



## Efecto de la NeuroEPO en el riñón de ratas diabéticas Effect of NeuroEPO on the kidney of diabetic rats

Mónica Elena Fernández Jiménez<sup>1\*</sup> , Alicia Borroto Leiseca<sup>1</sup> , Ketty Suárez Borrás<sup>1</sup> , Gisselle Fernández Peña<sup>1</sup> ,  
Olivia Ileana Román Guerra<sup>1</sup> , Adina Pérez Mejías<sup>1</sup> , Lilia Caridad Marín Padrón<sup>2</sup> , Dailén Darías Rivera<sup>3</sup> , Tatiana  
Acosta Sánchez<sup>2</sup> , Tammy Fernández Romero<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

<sup>3</sup>Complejo Ortopédico Internacional Hospital Frank País. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [monica.fdez@infomed.sld.cu](mailto:monica.fdez@infomed.sld.cu)

### Cómo citar este artículo

Fernández Jiménez ME, Borroto Leiseca A, Suárez Borrás K, Fernández Peña G, Román Guerra OI, Pérez Mejías A, Marín Padrón LC, Darías Rivera D, Acosta Sánchez T, Fernández Romero T: Efecto de la NeuroEPO en el riñón de ratas diabéticas. Rev haban cienc méd [Internet]. 2024 [citado 23 de mayo de 2024]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5814>

Recibido: 10 de septiembre de 2024  
Aprobado: 11 de noviembre de 2024

### RESUMEN

**Introducción:** La *Diabetes Mellitus* causa complicaciones renales que requieren nuevas estrategias terapéuticas. La NeuroEPO, una variante de eritropoyetina recombinante humana, reduce la hiperglicemia y las pérdidas gestacionales en ratas diabéticas.

**Objetivo:** Evaluar el efecto de la NeuroEPO en el riñón de ratas diabéticas.

**Material y métodos:** Se provocó diabetes en ratas Wistar hembras adultas, con estreptozotocina intraperitoneal. Dos grupos recibieron NeuroEPO (0,25 mg/kg o 0,5 mg/kg) y otro vehículo, por vía subcutánea, tres veces por semana durante cinco semanas. Un grupo de ratas sanas fue usado como control. Se determinó la glicemia y el estado morfofuncional renal. Se realizaron comparaciones con las pruebas de análisis de la varianza de un factor y Newman Keuls, o Kruskal Wallis y Dunn, según la distribución de las variables; las diferencias fueron consideradas significativas con  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Las ratas diabéticas que recibieron vehículo presentaron hiperglicemia severa y riñones de mayor peso, con alteraciones en corpúsculos, túbulo proximal e intersticio cortical. En los grupos con NeuroEPO disminuyó la hiperglicemia y con la dosis menor se apreciaron menos alteraciones estructurales renales; con la dosis más alta, el peso renal y las alteraciones corpusculares e intersticiales fueron mayores que en el grupo con el vehículo. Los tres grupos de ratas diabéticas presentaron poliuria, sin modificaciones en la albuminuria y la creatinina plasmática.

**Conclusiones:** La administración repetida de 0,25 mg/kg de NeuroEPO por vía subcutánea, tiene efectos protectores en el riñón de ratas diabéticas. El doble de esta dosis provoca efectos adversos.

### ABSTRACT

**Introduction:** *Diabetes mellitus* causes renal complications that require new therapeutic strategies. NeuroEPO, a variant of recombinant human erythropoietin, reduces hyperglycemia and gestational losses in diabetic rats.

**Objective:** To evaluate the effect of NeuroEPO on the kidney of diabetic rats.

**Material and Methods:** Diabetes was induced in adult female Wistar rats by intraperitoneal administration of streptozotocin. Two groups received NeuroEPO (0.25 mg/kg or 0.5 mg/kg) and another the vehicle, subcutaneously, three times a week for five weeks. A group of healthy rats was used as a control. Glycemia and renal morphofunctional status were determined. Comparisons were made using one-way analysis of variance and Newman-Keuls or Kruskal-Wallis and Dunn tests, depending on the distribution of the variables; differences were considered significant with  $p < 0.05$ .

**Results:** Diabetic rats receiving the vehicle presented severe hyperglycemia and increased kidney weight, with alterations in glomeruli, proximal tubules and cortical interstitium. In the groups treated with NeuroEPO, hyperglycemia decreased and with the lower dose, fewer renal structural alterations were observed; with the higher dose, renal weight and glomerular and interstitial alterations were greater than in the vehicle group. All the groups of diabetic rats presented polyuria, without modifications in albuminuria and plasma creatinine.

**Conclusions:** Repeated administration of 0.25 mg/kg of NeuroEPO subcutaneously has protective effects on the kidneys of diabetic rats. Twice this dose causes adverse effects.

### Palabras Claves:

Ratas diabéticas, estreptozotocina, nefropatía diabética, eritropoyetina, NeuroEPO.

### Keywords:

Diabetic rats, streptozotocin, diabetic nephropathy, erythropoietin, NeuroEPO.



## INTRODUCCIÓN

La *diabetes mellitus* (diabetes) constituye un importante problema de salud. A nivel mundial, más de 420 millones de personas adultas la padecen<sup>(1)</sup> y se estima que los casos se incrementarán a 700 millones para 2045.<sup>(2)</sup> Es una de las diez causas principales de mortalidad, con un aumento del 70 % desde 2000 hasta 2019.<sup>(1)</sup> En Cuba la diabetes también tiene tendencia al ascenso<sup>(3,4)</sup> y se encuentra entre las 10 primeras causas de muerte.<sup>(3)</sup>

Entre las complicaciones crónicas de la diabetes se encuentra la nefropatía diabética; se estima que de 25 % a 40 % de los diabéticos tendrá algún grado de nefropatía durante su vida.<sup>(5)</sup> En su patogénesis intervienen estímulos metabólicos y hemodinámicos, que provocan daño glomerular y tubular.<sup>(6)</sup> La principal estrategia para su manejo es el control adecuado de la glicemia,<sup>(6)</sup> pero en la actualidad se investigan sustancias citoprotectoras como la eritropoyetina (EPO).<sup>(7)</sup>

La función primaria de la EPO es estimular la eritropoyesis, pero se ha demostrado que tiene efectos en la protección y reparación de tejidos.<sup>(8)</sup> Existen evidencias de que la EPO recombinante humana aporta beneficios morfofuncionales al riñón en condiciones de daño, por mecanismos antiapoptóticos, pro-proliferativos, angiogénicos, antioxidantes y antiinflamatorios.<sup>(9)</sup>

En Cuba se produce una variante de EPO recombinante humana con bajo contenido de ácido siálico conocida como NeuroEPO, que ha demostrado efectos neuroprotectores sin estimulación de la hematopoyesis cuando se aplica por vía nasal.<sup>(10)</sup> Además, en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina (STZ), la administración repetida de 0,5 mg/kg por vía subcutánea reduce la hiperglicemia y las pérdidas gestacionales; dosis mayores tienen efectos perjudiciales.<sup>(11,12,13)</sup> El **objetivo** del estudio es evaluar el efecto de la NeuroEPO en el riñón de ratas diabéticas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental, desde enero de 2023 hasta febrero de 2024, en la Facultad de Ciencias Médicas "Victoria de Girón", como parte de un proyecto aprobado por el Consejo Científico y el Comité Institucional para el Uso y Cuidado del Animal de Laboratorio (CICUAL). Se emplearon ratas Wistar hembras adultas, con peso inicial de 200 g - 250 g, procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio. Para el trabajo con los animales se siguieron las regulaciones establecidas<sup>(14,15,16)</sup> y se utilizó la menor cantidad que garantizara las exigencias del estudio, cumpliendo con el principio de las 3 R (reducción, refinamiento y reemplazo).<sup>(17)</sup> Las ratas fueron mantenidas con ciclos de luz y oscuridad 12 horas/12 horas, temperatura de 21 °C - 23 °C y acceso libre al alimento estándar y al agua filtrada.

### Inducción de la diabetes

Después de una semana de adaptación al medio, a un grupo se le administró STZ (SIGMA) intraperitoneal, 65 mg/kg disueltos en 200 µL de buffer citrato de sodio 0,1 M pH 4,5. A los siete días se determinó la glicemia (glucómetro SUMASENSOR SXT, La Habana, Cuba) en sangre de la punta de la cola y se diagnosticó la diabetes por valores superiores a 11 mmol/L.<sup>(18)</sup>

### Grupos y procedimientos

Se formaron tres grupos de ratas diabéticas, de manera aleatoria, y un grupo de ratas sanas, cada uno de cinco animales: ND- sanas, DV- diabéticas con vehículo, D 0,25- diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO, D 0,5- diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO. Los productos se administraron por vía subcutánea, una vez al día, tres veces por semana durante cinco semanas.

Se determinó la glicemia en ayuno (glucómetro SUMASENSOR SXT, La Habana, Cuba) en sangre de la cola, antes de la primera dosis y al final del experimento. Después de la última dosis, se determinó el volumen de orina colectada durante 14 horas en jaula metabólica y la albuminuria por un método inmunoenzimático.<sup>(19)</sup> Se practicó eutanasia por desangrado (punción intracardiaca) bajo anestesia (tiopental sódico 50 mg/kg intraperitoneal).<sup>(20)</sup> Se cuantificó la creatinina plasmática por el método de Jaffé.<sup>(21)</sup> Se garantizó la validez de los resultados mediante ensayos de control de calidad.

### Estudio morfológico renal

Se determinó el peso renal (balanza digital Gibertini Europe 1000, Milán, Italia) y el riñón derecho fue seccionado, fijado en formalina al 10 % (buffer NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,03 M - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,05 M, pH 7) e incluido en parafina (método convencional). Se confeccionaron láminas con cortes de 5 micrómetros (micrótopo Histo-Line Laboratories MR300, Milán, Italia) y las coloraciones hematoxilina/eosina, ácido peryódico de Schiff (PAS) y tricrómica de Mallory.<sup>(22)</sup>

De cada animal se analizaron los corpúsculos, túbulos proximales e intersticio cortical (microscopio óptico MOTIC BA210, China) en 10 campos seleccionados al azar de cada coloración; los signos histopatológicos fueron clasificados como ausente (0), leve (+), moderado (++) o severo (+++), según su presencia, número de animales y extensión de tejido afectado. Con el programa ImageJ<sup>(23)</sup> se midieron diferentes áreas en 20 corpúsculos y 20 túbulos proximales por animal, en imágenes (cámara MOTICAM 3, China) de los cortes con PAS.

### Procesamiento estadístico

Con el programa GraphPad Prism, versión 5.01, se realizaron comparaciones mediante análisis de la varianza (ANOVA) de un factor y Newman Keuls, o Kruskal Wallis y Dunn, según la distribución de las variables con la prueba Kolmogorov Smirnov. Las diferencias se consideraron significativas con  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

En las ratas diabéticas, la glicemia inicial fue similar y disminuyó al final del estudio en los grupos con NeuroEPO. El peso renal estuvo incrementado, pero fue menor en D 0,25 que en DV y mayor en D 0,5 que en los otros grupos. El volumen de orina se encontró aumentado, sin cambios con la NeuroEPO, y no se observaron modificaciones en la albuminuria y la creatinina plasmática. (Tabla 1).

Variables	ND	DV	D 0,25	D 0,5
Glicemia inicial (mmol/L)	7,6 ± 0,4	23,1 ± 3,5 *	22,1 ± 2,0 *	24,1 ± 2,2 *
Glicemia final (mmol/L)	6,3 ± 0,5	21,9 ± 4,5 *	13,8 ± 4,1 * #	14,2 ± 3,9 * #
Peso renal total (g)	1,33 ± 0,08	2,39 ± 0,13 *	2,08 ± 0,06 * #	2,58 ± 0,06 * # +
Peso renal relativo (g/100 g-peso corporal)	0,59 ± 0,05	1,26 ± 0,19 *	1,09 ± 0,10 * #	1,54 ± 0,12 * # +
Volumen de orina (mL/100 g-peso corporal)	6,4 ± 2,6	20,1 ± 9,8 *	22,6 ± 9,4 *	31,4 ± 10,6 *
Creatinina plasmática (μmol/L)	51,0 ± 5,9	54,0 ± 4,0	56,6 ± 11,4	51,7 ± 8,0
Albuminuria (mg/min)	22,7 ± 15,0	28,8 ± 19,7	26,2 ± 15,5	20,2 ± 11,5

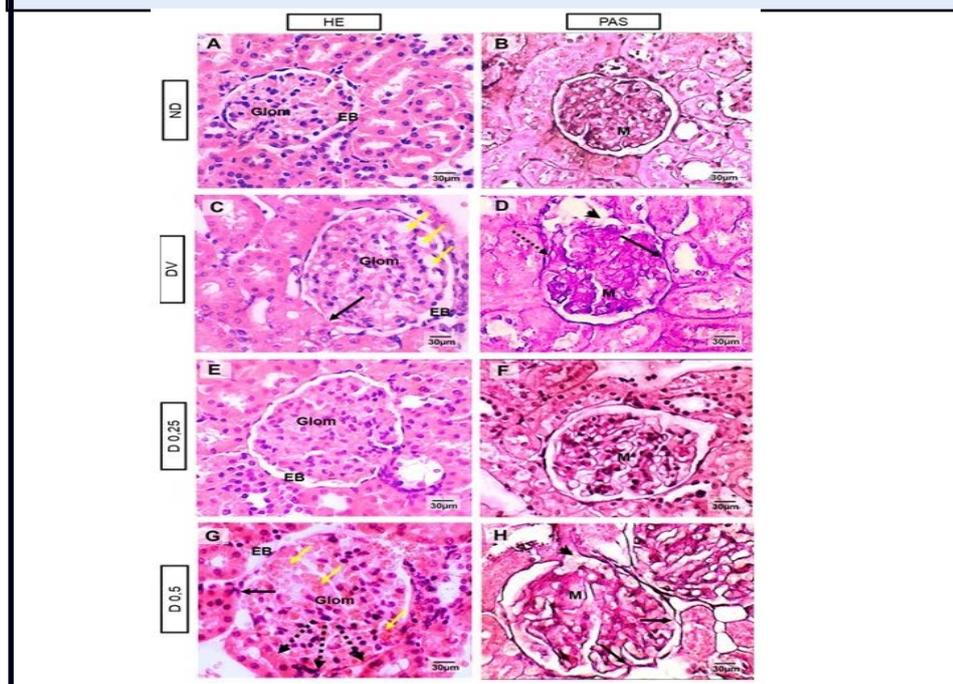
\*  $p < 0,05$  contra ND; #  $p < 0,05$  contra DV (ANOVA de un factor y Newman Keuls).  $n = 5$ . Se muestra media ± desviación estándar. ND- sanas; DV- diabéticas con vehículo; D 0,25- diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D 0,5- diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO.

Los corpúsculos y túbulos proximales de ND se correspondieron con el patrón de normalidad típico. DV mostró varias alteraciones corpusculares y áreas extensas de túbulos dañados. D 0,25 presentó solo algunos corpúsculos con cambios similares a los de DV y menor daño tubular. En D 0,5 se observaron túbulos con daños similares a los de DV y corpúsculos con mayores alteraciones. (Tabla 2, Figuras 1 y 2). En el intersticio no se apreció fibrosis y solo se encontraron alteraciones en DV y D 0,5 (Tabla 2, Figura 3).

Características histológicas	ND	DV	D 0,25	D 0,5
<b>Corpúsculos</b>				
Adherencias y sinequias entre el glomérulo y la cápsula de Bowman	0	++	+	+++
Dilatación y congestión de los capilares glomerulares	0	++	+	+++
Discontinuidad de la membrana basal de la cápsula de Bowman	0	++	+	++
Infiltrado inflamatorio	0	+	0	+
Expansión mesangial	0	+	0	+
<b>Túbulos proximales</b>				
Tumefacción del epitelio	0	+++	++	+++
Células descamadas en la luz	0	+++	++	+++
Discontinuidad de la membrana basal	0	++	+	++
Pérdida parcial o total del ribete en cepillo	0	++	+	++
Dilatación de la luz	0	++	+	++
Atrofia	0	++	+	++
Necrosis	0	++	0	+
<b>Intersticio</b>				
Infiltrado inflamatorio	0	+	0	++
Dilatación y congestión de los capilares peritubulares	0	+	0	+++
Hemorragia focal	0	0	0	+
Fibrosis	0	0	0	0

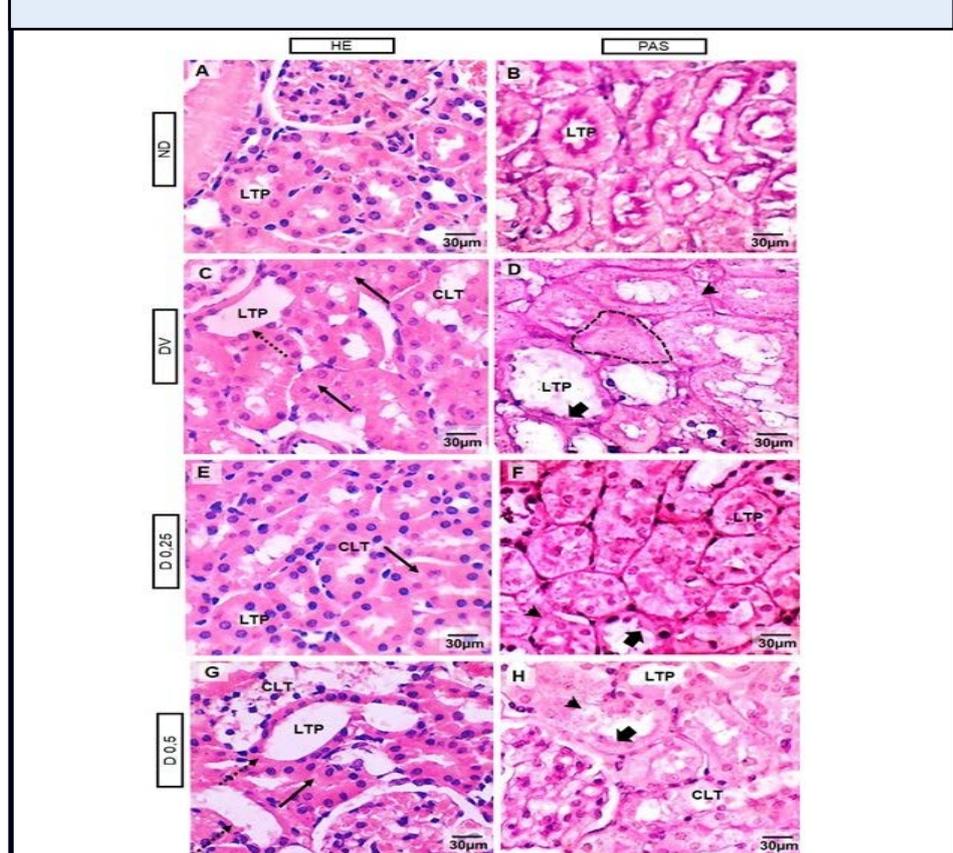
ND- sanas; DV- diabéticas con vehículo; D 0,25- diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D 0,5- diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO. 0: ausente; +: leve; ++: moderado; +++: severo.

**Figura 1. Micrografías ópticas representativas de los corpúsculos renales de ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO y sus controles**

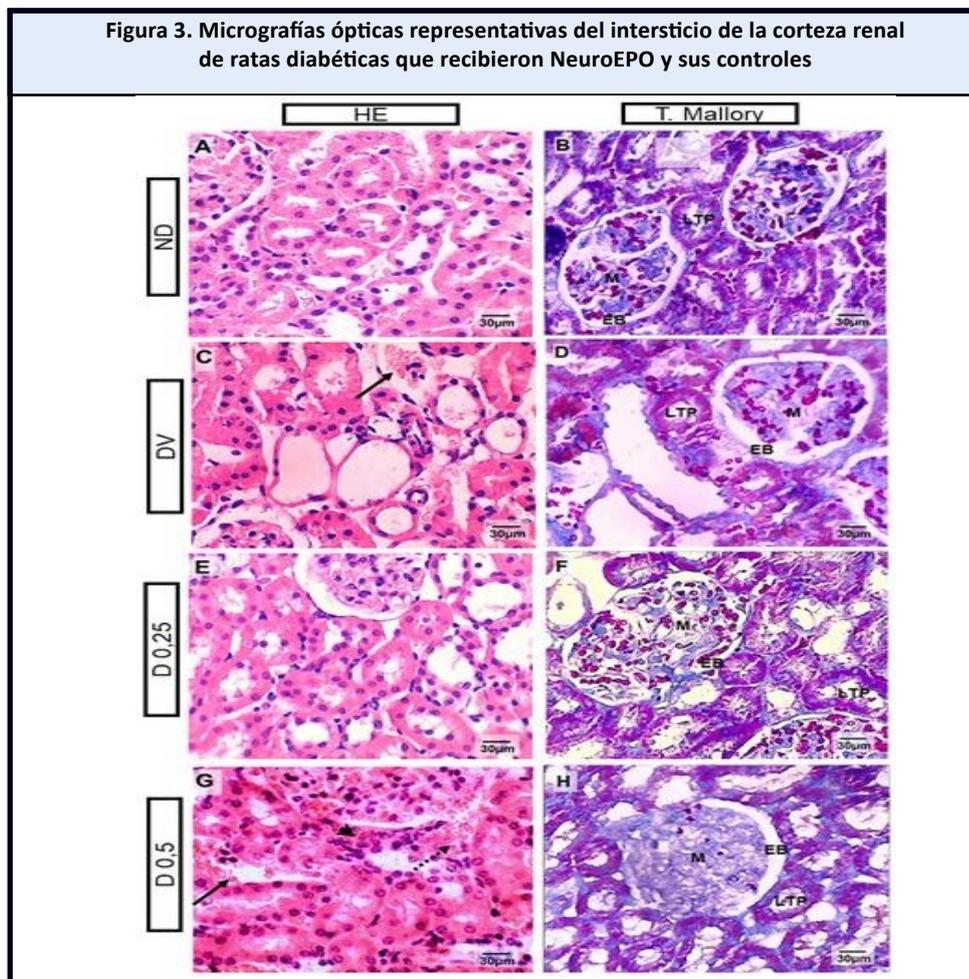


HE: hematoxilina/eosina; PAS: ácido peryódico de Schiff. Magnificación 400 X. ND: sanas; DV: diabéticas con vehículo; D 0,25: diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D 0,5: diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO. Glom: glomérulo; M: mesangio; EB: espacio de Bowman; Flecha negra continua: adherencia; Flecha negra discontinua: sinequia; Punta de flecha: discontinuidad de la membrana basal de la cápsula de Bowman; Flecha amarilla: capilares glomerulares dilatados y congestivos

**Figura 2. Micrografías ópticas representativas de los túbulos proximales de ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO y sus controles**



HE: hematoxilina / eosina; PAS: ácido peryódico de Schiff. Magnificación 400 X. ND: sanas; DV: diabéticas con vehículo; D 0,25: diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D 0,5: diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO. LTP: luz; CLT: células descamadas; Flecha negra continua: tumefacción epitelial; Flecha negra discontinua: luz dilatada y epitelio atrófico; Punta de flecha: discontinuidad de la membrana basal; Flecha negra corta: pérdida del ribete en cepillo; Zona con líneas discontinuas: pérdida de la arquitectura tubular y signos de necrosis.



HE: hematoxilina / eosina; T Mallory: tricrómica de Mallory. Magnificación 400 X. ND: sanas; DV: diabéticas con vehículo; D 0,25: diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D 0,5: diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO. Flecha continua: capilares dilatados y congestivos; Flecha discontinua: hemorragia focal; Punta de flecha: infiltrado inflamatorio; M: mesangio; EB: espacio de Bowman; LTP: luz del túbulo proximal.

DV presentó mayor área corpuscular, glomerular y de la luz tubular, y menor área de epitelio tubular, al comparar con ND. En D 0,25 los corpúsculos fueron similares a los de DV, pero los túbulos mostraron menor área de la luz y mayor área de epitelio. En D 0,5 los túbulos se encontraron similares a los de DV, pero se encontró mayor área corpuscular y glomerular. (Tabla 3).

**Tabla 3. Morfometría de los corpúsculos renales y túbulos proximales de ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO y sus controles**

Área (μm <sup>2</sup> )	ND	DV	D 0,25	D 0,5
<b>Corpúsculos</b>	753,8 (368,6 – 1136,6)	874,5 * (500,0 – 1133,6)	932,6 * (501,7 – 1569,4)	988,3 * # (581,7 – 1778,2)
<b>Glomérulos</b>	560,8 (215,9 – 908,2)	687,9 * (381,0 – 946,2)	715,4 * (316,5 – 1287,8)	749,5 * # (410,8 – 1272,2)
<b>Espacio de Bowman</b>	194,0 (121,9 – 292,4)	181,0 (69,0 – 357,4)	201,1 (86,8 – 360,6)	182,3 (25,1 – 561,7)
<b>Túbulos</b>	129,2 (81,1 – 228,4)	129,0 (76,0 – 299,4)	134,0 (85,5 – 191,4)	124,9 (81,0 – 226,4)
<b>Luz tubular</b>	11,1 (1,0 – 37,1)	31,2 * (5,6 – 167,4)	19,4 * # (3,8 – 51,3)	28,3 * + (5,2 – 95,0)
<b>Epitelio tubular</b>	114,6 (64,6 – 210,6)	98,2 * (45,3 – 198,1)	115,0 # (68,9 – 152,8)	89,7 * + (54,5 – 175,0)

\* p < 0,05 contra ND; # p < 0,05 contra DV; + p < 0,05 contra D 0,25 (Kruskal-Wallis y Dunn). n= 100. Se muestra mediana (mínimo – máximo). ND- sanas; DV- diabéticas con vehículo; D 0,25- diabéticas con 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D 0,5- diabéticas con 0,5 mg/kg de NeuroEPO

## DISCUSIÓN

Los resultados muestran que las ratas con diabetes inducida por la STZ presentaron varias alteraciones renales. La STZ destruye las células beta del páncreas y puede afectar a otros órganos, como el riñón,<sup>(18)</sup> pero existen evidencias de que los efectos tóxicos se manifiestan dentro de las dos semanas posteriores a su administración.<sup>(24)</sup> Esto sugiere que los cambios encontrados en el riñón de las ratas del estudio son consecuencia de la diabetes y no de una acción tóxica de la STZ.

La hiperglicemia conduce a hiperfiltración renal, que se manifiesta por poliuria<sup>(25)</sup> y se asocia a hipertrofia glomerular,<sup>(26)</sup> lo que contribuye al incremento de la masa renal, como ha sido constatado en otras investigaciones.<sup>(27,28)</sup> Lo anterior coincide con lo encontrado en las ratas diabéticas del presente estudio, en las que se observó mayor peso renal y área glomerular. Estas modificaciones se establecen en las etapas iniciales de la enfermedad renal diabética y se relacionan con su progresión.<sup>(28)</sup>

En los corpúsculos renales de las ratas diabéticas que recibieron el vehículo se encontraron alteraciones en la cápsula de Bowman y los glomérulos que concuerdan con lo reportado en la literatura.<sup>(26,29,30)</sup> La dilatación y congestión capilar, así como el infiltrado inflamatorio y la expansión mesangial, aunque leves, pudieron contribuir a la hipertrofia glomerular y renal. También se evidenció daño de los túbulos proximales, lo que puede producirse incluso antes que el daño glomerular y tiene un papel importante en el desarrollo de la enfermedad renal en ausencia de proteinuria.<sup>(31)</sup>

Se sabe que el exceso de glucosa favorece la formación de productos de glicosilación avanzada y especies reactivas del oxígeno, que activan vías inflamatorias y profibróticas en el riñón.<sup>(31,32)</sup> En modelos murinos de diabetes se ha reportado fibrosis renal,<sup>(29,33,34)</sup> más frecuente después de 10 a 12 semanas, por lo que su ausencia en las ratas del presente estudio se corresponde con la menor duración del experimento.

Por otra parte, en los grupos de ratas diabéticas no se constataron modificaciones en la albuminuria y la concentración de creatinina plasmática, variables que se incrementan con el daño renal progresivo. Es conocido que las manifestaciones de una nefropatía no aparecen hasta que el número de nefronas funcionales se reduce al menos en 70 %.<sup>(35)</sup> Esto indica que las ratas Wistar con seis semanas de inducida la diabetes con STZ, aun con alteraciones estructurales renales, presentan un estado de hiperfiltración glomerular sin insuficiencia renal, lo que aporta a la caracterización del biomodelo.

Otros resultados evidencian por primera vez efectos favorables de la NeuroEPO en la morfología renal de ratas diabéticas. Con la dosis más baja evaluada las alteraciones de la corteza renal fueron menos frecuentes y severas, sin expansión mesangial, dilatación y congestión capilar o infiltrado inflamatorio, lo que puede haber contribuido al menor peso renal.

Un mecanismo mediante el cual la NeuroEPO puede tener efectos protectores en el riñón de ratas diabéticas es la disminución de la hiperglicemia, que ha sido reportada en estudios previos<sup>(11,12,13)</sup> y confirmada en la presente investigación. Este resultado coincide con la acción de otras variantes de la EPO administradas a ratas diabéticas, lo que se ha asociado a recuperación del páncreas,<sup>(36)</sup> menor gluconeogénesis hepática<sup>(37)</sup> y aumento de los transportadores de glucosa GLUT4 en el músculo esquelético.<sup>(38)</sup>

Asimismo, se han demostrado efectos directos de la EPO en el riñón que pueden mediar en los beneficios observados con la dosis menor de NeuroEPO y que pudieran ser comprobados en futuros estudios. La administración de formas sintéticas de la EPO se asoció a menor peso renal, lesión tubular, fibrosis, creatinina sérica, albuminuria e inflamación en ratas diabéticas,<sup>(29)</sup> así como a la recuperación del número de podocitos en ratones diabéticos;<sup>(39)</sup> en otros modelos de daño renal, se relacionó con menor inflamación, apoptosis, estrés oxidativo y acumulación de matriz extracelular.<sup>(9)</sup>

El hecho de que la presente investigación se realizó solo en ratas hembras, constituye una **limitación** de los resultados, por lo que sería recomendable la realización de estudios similares en los que se empleen animales de ambos sexos. Por otra parte, el empleo de técnicas de inmunohistoquímica y de microscopía electrónica permitiría una mayor precisión de los resultados histológicos.

Con la dosis 0,5 mg/kg de NeuroEPO también disminuyó la hiperglicemia, pero no se apreciaron efectos favorables en la morfología renal y algunas alteraciones fueron más severas que en el grupo que recibió el vehículo. En estudios previos con esta dosis en ratas diabéticas no se detectaron eventos adversos durante un máximo de tres semanas,<sup>(11,12,13)</sup> pero los resultados actuales evidencian que pueden aparecer cuando se administra por un tiempo más prolongado (cinco semanas). Lo anterior sugiere manifestaciones de toxicidad subaguda, que puede ser provocada por mecanismos como la estimulación de vías pro-oxidantes o la disminución de las concentraciones fisiológicas de especies reactivas del oxígeno necesarias para la función celular óptima, entre otros.<sup>(40)</sup>

## CONCLUSIONES

La administración repetida de 0,25 mg/kg de NeuroEPO por vía subcutánea, tiene efectos protectores en el riñón de ratas diabéticas. El doble de esta dosis provoca efectos adversos.

## AGRADECIMIENTO

A la Dr. C. Teresita Rodríguez, por proporcionar la NeuroEPO y el vehículo. A los técnicos que participaron en la atención de los animales. Al Dr. Víctor M. Rodríguez, por los procedimientos de cirugía experimental. A la Dra. Melvis T. Zumeta, por sus aclaraciones durante el estudio histológico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Panorama de la diabetes en la Región de las Américas [Internet]. Washington: OPS; 2023 [Citado 10/02/2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.37774/9789275326336>
2. Federación Internacional de la Diabetes. Atlas de la diabetes de la FID [Internet]. Bélgica: Federación Internacional de la Diabetes; 2019 [Citado 10/02/2024]. Disponible en: [https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133352\\_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf](https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf)
3. Dirección de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. Anuario estadístico de salud 2022 [Internet]. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2023 [Citado 10/02/2024]. Disponible en: <https://temas.sld.cu/estadisticassalud/>
4. Revueltas Agüero M, Benítez Martínez M, Molina Esquivel E, Hinojosa Ivarez MdC, Venero Fernández S, Hernández Sánchez M. Prevalencia y mortalidad por diabetes en Cuba, decenio 2010-2019. Rev haban cienc méd [Internet]. 2022 [Citado 10/02/2024];21(1). Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4239>
5. Polanco-Flores NA, Rodríguez-Castellanos F. Resultados de un programa de detección temprana de nefropatía diabética. Med interna Méx [Internet]. 2019 [Citado 10/02/2024];35(2):198-207. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-48662019000200198&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-48662019000200198&script=sci_arttext)
6. Wu T, Ding L, Andoh V, Zhang J, Chen L. The mechanism of hyperglycemia-induced renal cell injury in diabetic nephropathy disease: an update. Life [Internet]. 2023 [Citado 10/02/2024];13(2):539. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/life13020539>
7. Suresh S, Rajvanshi PK, Noguchi CT. The many facets of erythropoietin physiologic and metabolic response. Front Physiol [Internet]. 2020 [Citado 10/02/2024];10:1534. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.01534/full>
8. Peng B, Kong G, Yang C, Ming Y. Erythropoietin and its derivatives: from tissue protection to immune regulation. Cell Death Dis [Internet]. 2020 [Citado 10/02/2024];11(2):1-12. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41419-020-2276-8>
9. Jiménez MEF, Romero TF. Efecto renoprotector de la eritropoyetina en modelos animales de daño renal. Revisión sistemática. Rev haban cienc méd [Internet]. 2023 [Citado 10/02/2024];22(1):5215. Disponible en: <https://revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5215/3267>
10. Peña GF, Pérez Hernández CL, Román Guerra OI, Romero TF. Evidencias del potencial neuroprotector de la NeuroEPO en estudios preclínicos y ensayos clínicos; revisión sistemática. Rev haban cienc méd [Internet]. 2023 [Citado 10/02/2024];22(4). Disponible en: <https://revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/issue/view/131>
11. Fernández Romero T, Clapés Hernández S, Pérez Hernández CL, Barreto López JJ, Fernández Peña G. Efecto hipoglucemiante de la NeuroEPO en ratas con y sin Diabetes Mellitus. Rev haban cienc méd [Internet]. 2022 [Citado 10/02/2024]; 21(1). Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4617>
12. Fernández Romero T, Clapés Hernández S, Pérez Hernández CL, Núñez López N, Suárez Román G, Fernández Peña G. Efecto protector de la NeuroEPO en la reproducción de ratas diabéticas. Rev haban cienc méd [Internet]. 2022 [Citado 10/02/2024];21(4). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2022000400004&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2022000400004&script=sci_arttext&lng=en)
13. Barreto JJ. Influencia de la NeuroEPO en la homeostasis de la glucosa en ratas [Tesis Especialidad]. La Habana: Universidad de Ciencias Médicas de la Habana; 2020.
14. Kaushik K, Vaswani R. Research on animals and current UGC guidelines on animal dissection and experimentation: A critical analysis. Bioethics Update [Internet]. 2018 [Citado 10/02/2024];4(2):119-39. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2395938X18300214>
15. McCormick-Ell J, Connell N. Laboratory safety, biosecurity, and responsible animal use. ILAR journal [Internet]. 2019 [Citado 10/02/2024];60(1):24-33. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ilar/ilz012>

16. MINED. Decreto Ley 31/2021 "De Bienestar Animal". La Habana: Consejo de Estado [Internet]. La Habana: MINED; 2021 [Citado 10/02/2024]. Disponible en: <https://www.mined.gob.cu/wp-content/uploads/2022/01/goc-2021-ex25-.pdf>
17. Sneddon LU, Halsey LG, Bury NR. Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology. *J Exp Biol* [Internet]. 2017 [Citado 10/02/2024]; 220(17):3007-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1242/jeb.147058>
18. Ghasemi A, Jeddi S. Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: A practical guide. *EXCLI journal* [Internet]. 2023 [Citado 10/02/2024]; 22:274. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10043433/>
19. Benozzi SF, Pennacchiotti GL. Albuminuria: consideraciones preanalíticas y analíticas. *Acta bioquím clín latinoam* [Internet]. 2017 [Citado 10/02/2024]; 51(1):45-51. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/535/53550497008.pdf>
20. Leary S, Underwood W, Anthony R, Cartner S, Grandin T, Greenacre C, et al. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals, 2020 [Internet]. USA: American Veterinary Medical Association; 2020 [Citado 10/02/2024]. Disponible en: [https://www.spandidos-publications.com/var/AVMA\\_euthanasia\\_guidelines\\_2020.pdf](https://www.spandidos-publications.com/var/AVMA_euthanasia_guidelines_2020.pdf)
21. Rifai N. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2017.
22. Mondal SK. *Manual of histological techniques*. EE UU: JP Medical Ltd; 2017.
23. Ferreira T, Rasband W. ImageJ User Guide IJ 1.46r [Internet]. EE UU: IJ; 2019 [Citado 10/02/2024]; 1. Disponible en: <https://ij/docs/guide/>
24. Bilal HM, Riaz F, Munir K, Saqib A, Sarwar MR. Histological changes in the liver of diabetic rats: A review of pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease in type 1 diabetes mellitus. *Cogent Medicine* [Internet]. 2016 [Citado 10/02/2024]; 3(1):1275415. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/2331205X.2016.1275415>
25. Pérez JS. Fisiopatología del riñón en el paciente con Diabetes Práctica [Internet]. 2020 [Citado 10/02/2024]; 11(Supl Extr 3):1-20. Disponible en: <https://doi.org/10.26322/2013.7923.1505400551.0>
26. Naseri M, Sereshki ZK, Ghavami B, Zangii BM, Kamalinejad M, Moghaddam PM. Preliminary results of effect of barley (*Hordeum vulgare* L.) extract on liver, pancreas, kidneys and cardiac tissues in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Transl Myol* [Internet]. 2022 [Citado 10/02/2024]; 32(1). Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/cec2/8ad9c3d747d903204bb1b2692e63456f47a3.pdf>
27. Bequer L, Gómez T, Molina JL, Artiles D, Bermúdez R, Clapés S. Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica* [Internet]. 2016 [Citado 10/02/2024]; 36(2):230-8. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572016000200009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572016000200009&script=sci_arttext)
28. Uehara-Watanabe N, Okuno-Ozeki N, Minamida A, Nakamura I, Nakata T, Nakai K, et al. Direct evidence of proximal tubular proliferation in early diabetic nephropathy. *Scientific reports* [Internet]. 2022 [Citado 10/02/2024]; 12(1):778. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-04880-1>
29. Fouda AM, Ashour RH, El-Banna F, Saad MA, Mostafa FA, Fouda MI. Differential Effects of Low-Dose Erythropoietin in Rat Model of Diabetic Nephropathy. *Adv Med Med Res* [Internet]. 2018 [Citado 10/02/2024]; 1(1):25-33. Disponible en: <http://www.manspub.com/ojs3/index.php/AMMR/article/view/17>
30. Eren Z, Günal MY, Arı E, Çoban J, Çakalağaoğlu F, Çağlayan B, et al. Pleiotropic and renoprotective effects of erythropoietin beta on experimental diabetic nephropathy model. *Nephron* [Internet]. 2016 [Citado 10/02/2024]; 132(4):292-300. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000444649>
31. Haraguchi R, Kohara Y, Matsubayashi K, Kitazawa R, Kitazawa S. New insights into the pathogenesis of diabetic nephropathy: proximal renal tubules are primary target of oxidative stress in diabetic kidney. *Acta histochemica et cytochemica* [Internet]. 2020 [Citado 10/02/2024]; 53(2):21-31. Disponible en: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/ahc/53/2/53\\_20008/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/ahc/53/2/53_20008/_article/-char/ja/)
32. Meza Letelier CE, San Martín Ojeda CA, Ruiz Provoste JJ, Frugone Zaror CJ. Fisiopatología de la nefropatía diabética: una revisión de la literatura. *Medwave* [Internet]. 2017 [Citado 10/02/2024]; 17(01). Disponible en: <https://www.medwave.cl/medios/medwave/Enero-febrero2017/PDF/medwave-2017-01-6839.pdf>
33. Tang Y, Tang J, Qian P, Zhang Y, Shen R, Shen X. Recombinant human erythropoietin restrains oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats exposed to renal ischemia reperfusion injury. *Transplantation Proceedings* [Internet]. 2019 [Citado 10/02/2024]; 51(6):2076-80. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041134519302301>

34. Giralt-López A, Molina-Van den Bosch M, Vergara A, García-Carro C, Seron D, Jacobs-Cachá C. Revisiting experimental models of diabetic nephropathy. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 [Citado 10/02/2024];21(10):3587. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/10/3587>
35. Hall JE. Guyton & Hall. Tratado de fisiología médica. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2021.
36. Kuo S-C, Li Y, Cheng K-C, Niu C-S, Cheng J-T, Niu H-S. Investigation of the pronounced erythropoietin-induced reduction in hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. *Endocrine journal* [Internet]. 2018 [Citado 10/02/2024];65(2):181-91. Disponible en: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/65/2/65\\_EJ17-0353/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/65/2/65_EJ17-0353/_article/-char/ja/)
37. Niu HS, Chang CH, Niu CS, Cheng JT, Lee KS. Erythropoietin ameliorates hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. *Drug design, development and therapy* [Internet]. 2016 [Citado 10/02/2024];10:1877-84. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/DDDT.S105867>
38. El-Desouki N, Tabl G, Abdel-Aziz K, Salim E, Nazeeh N. Improvement in beta-islets of Langerhans in alloxan-induced diabetic rats by erythropoietin and spirulina. *The Journal of Basic & Applied Zoology* [Internet]. 2015 [Citado 10/02/2024];71:20-31. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090989615000260>
39. Loeffler I, Rüster C, Franke S, Liebisch M, Wolf G. Erythropoietin ameliorates podocyte injury in advanced diabetic nephropathy in the db/db mouse. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2013 [Citado 10/02/2024];305(6):F911-F8. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.00643.2012>
40. Baig MW, Majid M, Nasir B, Hassan SS, Bungau S, Haq I. Toxicity evaluation induced by single and 28-days repeated exposure of withametelin and daturaolone in Sprague Dawley rats. *Front Pharmacol* [Internet]. 2022 [Citado 10/02/2024]; 13:999078. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.999078>

#### **Financiación**

No existió fuente de financiamiento externa para el desarrollo de la investigación.

#### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que es un trabajo inédito y no existen conflictos de intereses en relación con la investigación presentada.

#### **Contribución de autoría**

Mónica Elena Fernández Jiménez: Curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, visualización, redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

Alicia Borroto Leiseca: Curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, visualización, redacción del borrador original, redacción, revisión y edición.

Ketty Suárez Borrás: Curación de datos, análisis formal, investigación, validación, redacción, revisión y edición.

Giselle Fernández Peña: Curación de datos, análisis formal, investigación, validación, redacción, revisión y edición.

Olivia Ileana Román Guerra: Curación de datos, análisis formal, investigación, redacción, revisión y edición.

Adina Pérez Mejías: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, redacción, revisión y edición.

Lilia Caridad Marín Padrón: Curación de datos, análisis formal, investigación, redacción, revisión y edición.

Dailén Darías Rivera: Curación de datos, análisis formal, investigación, redacción, revisión y edición.

Tatiana Acosta Sánchez: Curación de datos, análisis formal, redacción, revisión y edición.

Tammy Fernández Romero: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, administración del proyecto, visualización, 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