

Efecto de la NeuroEPO en el control metabólico de ratas diabéticas**Effect of NeuroEPO in the metabolic control of diabetic rats**

Olivia I. Román Guerra^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-8182-4938>

Ketty Suárez Borrás² <https://orcid.org/0000-0002-3998-1657>

Alicia Borroto Leiseca³ <https://orcid.org/0000-0002-5567-9052>

Mónica E. Fernández Jiménez⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5094-6721>

Gisselle Fernández Peña⁵ <https://orcid.org/0000-0002-5339-8118>

Adina Pérez Mejías⁶ <https://orcid.org/0000-0001-9354-5461>

Lilia C. Marín Padrón⁷ <https://orcid.org/0000-0001-9819-4648>

Dailen Darias Rivera⁸ <https://orcid.org/0000-0002-5399-7823>

Tatiana Acosta Sánchez⁹ <https://orcid.org/0000-0002-8442-8391>

Tammy Fernández Romero¹⁰ <https://orcid.org/0000-0002-2478-6365>

¹⁻¹⁰ Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”, Facultad de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba.

^{7,9} Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

⁸ Complejo Ortopédico Internacional Hospital Frank País. La Habana, Cuba.

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

RESUMEN

Introducción: la diabetes mellitus constituye un problema de salud creciente que demanda nuevos tratamientos. El objetivo fue evaluar el efecto de la NeuroEPO en el control metabólico de ratas diabéticas.

Métodos: se realizó un estudio en ratas Wistar hembras adultas, con diabetes inducida por estreptozotocina. Dos grupos recibieron diferentes dosis de NeuroEPO (0,25 mg/kg y 0,5 mg/kg) y otro vehículo, vía subcutánea, tres veces por semana, por cinco semanas. Se empleó un grupo de ratas sanas como control. Se evaluó la homeostasis de la glucosa, el peso corporal y variables de química sanguínea. Se realizaron comparaciones con las pruebas análisis de la varianza de uno y dos factores, Bonferroni y Newman-Keuls; las diferencias se consideraron significativas con $p < 0,05$.

Resultados: el grupo con vehículo presentó hiperglicemia, hipertrigliceridemia, hipoproteinemia y pérdida de peso. El grupo con 0,25 mg/kg de NeuroEPO mostró menor hiperglicemia y triglicéridos plasmáticos que el vehículo, con tolerancia adecuada a la glucosa. El grupo con 0,5 mg/kg de NeuroEPO exhibió menor concentración de triglicéridos plasmáticos que el vehículo y disminución de la glicemia durante tres semanas, pero tolerancia alterada a la glucosa y peso corporal inferior al resto de los grupos. La sensibilidad a la insulina fue similar en los grupos de ratas diabéticas.

Conclusiones: la administración repetida de 0,25 mg/kg de NeuroEPO por vía subcutánea favorece el control metabólico de ratas diabéticas, por efectos beneficiosos en la homeostasis de la glucosa y el metabolismo lipídico. Con la dosis 0,5 mg/kg se producen eventos adversos.

Palabras clave: estreptozotocina; ratas diabéticas; eritropoyetina y diabetes mellitus; NeuroEPO y diabetes mellitus

ABSTRACT

Introduction: diabetes mellitus is a growing health problem that requires new treatments. The objective was to evaluate the effect of NeuroEPO on the metabolic control of diabetic rats.

Methods: a study was conducted in adult female Wistar rats with streptozotocin-induced diabetes. Two groups received different doses of NeuroEPO (0.25 mg/kg and 0.5 mg/kg) and another received the vehicle, subcutaneously, three times a week for five weeks. A group of healthy rats was used as a control. Glucose homeostasis, body weight, and blood chemistry variables were evaluated. Comparisons were made using one- and two-way analysis of variance, Bonferroni, and Newman-Keuls tests; differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results: the vehicle group presented hyperglycemia, hypertriglyceridemia, hypoproteinemia, and body weight loss. The 0.25 mg/kg NeuroEPO group showed lower hyperglycemia and plasma triglyceride levels than the vehicle group, with adequate glucose tolerance. The 0.5 mg/kg NeuroEPO group showed lower plasma triglyceride concentrations than the vehicle group and decreased blood glucose levels over three weeks, but impaired glucose tolerance and lower body weight than the other groups. Insulin sensitivity was similar in the diabetic rat groups.

Conclusions: repeated subcutaneous administration of 0.25 mg/kg of NeuroEPO improves metabolic control in diabetic rats, due to beneficial effects on glucose homeostasis and lipid metabolism. Adverse events occur at a dose of 0.5 mg/kg.

Keywords: streptozotocin; diabetic rats; erythropoietin and diabetes mellitus; NeuroEPO and diabetes mellitus.

Recibido: 12/05/2025

Aceptado: 29/08/2025

Introducción

La diabetes mellitus (diabetes) es un síndrome caracterizado por hiperglicemia crónica y alteraciones en el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas, debido a un déficit en la secreción o acción de la insulina.⁽¹⁾ Se estima que en el mundo más de 420 millones de adultos la padecen.⁽²⁾ Como ocurre a nivel global, en Cuba tiene tendencia al ascenso, con un incremento de la prevalencia, morbilidad y mortalidad.^(3,4)

La diabetes y sus complicaciones son más frecuentes en el sexo femenino, lo que guarda relación con fenómenos dependientes del sexo, como la homeostasis de la glucosa, la sensibilidad a la insulina y la función de las células beta del páncreas.^(5,6) Las complicaciones se asocian con el estado pro-oxidante y pro-inflamatorio crónico que se genera como consecuencia de los trastornos metabólicos.⁽⁷⁾ De aquí que el control metabólico adecuado es un factor que determina la evolución de los pacientes diabéticos y constituye un reto para los sistemas de salud, a pesar de los avances en los tratamientos actuales.

En investigaciones previas se evaluó el efecto de la NeuroEPO, un producto de la biotecnología cubana derivado de la eritropoyetina (EPO) recombinante humana, en ratas diabéticas; los estudios mostraron que la dosis 0,5 mg/kg disminuyó la hiperglicemia y que dosis más altas provocaron efectos perjudiciales por incremento de las pérdidas de la gestación.⁽⁸⁻¹⁰⁾ El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la NeuroEPO en el control metabólico de ratas diabéticas.

Métodos

La investigación se realizó en el Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"- Facultad de Ciencias Médicas, de mayo - diciembre de 2023. Fue aprobada por el Consejo científico y el Comité institucional para el cuidado y uso y de los animales de laboratorio. Se desarrolló en ratas Wistar hembras

adultas, con peso inicial de 200 g - 250 g, procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB); se utilizó la menor cantidad que permitiera cumplir los requerimientos del estudio y el principio de las 3 R, en su uso y cuidado se cumplieron las regulaciones nacionales e internacionales, y la eutanasia se realizó por un método aprobado.⁽¹¹⁻¹⁴⁾

Animales, condiciones ambientales y formación de los grupos

Las ratas se mantuvieron en cajas apropiadas, con ciclos constantes de luz y oscuridad de 12 horas/ 12 horas, temperatura de 21 °C - 23 °C, con acceso libre al alimento estándar (CENPALAB) y a agua filtrada. Después de una semana de adaptación al medio, un grupo recibió STZ (SIGMA) 65 mg/kg en 200 µL de buffer citrato de sodio 0,1 M y pH 4,5, por vía intraperitoneal; a los siete días se diagnosticó la diabetes por niveles de glicemia superiores a 11 mmol/L. ⁽¹⁵⁾ A continuación, se formaron los grupos de manera aleatoria, hasta quedar constituidos por cinco animales cada uno:

- CS: ratas sanas.
- D1: ratas diabéticas + vehículo.
- D2: ratas diabéticas + 0,25 mg/kg de NeuroEPO.
- D3: ratas diabéticas + 0,5 mg/kg de NeuroEPO.

NeuroEPO y vehículo

La NeuroEPO⁽¹⁶⁾ y el vehículo fueron proporcionados por el Centro de Inmunología Molecular de Cuba. Se administraron por vía subcutánea, en la región dorsal de los animales, en un esquema de una dosis diaria, tres veces por semana, durante cinco semanas.

Eutanasia, recogida de sangre y obtención de plasma

La eutanasia de todos las ratas se realizó seis días después de la administración de la última dosis de NeuroEPO o vehículo a las diabéticas, mediante desangrado (punción cardíaca) bajo anestesia (tiopental sódico 50 mg/kg vía intraperitoneal). La sangre se colectó en tubos eppendorf con ácido etilendiamíntetracético (EDTA) al 5,6 %, 1 mg/ml, se centrifugó (centrífuga Eppendorf 5702R) a 3000 rpm durante 15 min a 4 °C, y el plasma se almacenó a - 20 °C hasta su procesamiento.

Variables y procedimientos para su estudio

- Glicemia en ayuno (mmol/L): se determinó en ayuno de 6 horas iniciado en la mañana,⁽¹⁷⁾ una vez por semana, siempre antes de administrar la dosis correspondiente de NeuroEPO o vehículo.
- Variación del peso corporal (g): diferencia entre el peso final (día de la eutanasia) y el peso inicial (antes de administrar la primera dosis de NeuroEPO o vehículo).
- Sensibilidad a la insulina: cambios en el porcentaje de la glicemia basal (%) durante una prueba de tolerancia a la insulina (PTI); se realizó solo en las ratas diabéticas, después de un ayuno de 6 horas iniciado en la mañana, ⁽¹⁷⁾ tres días después de la última dosis de NeuroEPO o vehículo. La prueba consistió en administrar 0,75 UI/kg de insulina por vía subcutánea, en el área dorsal de los animales, y determinar la glicemia a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos.⁽¹⁷⁾
- Tolerancia a la glucosa: se determinó mediante una prueba de tolerancia a la glucosa (PTG); se realizó en todos los grupos, posterior a un ayuno nocturno de 14 horas, cinco días después de la última dosis de NeuroEPO o vehículo. La prueba consistió en administrar una solución de glucosa 2 g/kg por vía oral, mediante una cánula esofágica, y determinar la glicemia a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.⁽¹⁷⁾

- Triglicéridos (mmol/L), colesterol total (mmol/L), proteínas totales (g/L) y albúmina (g/L) en plasma (analizador Mindray BS-200E y reactivos HEL-FA).

Las determinaciones de la glicemia se realizaron con un glucómetro (SUMASENSOR SXT) y sus biosensores, en sangre obtenida mediante un corte en la punta de la cola de las ratas.⁽¹²⁾

Procesamiento estadístico

Se utilizó el programa GraphPad Prism, versión 5.01 para Windows. Las variables siguieron una distribución normal con la prueba de Kolmogorov Smirnov. Para las comparaciones se emplearon las pruebas análisis de la varianza (ANOVA) de un factor y Newman-Keuls, o ANOVA de dos factores y Bonferroni. Los resultados se expresaron con estadígrafos descriptivos de dispersión, tendencia central y porcentaje. Las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$.

Resultados

Los resultados de la glicemia semanal mostraron valores mayores en los tres grupos de ratas diabéticas que en el grupo CS. En el grupo D2, las glicemias fueron menores que en el D1 desde la segunda semana del estudio. En el grupo D3, disminuyó la glicemia hasta la tercera semana, pero luego se incrementó a niveles similares a los del grupo D1 (Figura 1 A).

Al analizar la variación del peso corporal, se observó un incremento en todos los animales del grupo CS, con una ganancia promedio de 16 g, y una disminución en todas las ratas diabéticas. Los grupos D1 y D2 presentaron diferencias significativas con CS y fueron similares entre ellos, con una pérdida promedio de 33,0 g el D1 y de 31,1 g el D2. El grupo D 0,5 mostró diferencias significativas con el resto de los grupos, con una pérdida promedio de 61,1 g (Figura 1 B).

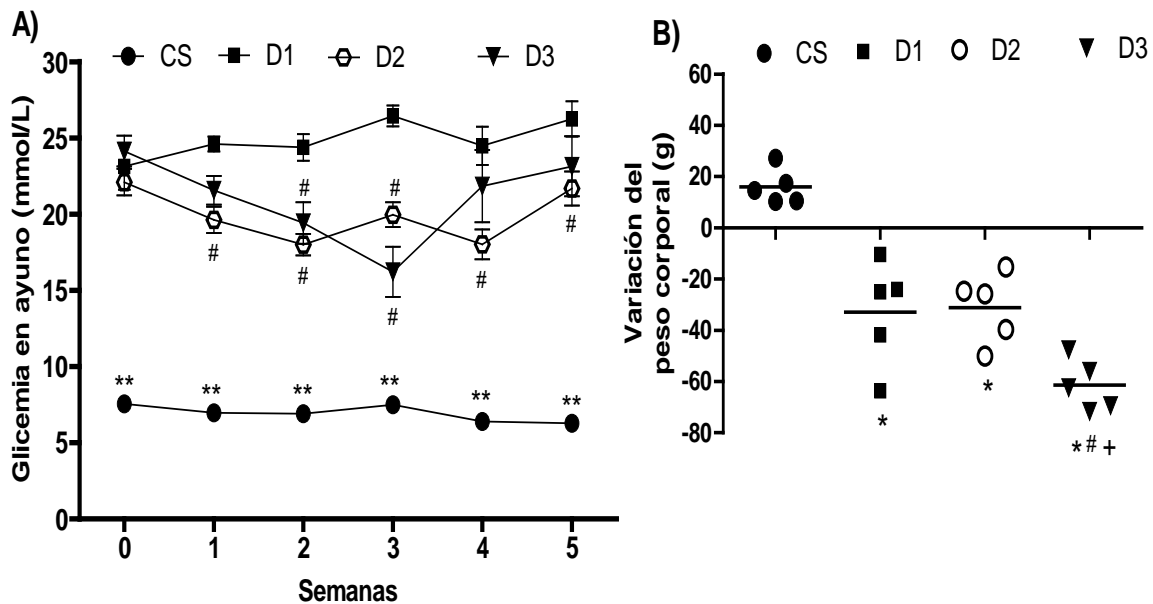


Fig. 1- Glicemia y peso corporal de ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO y sus controles. A) Glicemia en ayuno de 6 horas (ANOVA de dos factores y prueba de Bonferroni). B) Diferencia entre el peso final y el peso inicial (ANOVA de un factor y prueba de Newman-Keuls). ** $p < 0,05$ contra el resto de los grupos; # $p < 0,05$ contra D1; * $p < 0,05$ contra CS; + $p < 0,05$ contra D2. $n = 5$. CS- ratas sanas; D1- ratas diabéticas + vehículo; D2- ratas diabéticas + 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D3- ratas diabéticas + 0,5 mg/kg de NeuroEPO.

En la PTI realizada a las ratas diabéticas, no se observaron diferencias entre los grupos (Figura 2).

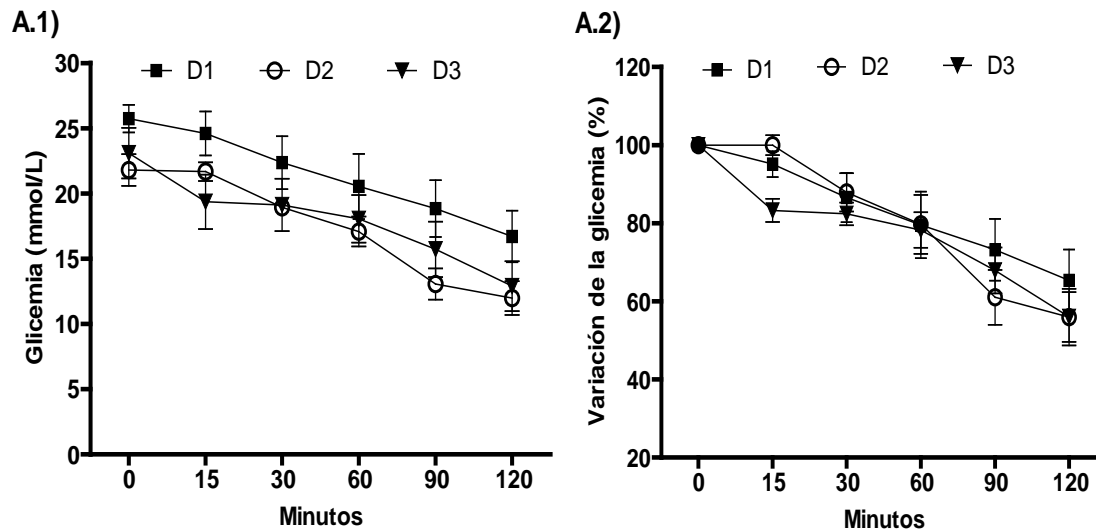


Fig. 2- Glicemia durante una prueba de tolerancia a la insulina en ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO o vehículo. Se muestra la glicemia en ayuno de 6 horas (tiempo 0) y después de recibir insulina 0,75 UI/kg por vía subcutánea. A.1) Estadística descriptiva.

A.2) $p > 0,05$ (ANOVA de dos factores). $n = 5$. CS- ratas sanas; D1- ratas diabéticas + vehículo; D2- ratas diabéticas + 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D3- ratas diabéticas + 0,5 mg/kg de NeuroEPO.

Después de administrar la solución de glucosa para la PTG, la glicemia en D1 superó el valor máximo que registra el glucómetro empleado (27,8 mmol/L) y se mantuvo así hasta el final del experimento (Figura 3 A.1). Durante la prueba, los valores de la glicemia con relación a la basal fueron mayores en D2 y D3, pero solo D3 presentó diferencias significativas con CS a los 90 min y 120 min de administrada la glucosa (Figura 3 A.2).

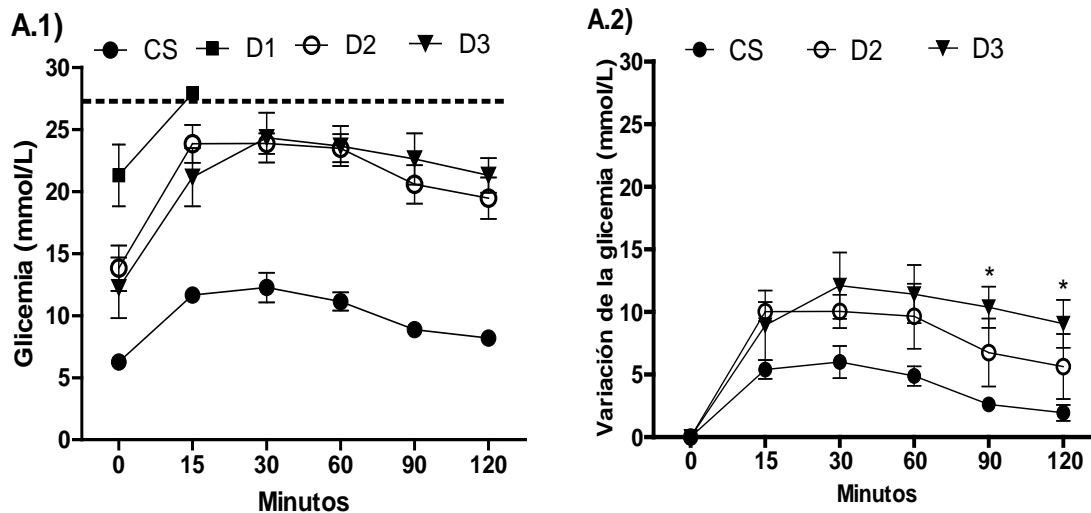


Fig. 3- Glicemia durante una prueba de tolerancia a la glucosa en ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO y sus controles. En ayuno de 14 horas (tiempo 0) y después de recibir una solución de glucosa 2 g/kg por vía oral. Línea discontinua: valor máximo que registra el glucómetro (27,8 mmol/L). A.1) Estadística descriptiva. A.2) ANOVA de dos factores y prueba de Bonferroni * $p < 0,05$ contra CS. $n = 5$. CS- ratas sanas; D1- ratas diabéticas + vehículo; D2- ratas diabéticas + 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D3- ratas diabéticas + 0,5 mg/kg de NeuroEPO.

Las determinaciones en el plasma mostraron concentraciones de proteínas totales y albúmina menores en las ratas diabéticas, sin diferencias con el uso de la NeuroEPO. Las concentraciones de triglicéridos en D1 fueron superiores a las de CS, mientras que en D2 y D3 fueron menores que en D1 y similares a CS. No se observaron diferencias en las concentraciones de colesterol total (Tabla 1).

Tabla 1- Variables de química sanguínea de ratas diabéticas que recibieron NeuroEPO y sus controles

Grupo	Triglicéridos (mmol/L)	Colesterol total (mmol/L)	Proteínas totales (g/L)	Albúmina (g/L)
CS	0,38 ± 0,15	0,58 ± 0,11	54,6 ± 7,3	35,3 ± 3,8
D1	0,80 ± 0,29 *	0,58 ± 0,18	39,8 ± 3,5 *	24,7 ± 2,3 *
D2	0,48 ± 0,15 #	0,58 ± 0,16	42,6 ± 4,3 *	25,8 ± 1,9 *
D3	0,46 ± 0,21 #	0,62 ± 0,26	38,4 ± 5,4 *	24,4 ± 3,2 *

Media ± desviación estándar. * p < 0,05 contra CS; # p < 0,05 contra D1 (ANOVA de un factor y prueba de Newman-Keuls). n= 5. CS- ratas sanas; D1- ratas diabéticas + vehículo; D2- ratas diabéticas + 0,25 mg/kg de NeuroEPO; D3- ratas diabéticas + 0,5 mg/kg de NeuroEPO.

Discusión

El estudio muestra que con las dos dosis de NeuroEPO administradas a ratas con diabetes inducida por la STZ, disminuyó la hiperglicemia y se evitó la hipertrigliceridemia observada en las ratas diabéticas que recibieron el vehículo. Por otra parte, la NeuroEPO no previno la hipoproteinemia y la pérdida de peso corporal que provoca la diabetes en estos animales, y no modificó la sensibilidad a la insulina. Otros resultados evidencian que con la dosis mayor de NeuroEPO, la disminución de la glicemia fue inestable, la tolerancia a la glucosa se encontró alterada y se produjo una pérdida significativa de peso corporal al comparar con el resto de los grupos del estudio.

Los resultados confirman la acción hipoglicemiante de la NeuroEPO que había sido reportada en ratas diabéticas,⁽⁸⁻¹⁰⁾ y que coincide con los efectos de otras variantes de EPO evaluadas en investigaciones previas.⁽¹⁸⁻²¹⁾ Algunos estudios han demostrado incremento de la expresión de receptores de la EPO y disminución de la expresión de enzimas de la gluconeogénesis en ratas diabéticas después de recibir varias dosis de EPO,^(18,19) lo que pudiera mediar en la disminución de la hiperglicemia con la NeuroEPO.

En una investigación se encontró disminución de la glicemia en ratas diabéticas luego de la aplicación de una dosis única de EPO, lo que se asoció con mayor expresión de los transportadores de glucosa GLUT4 en el músculo esquelético.⁽¹⁹⁾ Este efecto inmediato también se reportó con la NeuroEPO,⁽⁸⁾ pero no explica la disminución de la hiperglicemia en el presente estudio, ya que la glicemia siempre se determinó antes de administrar la dosis de NeuroEPO correspondiente.

Otro mecanismo que pudiera estar implicado en el efecto hipoglicemiante de la NeuroEPO es la disminución de la resistencia a la insulina. Aunque la diabetes tipo 1 se produce por un déficit de insulina, con el tiempo también puede desarrollarse resistencia a la acción de esta hormona.⁽²²⁾ En el estudio no se puede descartar la presencia de resistencia a la insulina en las ratas diabéticas, ya que no se realizó la PTI en los animales sanos para comparar, por el riesgo de hipoglicemia. Sin embargo, no se observaron diferencias en la PTI entre los grupos de ratas diabéticas, por lo que la NeuroEPO no modificó la sensibilidad a la insulina en estos animales.

Existen evidencias que sugieren que la EPO puede favorecer la recuperación del páncreas en ratas con diabetes inducida por STZ,^(18,23) debido a estimulación de la proliferación celular, disminución de la apoptosis y el estrés oxidativo, entre otros. Estos mecanismos han sido comprobados en estudios de neuroprotección con la NeuroEPO,⁽²⁴⁾ y pudieran estar implicados en los resultados obtenidos en las ratas diabéticas.

A favor de la hipótesis de que la NeuroEPO pudiera ejercer un beneficio en el páncreas de las ratas diabéticas se encuentra el resultado de la PTG; el grupo que recibió la dosis menor de NeuroEPO mostró cambios en la glicemia similares a los observados en las ratas sanas. Al no encontrar modificaciones en la sensibilidad a la insulina en ese grupo, la tolerancia adecuada a la glucosa pudiera deberse a una

secreción de insulina que permitiera una respuesta adecuada a la sobrecarga de glucosa.

Es importante destacar que no se pudieron analizar los cambios de la glicemia durante la PTG en el grupo que recibió el vehículo, al mantenerse los niveles superiores a los que registra el glucómetro empleado, lo que constituyó una limitación del estudio que debe tenerse en cuenta para investigaciones posteriores. Sin embargo, el resultado también constituye una evidencia del mejor control glicémico de las ratas que recibieron la NeuroEPO, en las que se pudo analizar la respuesta a la administración de glucosa oral.

Resultados diferentes se encontraron con las dos dosis de NeuroEPO evaluadas. En las ratas diabéticas que recibieron la dosis más alta, la disminución de la hiperglicemia no fue estable y se encontró una tolerancia alterada a la glucosa. Además, se produjo una pérdida significativa de peso corporal, lo que se considera un indicador de reacciones adversas.^(25,26) Estos resultados sugieren que la administración repetida de 0,5 mg/kg de NeuroEPO puede provocar eventos adversos en estos animales.

En los estudios previos con la NeuroEPO en ratas diabéticas, con la dosis 0,5 mg/kg no se observaron eventos adversos en las variables analizadas.⁽⁸⁻¹⁰⁾ La duración máxima de estos experimentos fue de tres semanas y sus resultados concuerdan con lo observado hasta la tercera semana del presente estudio en cuanto a la disminución significativa de la hiperglicemia. Sin embargo, los resultados actuales evidencian que un mayor número de aplicaciones de esa dosis, durante un tiempo más prolongado, resulta ser perjudicial.

Por otra parte, los niveles de colesterol total en sangre fueron similares en todos los grupos del estudio, pero se encontró hipertrigliceridemia en las ratas diabéticas que recibieron el vehículo, como en otros estudios.^(27,28) Lo anterior concuerda con

lo referido en la literatura de que en la diabetes es frecuente la hipertrigliceridemia con colesterol total incrementado o normal.^(29,30)

En la diabetes inducida por STZ en ratas, el incremento de los triglicéridos en sangre pudiera producirse por la deficiencia de insulina y la hiperglucagonemia secundaria. Aunque los mecanismos no están esclarecidos, en el hígado se incrementa la llegada de ácidos grasos y la activación por la hiperglicemia de vías independientes de la insulina, lo que favorece la formación de triglicéridos.⁽²²⁾

Así mismo, en la diabetes está favorecido el catabolismo y disminuida la síntesis de proteínas, lo que se evidenció en el estudio por la hipoproteinemia en las ratas diabéticas. Como consecuencia, en el hígado se afecta la formación de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y las que se producen presentan mayor contenido de triglicéridos; esto junto a su menor catabolismo por el déficit de insulina, conduce a la hipertrigliceridemia.⁽²⁹⁾

La menor concentración de triglicéridos plasmáticos en las ratas que recibieron la NeuroEPO pudiera deberse en parte a la reducción de la hiperglicemia, ya que el control glicémico adecuado tiene efectos favorables en los niveles y el funcionamiento de las lipoproteínas.⁽²⁹⁾ Además, si la NeuroEPO favoreciera la recuperación del páncreas en estos animales, la mayor producción de insulina contribuiría a un mejor control del metabolismo lipídico, lo que pudiera ser investigado en futuros estudios.

Los resultados permiten concluir que la administración repetida de 0,25 mg/kg de NeuroEPO por vía subcutánea favorece el control metabólico de ratas diabéticas, por efectos beneficiosos en la homeostasis de la glucosa y el metabolismo lipídico. Con la dosis 0,5 mg/kg se producen eventos adversos.

Agradecimientos

A la Dr. C. Teresita Rodríguez, por proporcionar la NeuroEPO y el vehículo, al Dr. Víctor M. Rodríguez, por los procedimientos de cirugía experimental, y al personal técnico que colaboró en la atención a los animales y el procesamiento de muestras.

Referencias bibliográficas

1. Licea ME, Acosta A, Álvarez VA, Aldana D, Arnold Y, Álvarez Y, *et al.* Diabetes mellitus. Una mirada integral. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2021. 848 p. ISBN 978-959-313-883-3. Disponible en:
<http://www.bvscuba.sld.cu/libro/diabetes-mellitus-una-mirada-integral//>
2. Organización Panamericana de la Salud. Panorama de la diabetes en la Región de las Américas. Washington, D.C.: OPS; 2023. Disponible en:
<https://doi.org/10.37774/9789275326336>.
3. Revueltas M, Benítez M, Molina E, Hinojosa MC, Venero S, Hernández M. Prevalencia y mortalidad por diabetes en Cuba, decenio 2010-2019. Rev haban cienc méd. 2022; 21(1):e4239. Disponible en:
<http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4239>
4. Dirección de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. Anuario estadístico de salud 2022. La Habana: Ministerio de Salud Pública. 2023. Disponible en:
<https://temas.sld.cu/estadisticassalud/>.
5. Federación Internacional de la Diabetes. Atlas de la diabetes de la FID. 9 ed. Bélgica: Federación Internacional de la Diabetes; 2019. Disponible en:
https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf
6. Gannon M, Kulkarni RN, Tse HM, Mauvais-Jarvis F. Sex differences underlying pancreatic islet biology and its dysfunction. Mol Metab. 2018; 15:82-91.

Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6066785/pdf/main.pdf>

7. Cobo-Vuilleumier N, Gauthier BR. Time for a paradigm shift in treating type 1 diabetes mellitus: coupling inflammation to islet regeneration. *Metabolism*. 2020; 104:154137. Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026-0495\(20\)30001-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026-0495(20)30001-9)

8. 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*. 2022; 21(1): e4617. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4617>

9. Fernández T, Clapés S, Pérez CL, Núñez N, Suárez G, Fernández G. Protective effect of NeuroEPO on the reproduction of diabetic rats. *Rev haban cienc méd*. 2022; 21(4):e4797. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4797>

10. Barreto JJ. Influencia de la NeuroEPO en la homeostasis de la glucosa en ratas (Tesis de especialidad). La Habana: Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"-Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Ciencias Médicas de la Habana; 2020.

11. Decreto Ley 31 [Internet]. [citado 2023 marzo 7]. La Habana: Consejo de Estado; 2021[updated 2021/04/10/T10:36:10-04:00. Disponible en: <https://www.gacetaoficial.gob.cu/es/decreto-ley-31-de-2021-de-consejo-de-estado>

12. McCormick-Ell J, Connell N. Laboratory safety, biosecurity and responsible animal use. *ILAR J*. 2019; 60(1):24-33. Disponible en: <https://academic.oup.com/ilarjournal/article-abstract/60/1/24/5550511>

13. Ethical Considerations in Animal Research: The Principle of 3R's. *Rev Invest Clin.* 2021; 73(4):199-209. Disponible en:
<https://www.scielo.org.mx/pdf/ric/v73n4/0034-8376-ric-73-4-199.pdf>
14. Underwood W, Anthony R. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition 2020. Disponible en: https://www.spandidos-publications.com/var/AVMA_euthanasia_guidelines_2020.pdf.
15. Ghasemi A, Jeddi S. Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. *EXCLI Journal.* 2023; 22:274-94. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10043433/pdf/EXCLI-22-274.pdf>
16. Muñoz Cernada A, García Rodríguez JC, Núñez Figueredo Y, Pardo Ruiz Z, García Selman JD, Sosa Testé I, *et al.* Formulaciones nasales de EPORh con bajo contenido de ácido siálico para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central [Internet]. La Habana; WO2007009404, 2007. Disponible en:
<https://patentscope.wipo.int/search/es/detail.jsf?docId=WO2007009404>
17. Bowe JE, Franklin ZJ, Hauge-Evans AC, King AJ, Persaud SJ, Jones PM. Metabolic phenotyping guidelines: assessing glucose homeostasis in rodent models. *J Endocrinol.* 2014; 222 (3): G13-25. Disponible en:
<https://joe.bioscientifica.com/downloadpdf/view/journals/joe/222/3/G13.pdf>
18. Kuo SH, Li Y, Cheng KC, Chen KC, Niu CS, Cheng JT, Niu HS. Investigation of the pronounced erythropoietin-induced reduction in hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. *Endocr J.* 2018; 65 (2):181-91. Disponible en:
https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/65/2/65_EJ17-0353/_pdf/-char/en
19. Niu HS, Shan Ch, Niu Sh, Cheng J, Lee K. Erythropoietin ameliorates hyperglycemia in type 1-like diabetic rats. *Drug Des Dev Ther.* 2016; 10:1877-84. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4902144/pdf/dddt-10-1877.pdf>

20. Mahmoud AM, Elalaf HM, Shaaban WM, Mahmoud ME. Possible effects of erythropoietin on diabetic rats. *Sohag Medical Journal*. 2020; 24 (1): 71-8.

Disponible en:

https://smj.journals.ekb.eg/article_65400_9c44966b18963231603a20a9a1bb5327.pdf

21. Kasemb HE, El-Mohsen WA, Shebla IS, El-Rahman AA, KamelInsulin MA. Insulin resistance in patients with end-stage renal disease on hemodialysis: effect of short-term erythropoietin therapy. *Journal of the Egyptian Society of Nephrology and Transplantation*. 2020; 20 (2):111- 19. Disponible en:

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjvp4j6y7-EAxW8QzABHZDxBBQQFnoECA4QAQ&url=https%3A%2F%2Fapplications.emro.who.int%2Fimemrf%2F218%2FJ-Egypt-Soc-Nephrol-2020-20-2-111-119-eng.pdf&usq=AOvVaw0yOMbuXaSmyVn6ZNbJw-GE&opi=89978449>

22. Lee SH, Park SY, Soo C. Insulin resistance: from mechanisms to therapeutic strategies. *Diabetes Metab J*. 2022; 46 (1):15-37. Disponible en:

<https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280>

23. Menger MM, Nalbach L, Roma LP, Körbel C, Wrublewsky S, Glanemann M, *et al*. Erythropoietin accelerates the revascularization of transplanted pancreatic islets. *Br J Pharmacol*. 2020; 177 (7):1651-65. Disponible en:

<https://doi.org/10.1111/bph.14925>

24. Fernández Peña G, Pérez Hernández CL, Román Guerra OI, Fernández Romero T. Evidence of the neuroprotective potencial of NeuroEPO in preclinical studies and clinical trial: A systematic review. *Rev haban cienc méd*. 2023; 22(4) e5452; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5452>

25. Baig MW, Majid M, Nasir B, Hassan SSU, Bungau S, Haq IU. Toxicity evaluation induced by single and 28-days repeated exposure of withametin and

daturaolone in Sprague Dawley rats. *Front Pharmacol.* 2022;13:999078.

Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9549072/pdf/fphar-13-999078.pdf>

26. Silva AV, Norinder U, Liiv E, Platzack B, Öberg M, Törnqvist E. Associations between clinical signs and pathological findings in toxicity testing. *ALTEX.*

2021;38(2):198-214. Disponible en:

<https://www.altex.org/index.php/altex/article/view/1485/2220>

27. Ryadinency R, Hadisaputro S, Rachmawati B. Effect of zinc supplementation on triglyceride and malondialdehyde levels: study on diabetic Wistar rats induced with streptozotocin. *Med J Indones.* 2018; 27:82-6. Disponible en:

<https://doi.org/10.13181/mji.v27i2.1417>

28. Fernández T, Suarez G, Pérez CL, Acosta T, Clapés S. Influence of diabetes and gestation in blood biochemistry variables in Wistar rats. *Int J Anim Sci.* 2018; 2 (3): 1021. Disponible en: [https://www.jsmcentral.org/sm-animal-science/ijas-](https://www.jsmcentral.org/sm-animal-science/ijas-v2-1021.pdf)

[v2-1021.pdf](https://www.jsmcentral.org/sm-animal-science/ijas-v2-1021.pdf)

29. Schofield JD, Liu Y, Rao-Balakrishna P, Malik RA, Soran H. Diabetes Dyslipidemia. *Diabetes Ther.* 2016; 7:203-19. Disponible en:

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13300-016-0167-x.pdf>

30. Ide S, Maezawa Y, Yokote K. Updates on dyslipidemia in patients with diabetes. *J Diabetes Investig.* 2023; 14(9): 1041-44. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10445203/pdf/JDI-14-1041.pdf>