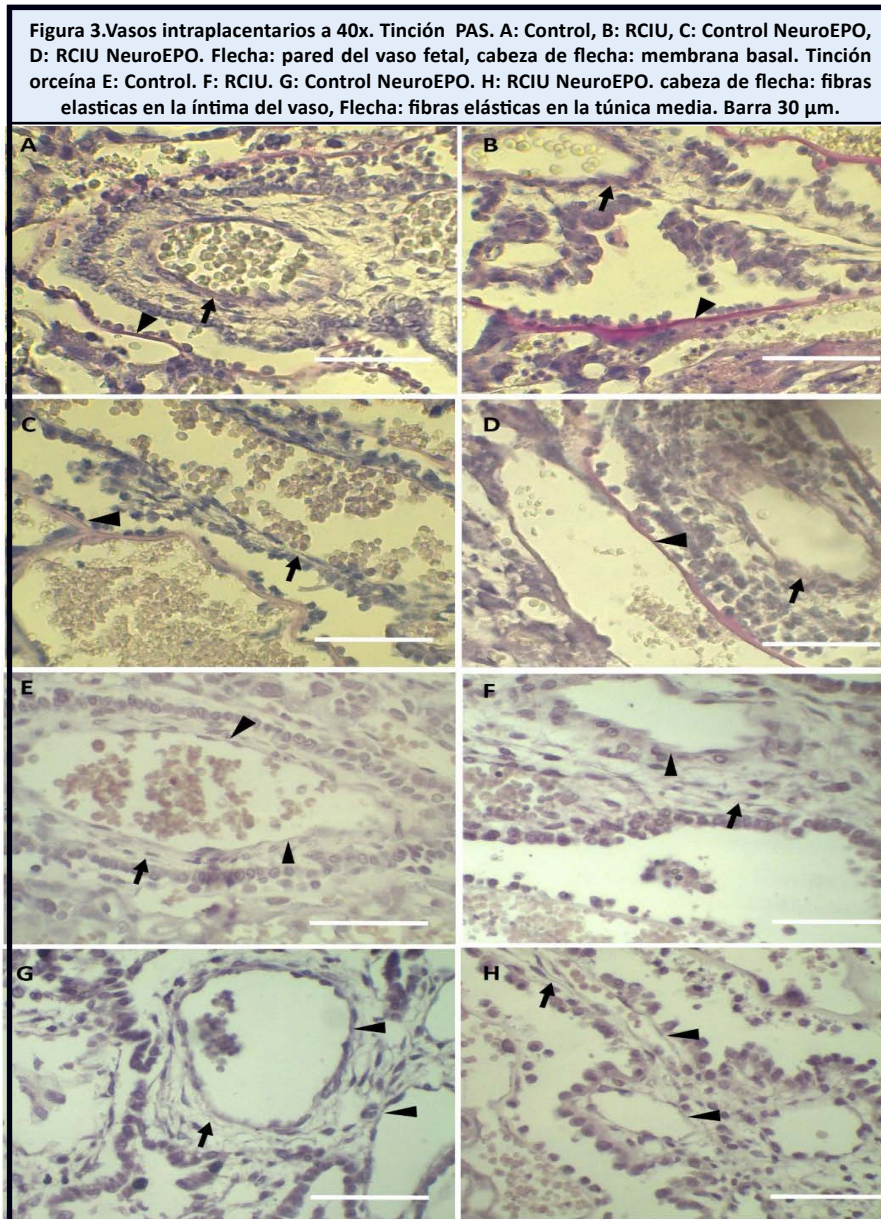


En la zona del laberinto se observaron las vellosidades fetales y los sinusoides maternos similares en todos los grupos (Figura 2). Las vellosidades compuestas por células trofoblásticas y vasos fetales (VF) de pequeño calibre inmersos en ellas.

Los VF están delimitados por un endotelio y contienen eritrocitos fetales. Los sinusoides maternos se observan como espacios irregulares, en contacto directo con las células trofoblásticas y con presencia de eritrocitos maternos (Figura 2. A; B; C; D). Las células trofoblásticas y el endotelio del VF, constituyen la membrana placentaria que separa la sangre materna de la fetal. A diferencia del control en el grupo RCIU se observó un aumento del área ocupada por las células trofoblásticas y una disminución del área ocupada por la sangre. Esta situación pudiese engrosar la membrana placentaria (Figura 2. B; E y F). El grupo RCIU con NeuroEPO se comportó de manera semejante al control (Figura 2. D; E y F).



Por último, se analizó la estructura de la pared de las arterias feto-placentarias. Las fibras de colágeno de las membranas basales se mostraron delgadas y en la pared arterial siguió un contorno circular regular más engrosada (Figura 3. A; B; C; D). Las fibras elásticas se dispusieron en la capa más interna de la pared del vaso sanguíneo, la túnica media estaba llena de tejido elástico de forma circular y difuso (Figura 3 E; F; G; H). La intensidad de estas dos coloraciones no presentó diferencias significativas entre los grupos.



DISCUSIÓN

El presente estudio desarrolló un modelo de ligadura unilateral de la arteria uterina derecha en su porción central en ratas. A este nivel cuando se liga la arteria uterina, el flujo de sangre de la arteria ilíaca y ovárica persisten en el cuerno. Esto provoca una disminución del flujo sanguíneo a la placenta y conduce a un RCIU.⁽¹¹⁾

Nuestro resultados coincide con los de otros autores.^(11,17) Los grupos con ligadura de la arteria uterina evidenciaron un aumento de las reabsorciones y una disminución de los fetos vivos acompañado de bajo peso y alteraciones placentarias. Otras investigaciones confirman que la ligadura de los vasos uterinos, independiente del lugar donde se realice, aumenta las muertes embrionario fetales y disminuye el peso fetal.^(9,11)

En este estudio, el grupo RCIU mostró disminución significativa de la eficacia placentaria. Esta relación disminuida sugiere una reducción de la transferencia de nutrientes al feto, por gramo de placenta.⁽¹⁸⁾ En humanos esta relación disminuida se corresponde con un área de superficie de intercambio reducida, con aumento del espesor asociado a restricción del crecimiento fetal.⁽¹⁹⁾ Estos resultados validan el modelo utilizado con placentas insuficientes y fetos con RCIU.

La disminución de eficacia placentaria encontrada en el grupo RCIU se pudiera justificar cuando se estudian las placentas desde el punto de vista histológico. En las placentas de este grupo se hallaron modificaciones histológicas en dos de las zonas que componen este órgano. Dichas alteraciones incluyeron un aumento del área de la zona de unión, debido al incremento de quistes en las CG. En el laberinto se registró aumento del área ocupada por las células trofoblásticas y disminución del área ocupada por la sangre fetal y materna, así como presencia de quistes ectópicos de CG. Estas alteraciones en la zona del laberinto pudieran provocar el aumento del grosor de la membrana vasculosincitial, disminuyendo el intercambio de nutrientes de la madre al feto.⁽²⁰⁾

Las modificaciones en la zona de unión comprometen la actividad endocrina.⁽²¹⁾ Además esta zona mediante la secreción de factores antiangiogénicos regula el crecimiento endotelial.⁽²⁰⁾

En la gestación normal hay un incremento temprano de CG en la placenta, seguido de un descenso progresivo al término. Sin embargo, en el RCIU se mantienen las concentraciones hasta el final del embarazo, incluso hasta tres veces sus niveles normales.⁽²²⁾ Esto coincide con nuestros resultados. Es probable que en el embarazo con IP genere una respuesta compensatoria que consiste en almacenar glucógeno para garantizar que la glucosa llegue a la placenta y al feto. Pero posiblemente debido a un defecto en el control hormonal en la zona de unión, a nivel celular, se afecte la liberación o la utilización del glucógeno.^(20,22)

En este estudio, los vasos de mayor calibre ubicados en el laberinto no mostraron cambios ni en la densidad de la coloración ni en la distribución de las fibras colágenas y elásticas entre los grupos. Sin embargo, hay estudios en placentas humanas con RCIU donde observaron un aumento en la proporción de colágeno y elastina.⁽²³⁾ Otro grupo de investigadores encontraron notables cambios en la expresión de 37 genes, implicados en síntesis y remodelación de la matriz extracelular en placentas de embarazos con RCIU.⁽²⁴⁾ Estos cambios provocan alteraciones en el desarrollo vascular de la placenta.^(23,24)

Esta diferencia en los resultados con otras investigaciones quizás se deba a que no se realizaron mediciones del grosor de estos componentes en la pared del vaso, que nos permitiera comparar con otros estudios. Aunque sí se mostró una disminución del área correspondiente a los sinusoides maternas y vasos fetales de menor calibre en el grupo RCIU. Otros autores concluyeron que el intercambio eficiente en la placenta dependía de los vasos sanguíneos de pequeño calibre más que de los vasos de mayor calibre.⁽²⁵⁾ En el grupo RCIU se encontró menor área ocupada por vasos de pequeño calibre y, por tanto, un intercambio deficiente.

La NeuroEPO en este modelo no modificó las variables reproductivas. La causa de la baja tasa de supervivencia en este modelo pudiera deberse a la isquemia de los tejidos después de la ligadura de la arteria.⁽¹¹⁾ El peso fetal en este grupo se recuperó, aunque no a los niveles del control, pero mejoró la eficacia placentaria. Esto indica que la NeuroEPO modificó la capacidad del órgano para garantizar un mejor crecimiento del feto. La placenta logró restablecer las características histológicas de las zonas y preservar el árbol vascular vellosa fetal.

Varios estudios declaran el efecto protector de la eritropoyetina en tejidos isquémicos.^(26,27) La NeuroEPO pudiera estar ejerciendo efectos protectores mediante la regulación de los genes antiapoptóticos o la inhibición de la activación de genes apoptóticos, como se ha informado para otros tejidos.^(26,28) En un estudio en placentas de ratas dañadas con lipopolysacáridos, se observó una disminución en la densidad de células apoptóticas en la placenta y una preservación general de la integridad del tejido después de administrar eritropoyetina.⁽²⁹⁾

Este estudio tiene la limitante de que no fue posible medir las concentraciones de NeuroEPO ni en sangre materna ni fetal. Por lo tanto, en presencia de los cambios morfológicos en el tejido placentario pudiéramos asumir que esta molécula fue beneficiosa para el crecimiento feto-placentario. Por otra parte, hay que tener en cuenta que la muestra del estudio es pequeña.

CONCLUSIONES

En virtud de los resultados obtenidos, se puede concluir que la NeuroEPO presentó un efecto beneficioso en los fetos y las placentas de las ratas con insuficiencia placentaria. Los mecanismos subyacentes a la protección de la NeuroEPO sobre la estructura de la placenta, requieren investigaciones básicas adicionales cuyos resultados pudieran dar aplicabilidad en la clínica.

RECOMENDACIONES

Se considera necesario realizar estudios en los que se exploren diferentes dosis, estudios aleatorizados con suficiente poder estadístico, para poder proponer la NeuroEPO como posible candidata en la terapia de gestantes con insuficiencia placentaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wardinger JE, Ambati S. Placental Insufficiency [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [Citado 21/06/2023]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33085318/>
2. Bruin C, Damhuis S, Gordijn S, Ganzevoort W. Evaluation and Management of Suspected Fetal Growth Restriction. *Obstetrics and gynecology clinics of North America* [Internet]. 2021 [Citado 21/06/2023];48(2):371-85. Disponible <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.02.007>
3. Groom KM, David AL. The role of aspirin, heparin, and other interventions in the prevention and treatment of fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2018 [Citado 21/06/2023];218(2S):S829-S840. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.11.565>
4. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics and the Society for Maternal-Fetal Medicine. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2019 [Citado 21/06/2023];133(2):e97-e109. Disponible en: <http://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003070>

5. Suresh S, Rajvanshi PK, Noguchi CT. The Many Facets of Erythropoietin Physiologic and Metabolic Response. *Front Physiol* [Internet]. 2020 [Citado 21/06/2023];10:1534. Disponible en: <http://doi.org/10.3389/fphys.2019.01534>
6. Ji YQ, Zhang YQ, Li MQ, Du MR, Wei WW, Li DJ. EPO improves the proliferation and inhibits apoptosis of trophoblast and decidual stromal cells through activating STAT-5 and inactivating p38 signal in human early pregnancy. *Int J Clin Exp Pathol*. 2011;4(8):765-74.
7. Muñoz A, García JC, Pardo Z, García JD, Sosa I, inventors. Formulaciones nasales de EPORH con bajo contenido de ácido siálico para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso [Internet]. CU patente. WO 2007/009404 A1. 2009 [Citado 21/06/2023]. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/WO2007009404A1/es>
8. Suárez K, Fernández G, Rodríguez Y. Eritropoyetina en la neuroprotección y su entrada al sistema nervioso a través de la cavidad nasal. *Investigaciones Médicoquirúrgicas* [Internet]. 2020 [Citado 21/06/2023]; 12(1). Disponible en: <https://revcimeq.sld.cu/index.php/img/article/view/588>
9. Swanson AM, David AL. Animal models of fetal growth restriction: Considerations for translational medicine. *Placenta* [Internet]. 2015 [Citado 21/06/2023];36(6):623-30. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.03.003>
10. McCormick-Ell J, Connell N. Laboratory Safety, Biosecurity, and Responsible Animal Use. *ILAR J* [Internet]. 2019 [Citado 21/06/2023];60(1):24-33. Disponible en: <http://doi.org/10.1093/ilar/ilz012>
11. Janot M, Cortes-Dubly ML, Rodríguez S, Huynh-Do U. Bilateral uterine vessel ligation as a model of intrauterine growth restriction in mice. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2014 [Citado 21/06/2023];12:62. Disponible en: <http://doi.org/10.1186/1477-7827-12-62>
12. Fernández T, Clapés S, Pérez CL, Núñez N, Suárez G, Fernández G. Efecto protector de la NeuroEPO en la reproducción de ratas diabéticas. *Rev haban cienc méd* [Internet]. 2022 [Citado 21/06/2023];21(4):e4797. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4797>
13. Íñiguez G, Gallardo P, Castro JJ, González R, García M, Kakarieka E, et al. Klotho Gene and Protein in Human Placentas According to Birth Weight and Gestational Age. *Front Endocrinol* [Internet]. 2019 [Citado 21/06/2023];9:797. Disponible en: <http://doi.org/10.3389/fendo.2018.0079714>
14. Suárez-Román G, Capote-Guitian C, Clapés-Hernández S, Fernández-Romero T, Belo G, Da-Costa M. Reproductive Parameters in a Model of Visceral Obesity. *Rev Cubana Inv Bioméd* [Internet]. 2020 [Citado 21/06/2023];38(5). Disponible en: <https://revbiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/534>
15. Badawoud MH, Abdel-Aziz G, El-Fark MM. The Effect of Aluminum Exposure on Maternal Health and Fetal Growth in Rats. *Cureus* [Internet]. 2022 [Citado 21/06/2023];14(11):e31775. Disponible en: <http://doi.org/10.7759/cureus.31775>
16. Araújo GG, Dos Passos RR, Lunardi RR, Volpato GT, Soares TS, Giachini FR, et al. Maternal and Fetal-Placental Effects of Etanercept Treatment During Rats' Pregnancy. *Front Physiol* [Internet]. 2022 [Citado 21/06/2023];12:787369. Disponible en: <http://doi.org/10.3389/fphys.2021.787369>
17. Conei D. Efectos de la Aspirina en Fetos de Rata con Reducción de la Presión de la Perfusión Uterina. *Int J Morphol* [Internet]. 2019 [Citado 21/06/2023];37(2):739-43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022019000200739>
18. Sun C, Groom KM, Oyston C, Chamley LW, Clark AR, James JL. The placenta in fetal growth restriction: What is going wrong?. *Placenta* [Internet]. 2020 [Citado 21/06/2023];96:10-18. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.05.003>
19. Peilin Zhang. The value of fetal placental ratio and placental efficiency in term human pregnancy and complications. *MedRxiv* [Internet]. 2023 [Citado 21/06/2023];1:23286091 Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.02.17.23286091v1>
20. Farah O, Nguyen C, Tekkate C, Parast MM. Trophoblast lineage-specific differentiation and associated alterations in preeclampsia and fetal growth restriction. *Placenta* [Internet]. 2020 [Citado 21/06/2023];102:4-9. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.02.007>
21. Carter AM. Evolution of Placental Hormones: Implications for Animal Models. *Front Endocrinol* [Internet]. 2022 [Citado 21/06/2023];13:891927. Disponible en: <http://doi.org/10.3389/fendo.2022.891927>
22. Tunster SJ, Watson ED, Fowden AL, Burton GJ. Placental glycogen stores and fetal growth: insights from genetic mouse models. *Reproduction* [Internet]. 2020 [Citado 21/06/2023];159(6):R213-R235. Disponible en: <http://doi.org/10.1530/REP-20-0007>
23. Saw SN, Tay J, Poh YW, Yang L, Tan WCh, Tan L, et al. Placental Chorionic Arterial Biomechanical Properties During Intrauterine Growth Restriction. *Scientific Reports* [Internet]. 2018 [Citado 21/06/2023];8(1):16526. Disponible en: <http://doi.org/10.1038/s41598-018-34834-5>
24. Boss AL, Chamley LW, Brooks AES, James JL. Differences in human placental mesenchymal stromal cells may impair vascular function in FGR. *Reproduction* [Internet]. 2021 [Citado 21/06/2023];162(4):319-30. Disponible en: <http://doi.org/10.1530/REP-21-02>

25. Coniglio MV, Merkis CI, Diaz T, Romanini MC, Turiello MP, Bozzo AA, et al. Efectos de la restricción alimentaria sobre el desarrollo de los vasos sanguíneos placentarios en cabras. *InVet* [Internet]. 2016 [Citado 21/06/2023];18(1):67-75. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982016000100009&lng=es
26. Klepper S, Jung S, Dittmann L. Further Evidence of Neuroprotective Effects of Recombinant Human Erythropoietin and Growth Hormone in Hypoxic Brain Injury in Neonatal Mice. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 [Citado 21/06/2023];23(15):8693. Disponible en: <http://doi.org/10.3390/ijms23158693>
27. Sadanandan J, Sathyanesan M, Liu Y, Tiwari NK, Newton SS. Carbamoylated Erythropoietin-Induced Cerebral Blood Perfusion and Vascular Gene Regulation. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023 [Citado 21/06/2023];24(14):11507. Disponible en: <http://doi.org/10.3390/ijms241411507>
28. Qu Y, Liu H, Ma Y, Lin X. Effect of carbamylated erythropoietin on neuronal apoptosis in fetal rats during intrauterine hypoxic-ischemic encephalopathy. *Biol Res* [Internet]. 2019 [Citado 21/06/2023];52(1):28. Disponible en: <http://doi.org/10.1186/s40659-019-0234-7>
29. Dijkstra F, Jozwiak M, De Matteo R. Erythropoietin ameliorates damage to the placenta and fetal liver induced by exposure to lipopolysaccharide. *Placenta* [Internet]. 2010 [Citado 21/06/2023];31(4):282-8. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.placenta.2009.12.028>

Financiamiento

Esta investigación forma parte de un proyecto no asociado a programa de una institución presupuestada. Se financió con el presupuesto de la institución.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribución de autoría

Nínive Núñez López: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, metodología, administración del proyecto, redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

Vivian Tejeda Borjas: Curación de datos, análisis formal redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

Yainet Cruz Álvarez: Curación de datos, análisis formal, investigación, redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

Yordanca Morgado Gamboa: Análisis formal, investigación, redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

Sebastián Andrés San Martín Henríquez: Análisis formal, investigación, redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

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