

# Indicadores morfométricos de la corteza cerebral frontal de gazapos de ratas *Wistar* con diabetes pregestacional

## *Morphometric indicators of the frontal cerebral cortex of Wistar rats' kits with pregestational diabetes*

Leticia Mármol-Caballero<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6397-4211>

Pedro Augusto Díaz-Rojas<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4897-363X>

Doralny Peña-Marrero<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5192-7629>

Liúdisis Silva-Jardínez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9438-9894>

Dunia Yailín Macareño-Ávila<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9203-1370>

<sup>1</sup> Universidad de Ciencias Médicas. Facultad de Ciencias Médicas Mariana Grajales Coello. Departamento de Ciencias Básicas Biomédicas. Holguín, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [letymarmol1997@gmail.com](mailto:letymarmol1997@gmail.com)

### RESUMEN

**Introducción:** La diabetes es una enfermedad que afecta el embarazo provoca complicaciones fetales; dentro de ellas son frecuentes las malformaciones congénitas. Por la imposibilidad práctica y ética de estudiar este proceso en gestantes es imprescindible realizar estudios experimentales empleando procedimientos morfométricos para determinar si la diabetes afecta el neurodesarrollo.

**Objetivo:** Caracterizar morfométricamente la sustancia gris de gazapos de ratas *Wistar* normales y con diabetes mellitus pregestacional.

**Métodos:** Se realizó un estudio experimental básico de serie de casos a 20 gazapos de ratas *Wistar* de los cuales 10 eran descendientes de diabetes pregestacional. Se caracterizaron indicadores morfométricos del tejido nervioso como espesor de corteza e indicadores nucleares como el perímetro.

**Resultados:** La media de la altura de la sustancia gris cortical mostró un valor de  $1,224 \pm 303,7 \mu\text{m}$  para el grupo control y  $1,014 \pm 376,0$  para los casos, al aplicar el test de diferencias de medias se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) a favor del grupo control. Los valores de la media del perímetro nuclear en el grupo control fue de  $42,80 \pm 7,23 \mu\text{m}$  y en el grupo experimental el promedio

fue de  $39,68 \pm 6,52 \mu\text{m}$ , al aplicar el test de diferencias de medias se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) a favor del grupo control al presentar mayor perímetro nuclear.

**Conclusiones:** El mayor espesor cortical y perímetro nuclear correspondió al grupo control evidenciándose el efecto deletéreo de la diabetes mellitus en el neurodesarrollo.

**DeCS:** DIABETES MELLITUS; RATAS WISTAR; SUSTANCIA GRIS; ANIMALES DE LABORATORIO; EMBARAZO.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Diabetes is a disease that affects pregnancy causing fetal complications; within them congenital malformations are frequent. Due to the practical and ethical impossibility of studying this process in pregnant women, it is essential to carry out experimental studies using morphometric procedures to determine if diabetes affects neurodevelopment.

**Objective:** To characterize morphometrically the gray matter of kits from normal Wistar rats and those with pregestational diabetes mellitus.

**Methods:** A basic experimental study of a series of cases was carried out on 20 young *Wistar* rats, of which 10 were descendants of pregestational diabetes. Morphometric indicators of the nervous tissue were characterized as thickness of the cortex and nuclear indicators such as perimeter.

**Results:** The average height of the cortical gray matter showed a value of  $1.224 \pm 303.7 \mu\text{m}$  for the control group and  $1.014 \pm 376.0 \mu\text{m}$  for the cases. When applying the mean difference test, a significant difference was found ( $p \leq 0.05$ ) in favor of the control group. The values of the measurement of the nuclear perimeter in the control group was  $42.80 \pm 7.23 \mu\text{m}$  and in the experimental group the average was  $39.68 \pm 6.52 \mu\text{m}$ . When applying the mean different test, a significant difference was found ( $p \leq 0.05$ ) at favor of control group presenting greater nuclear perimeter.

**Conclusions:** The greatest cortical thickness and nuclear perimeter corresponded to the control group, evidencing the deleterious effect os diabetes mellitus on neurodevelopment.

**DeCS:** DIABETES MELLITUS; RATS, WISTAR; GRAY MATTER; ANIMALS, LABORATORY; PREGNANCY.

---

Recibido: 23/01/2023

Aprobado: 22/04/2023

Ronda: 1

---

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo fetal normal está caracterizado por patrones secuenciales de crecimiento y maduración tisular y orgánica; determinado por factores maternos, fetales y placentarios. Dentro de las condicionantes maternas se encuentran las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), tales como las anemias, la hipertensión arterial crónica, gestacional y la diabetes mellitus en cualquiera de sus variedades.<sup>(1,2,3)</sup>

La diabetes mellitus (DM) es el desorden metabólico que con mayor frecuencia complica el embarazo. Está caracterizado por niveles elevados de glucosa en sangre, resultado de defectos en la secreción o acción de la insulina.<sup>(4,5)</sup>

Durante la gestación se requiere de un aporte adecuado de nutrientes que favorezca el proceso de sinapsis y mielinización de las neuronas. Uno de ellos es la glucosa, que atraviesa la barrera placentaria para satisfacer las necesidades energéticas del feto, hecho que se produce con exceso en las mujeres diabéticas, en especial en aquellas con valores glucémicos mal controlados. Esta situación la compensa el feto activando una hiperinsulinemia, lo que conlleva a episodios periódicos de hipoglicemia fetal, que pueden suponer un daño irreversible para el órgano.<sup>(6,7)</sup>

El Atlas de la Federación Internacional de Diabetes del año 2021,<sup>(4)</sup> reporta que alrededor de uno de cada seis nacidos vivos ha estado expuesto a diabetes materna durante su gestación, lo que resulta en 21 000 000 de niños.

Las malformaciones congénitas (MFC) son la principal causa de mortalidad y morbilidad grave en hijos de madres diabéticas, sobre todo en pacientes diabéticas con pobre control metabólico e hiperglucemia previa a la concepción y en etapas tempranas del embarazo.<sup>(8,9,10)</sup>

En humanos ha sido imposible desde el punto de vista ético y práctico realizar estudios para identificar en las gestantes diabéticas el efecto de teratógenos en los procesos de embriogénesis. Por esta razón se hace necesario recurrir a modelos experimentales los que constituyen una poderosa herramienta en la investigación de fenómenos biológicos, en particular en ciencias de la salud.<sup>(11,12,13,14)</sup>

En la actualidad para estudiar los trastornos del neurodesarrollo se emplean métodos novedosos como los de neuroimagen, en la mayoría de los casos la resonancia magnética.<sup>(15,16,17,18)</sup> Díaz,<sup>(19)</sup> incluye en décadas recientes la morfometría a la investigación de estas enfermedades.

Hasta la fecha no existe evidencia científica en la referencia de los repositorios consultados en el que se investiguen en estos modelos animales los indicadores morfométricos de la corteza cerebral que se observan en la descendencia de portadoras de diabetes mellitus pregestacional (DMPG); por lo que ha sido objetivo de los autores considerar la utilidad de la morfometría y con la finalidad de aportar al estudio del tejido nervioso como parte de esta línea de investigación.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental básico con el objetivo de determinar los parámetros morfométricos en el tejido nervioso de la corteza frontal de gazapos de ratas *Wistar* normales y en modelo animal de diabetes mellitus pregestacional (DMPG), procedentes de un experimento realizado como parte de un proyecto nacional del Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón.

Entre los métodos teóricos se emplearon: la revisión documental, histórico-lógico, análisis-síntesis.

Del nivel empírico: la observación y la morfometría que permitió realizar las determinaciones de los parámetros objeto de estudio a partir de las imágenes digitalizadas del tejido nervioso cortical de los gazapos de rata *Wistar* casos y controles.

La muestra fue conformada por dos grupos de diez gazapos, uno de ratas normales que constituyó el grupo control y diez gazapos de ratas con el modelo de diabetes mellitus pregestacional que constituyó el grupo de casos. Se obtuvieron los 20 cerebros de gazapos de ratas *Wistar* mediante su disección luego del uso de la técnica de perfusión *in situ* la que permite la fijación del órgano sin su extracción.

Para el estudio histológico se seccionó el cerebro según el mapa de Brodmann citado por Snell,<sup>(1)</sup> con un corte transversal a 1,92 mm del borde externo frontal. Los fragmentos obtenidos se procesaron con la técnica clásica de la parafina. Se cumplieron con los elementos de calidad de inclusión requerida que permitieran el estudio histológico y morfométrico posterior.

A los bloques seleccionados, de cada gazapo de los grupos, se les realizó cortes seriados, de 10 mm de espesor con un micrótopo vertical *HistoLine* modelo MR 3 000. De cada cerebro se obtuvieron además dos secciones histológicas que se montaron en 10 portaobjetos las que fueron teñidas con hematoxilina y eosina con control del pH.

Con microscopio chino *Motic*, modelo BA-210 con cámara acoplada de tres megapíxel de la compañía *Motic S.A.*, se obtuvieron imágenes de cinco campos entre los dos cortes, desplazando la platina de manera uniforme en dos ocasiones digitalizando la imagen de manera que coincidiera con el lente objetivo para obtener un total de 300 campos, que cumplieran los requisitos de suficiente tejido, no existencia de artefactos en la preparación que impidieran su observación o interfirieran en sus características.

La calibración de cada lente objetivo se realizó con un portaobjeto de calibración milimetrado múltiple de la *Motic*.

El aumento total (At) de observación de las imágenes capturadas en la computadora se calculó por (Fórmula 1).

(Fórmula 1)

$$At = A_o \times ALR \times LP/SC$$

Donde: At: Aumento total, Ao: Aumento objetivo, ALR: Aumento del lente reductor (0,5), LP: Largo de pantalla (340 mm), SC: Sensor de la cámara digital (8 mm).

De esta manera el aumento total con el que se trabajaron las imágenes histológicas fueron de: 850x con lente objetivo de 40x.

212x con lente objetivo de 10x.

2125x con lente objetivo de 100x.

Para la realización de las mediciones morfométricas se empleó la aplicación *ImageJ*, versión 1.49p del *National Institutes of Health*, USA, 2015 (Figura 1).

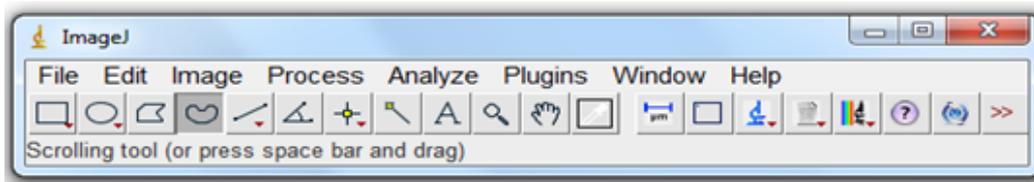


Figura 1 Presentación de la aplicación *ImageJ* 1.49p. (Imagen de los autores).

Los indicadores morfométricos estudiados fueron los siguientes:

- Espesor de la corteza.
- Perímetro de los núcleos de las neuronas de la corteza cerebral.

Espesor o altura de la corteza cerebral: Definiendo para ello la distancia comprendida entre el límite interno y externo de la sustancia gris cortical.

Se obtuvo por medición lineal (opción *line*) del límite externo al límite interno de la corteza. El *software* brinda el resultado del espesor en micrómetros.

Se empleó el menú *Grid* con la opción de líneas horizontales aleatorias con una distancia entre ellas de 36  $\mu\text{m}$ . Se midió desde el límite externo a partir del punto de intersección de las líneas del test trazando un segmento perpendicular a la tangente de la línea del test hasta el límite de la sustancia blanca. En cada imagen se realizaron 20 mediciones desplazando la imagen según el ancho de cada línea de la cuadrícula. Las mediciones se hicieron con un aumento total de 212X.

A continuación se muestra una figura con los elementos necesarios para el cálculo del espesor o altura de la corteza cerebral con el sistema de línea (Figura 2).

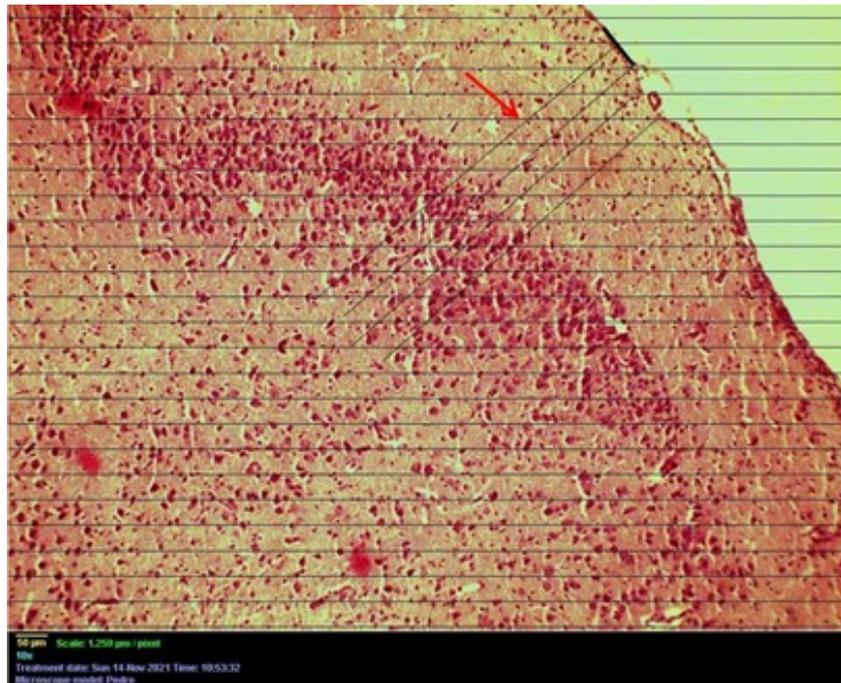


Figura 2 Método para determinar el espesor de la corteza cerebral. Microfotografía óptica de corteza cerebral frontal. Tinción H y E. Aumento total 212X. La flecha indica el segmento medido desde la superficie cortical y su límite con la sustancia blanca. (Imagen de los autores).

#### Perímetro nuclear:

El conteo de los núcleos para el cálculo del perímetro se utilizó la opción *Grid* con la opción de cruces aleatorias del submenú *Plugins*, lo que permitió medir solo aquellos núcleos sobre los que inciden las cruces de la malla. Este indicador se obtuvo con la opción *manos libres* del sistema *ImageJ*, contorneando el borde externo de los núcleos de las neuronas, como se muestra en la figura 3. La mensuración la brinda el sistema en micrómetros de manera automática. El aumento empleado fue de 2125X. Con esta selección aleatoria se realizaron un total de mediciones de 1 307 núcleos, distribuidos en 680 núcleos en el grupo control y 627 en el grupo de casos. El área entre los puntos fue de 50 micrómetros cuadrados (Figura 3).

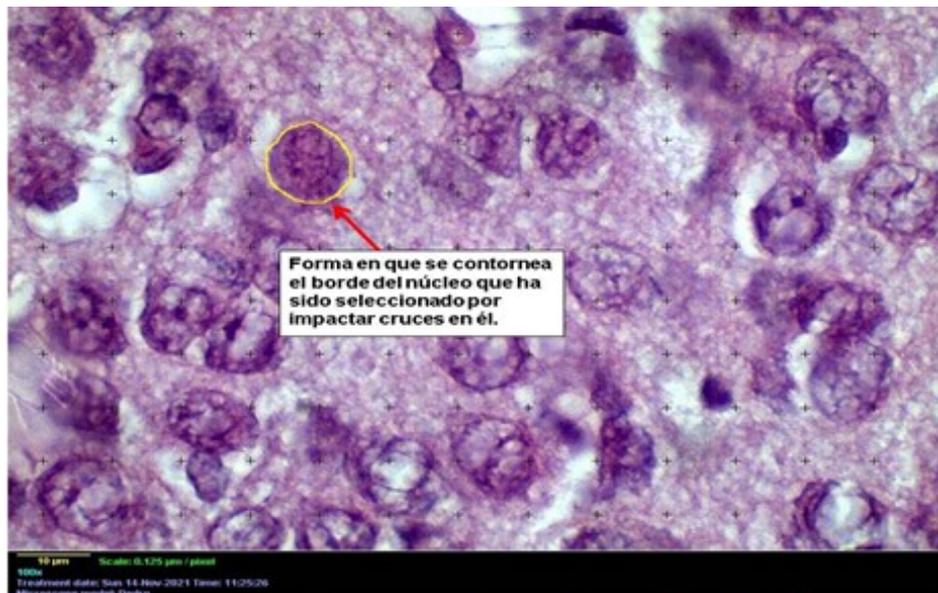


Figura 3 Método para determinar el perímetro nuclear. Microfotografía óptica de corteza cerebral frontal. Tinción H y E. Aumento total 2125X. La flecha indica la forma en que se procede a contornear el núcleo impactado por las cruces del test. (Imagen de los autores).

Se utilizaron hojas de cálculo de Excel para proceder a determinar indicadores que la aplicación *ImageJ* permitió calcular. Para el procesamiento de los datos se utilizó la estadística descriptiva. Se determinaron estadígrafos descriptivos como media, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza para una  $p \leq 0,05$ . Se realizó la prueba de diferencia de medias para comparar los indicadores morfométricos del grupo control con el grupo de casos con una significación de  $p \leq 0,05$ . El editor estadístico utilizado fue el MyStat versión 12 del 2015 de la compañía SyStat. En todas las series de casos se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con vistas a determinar que los datos obtenidos provienen de una población que cumple los parámetros de la distribución normal.

La triangulación de los datos obtenidos a partir de la información documental revisada, los datos primarios recopilados y la utilización de métodos adecuados de procesamiento estadístico permitió arribar a conclusiones. Los resultados se muestran en tablas y figuras.

Se tuvieron en cuenta los Principios Éticos para la Investigación Médica con datos provenientes de animales de la *World Medical Association Declaration of Helsinki* y la Guía de OMS para los Comité de Ética de las Investigaciones, establecida por el *Council for International Organizations of Medical Sciences* (CIOMS) en el 2002.

## RESULTADOS

A través de las mediciones realizadas y después de los cálculos estadísticos correspondientes al comparar los resultados del espesor de la corteza cortical se aprecia que la media de la altura de la sustancia gris en el lóbulo frontal, obtenida mediante la medición perpendicular desde los límites entre la sustancia gris y blanca hasta la superficie externa de la corteza mostró un valor de  $1,224 \pm 303,7 \mu\text{m}$  para el grupo control y  $1,014 \pm 376,0$  para el grupo de casos, ambos valores se encuentran dentro de los límites de confianza y por ello da la certeza de que las determinaciones fueron mediciones obtenidas de manera segura. Al aplicar el test de diferencias de medias se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) a favor del grupo control por presentar un espesor cortical mayor que el grupo estudio (Tabla 1, Figura 4).

Tabla 1 Espesor de la corteza cerebral frontal ( $\mu\text{m}$ )

Estadísticos	Controles	Casos
Determinaciones	1,327	914
Media aritmética	1,224*	1,014*
Desviación estándar	303,7	376
Límite de confianza > 95 mínimo	1,207	990,3
Límite de confianza > 95 máximo	1,240	1,039
Coefficiente de variación	0,248	0,371

\* Test de comparación de medias:  $Z = -14.007$   $p \leq 0,05$

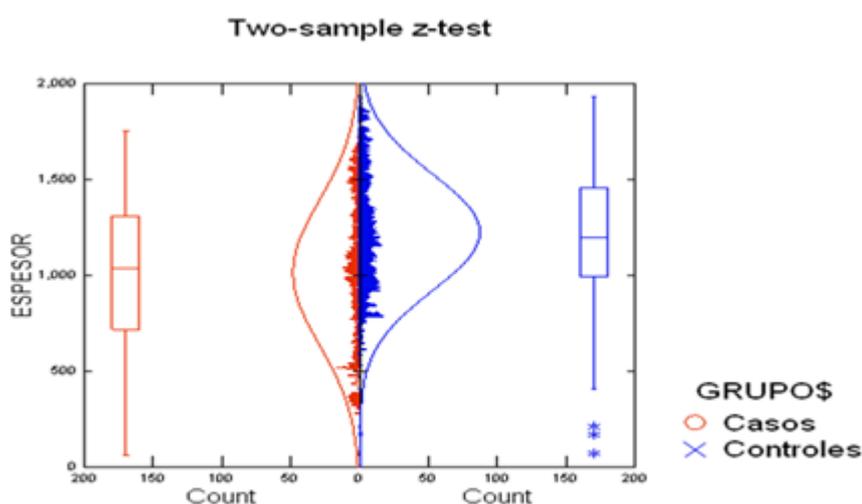


Figura 4 Representación gráfica de la prueba de hipótesis de diferencias de medias del espesor de la corteza cerebral frontal de gazapos controles y de ratas diabéticas.

Los resultados obtenidos al determinar los valores del perímetro nuclear mostraron que la media en el grupo control fue de  $42,80 \pm 7,23 \mu\text{m}$  mientras que la media en el grupo de estudio presentó un valor de  $39,68 \pm 6,52 \mu\text{m}$ , ambos valores se encuentran dentro de los límites de confianza y por ello da la certeza de que las determinaciones fueron mediciones obtenidas de manera segura. Luego de aplicar el test de diferencias de medias se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) a favor del grupo control por presentar mayor perímetro nuclear que el grupo de casos (Tabla 2, Figura 5).

Tabla 2 Perímetro nuclear de sustancia gris cortical

Estadísticos	Perímetro nuclear ( $\mu\text{m}$ ) Controles	Perímetro nuclear ( $\mu\text{m}$ ) Casos
Determinaciones	680	627
Media aritmética	42,80*	39,68*
Desviación estándar	7,23	6,52
Límite de confianza mínimo > 95	42,26	39,17
Límite de confianza máximo > 95	43,35	40,20
Coefficiente de variación	0,16	0,16

\*Test de comparación de medias:  $Z = -8,195$   $p \leq 0,05$

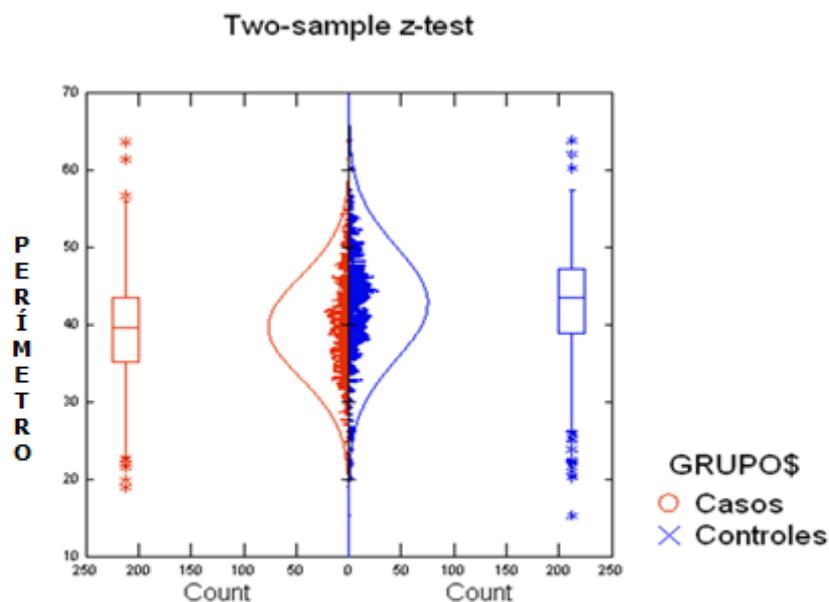


Figura 5 Representación gráfica de la prueba de hipótesis de diferencias de medias del perímetro nuclear de las neuronas de la corteza cerebral frontal de gazapos controles y de ratas diabéticas.

## DISCUSIÓN

Las investigaciones en individuos vivos, empleando métodos de neuroimagen constituyen herramientas para la evaluación del grosor cortical. Por tanto, pueden ser empleadas como marcador diagnóstico y para caracterizar el desarrollo o los cambios patológicos cerebrales.<sup>(16,17)</sup>

Los estudios de morfometría cerebral realizados por Spalletta et al.,<sup>(15)</sup> empleando imágenes,<sup>(17,20)</sup> describen que los cambios más grandes ocurren durante el desarrollo temprano, los más sutiles siguen durante la edad adulta y, nuevamente, ocurren cambios dramáticos en la última parte de la vida humana ligados al envejecimiento.

En sus trabajos Aycheh et al.,<sup>(17)</sup> describen que las áreas sensoriales corticales primarias tienden a ser más delgadas, mientras que las áreas de asociación tienden a ser más gruesas aunque con capas menos claramente definidas. Del mismo modo plantean que el grosor cortical y la estructura laminar son ambos afectados por las curvaturas de la corteza.

A pesar de no haber localizado estudios morfométricos de la corteza cerebral frontal similares para establecer comparaciones con mayor especificidad, si cabe destacar que autores como Spalletta et al.,<sup>(15)</sup> en su investigación morfométrica aplicando los métodos de neuroimagen de la corteza cerebral refieren que los límites de la resolución actual de imagen de resonancia magnética (IRM) y tomografía axial computarizada (TAC) impiden en algunas áreas del cerebro la medición directa de capas corticales, por lo que no es posible evaluar *in vivo* el efecto de cambio de la estructura laminar. Los autores consideran, que con el empleo de parámetros morfométricos se tendrá mayor objetividad para determinar elementos sutiles en cuanto al efecto de la diabetes sobre la corteza cerebral en estadio prenatal; debido a que la morfometría es un método que permite cuantificar las variaciones que pueden ocurrir en los diferentes tejidos, en sus componentes y su organización aportando información valiosa del fenómeno estudiado.

Los resultados obtenidos en la medición de la altura del espesor cortical (Tabla 1, Figura 4) guardan relación con el efecto nocivo de la diabetes mellitus (DM) en el desarrollo embriofetal normal, al tener en cuenta que el grupo de casos que conforman la muestra de estudio está caracterizada por gazapos hijos de madres con diabetes mellitus pregestacional (DMPG) por lo que los fetos estuvieron expuestos a los efectos deletéreos del descontrol metabólico desde el inicio de la gestación. Numerosos estudios corroboran que esta enfermedad provoca un ambiente intrauterino desfavorable que aumenta el riesgo de alteraciones cerebrales desencadenadas entre otros por los efectos del estrés oxidativo y la hipoxia fetal que interfieren en los procesos de embriogénesis y organogénesis en las distintas etapas de la vida intrauterina.<sup>(9,10,21)</sup>

Por su parte las dimensiones del núcleo representan indicadores que permiten el estudio de la morfología y la función nuclear en la célula, por lo que su determinación resulta de gran importancia. Los cambios en el ciclo celular, el metabolismo fisiológico y la acción de agentes teratogénicos pueden

ocasionar cambios de la arquitectura nuclear, dichos aspectos han sido evaluados en trabajos donde los estudios morfométricos nucleares resultan de gran utilidad y son avalados por los investigadores.<sup>(22,23,24)</sup>

El perímetro nuclear proporciona información de las dimensiones de este componente celular y está estrechamente interrelacionado con su área y volumen. Este parámetro morfométrico expresa su mayor valor en el grupo control de la muestra estudiada (Tabla 2, Figura 5), lo que sugiere que los núcleos celulares son más grandes en este grupo.

Estos hallazgos pueden estar relacionados con los efectos nocivos de la diabetes mellitus. Entre otras consecuencias la hiperglucemia persistente desde inicios de la concepción como es el caso de la DMPG, produce un descenso de ácido ascórbico intracelular, con elevación plasmática del ácido deshidroascórbico, que inhibe la mitosis celular y por tanto tiene efecto teratogénico, al estar afectado el proceso del ciclo vital de la célula estas no van a experimentar el crecimiento adecuado y se presentaran alteraciones de los mecanismos de diferenciación y especialización celular, lo que explicaría las variaciones de los parámetros morfométricos nucleares estudiados en ambos grupos.

En sus investigaciones Mitanchez,<sup>(10)</sup> postula que un aumento de glucosa, incluso en un corto periodo, puede dañar el ADN y provocar mutaciones que impidan la expresión de genes críticos para la embriogénesis normal. Este daño puede retrasar la duplicación del ADN y, por lo tanto, la división celular, lo que interrumpe los tiempos de los programas del desarrollo necesarios para la organogénesis. Los estudios de Cruz et al.,<sup>(6)</sup> avalan que un ambiente uterino desfavorable en cualquiera de las etapas del desarrollo embriofetal podrían determinar alteraciones del sistema nervioso y del neurodesarrollo que pueden manifestarse a corto, mediano y largo plazo en la descendencia.<sup>(9,25)</sup>

## CONCLUSIONES

El espesor de la corteza cerebral frontal y el perímetro nuclear poseen valores más altos en el grupo control al compararlos con los valores obtenidos de gazapos de madres con diabetes mellitus pregestacional, lo que puede contribuir al diagnóstico y pronóstico de las afecciones del neurodesarrollo provocados por esta enfermedad nosológica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Snell RS. Estructura y localización funcional de la corteza cerebral. En: Snell RS, editor. Neuroanatomía clínica. 7<sup>ma</sup> ed. España: Wolters Kluwer Health, S.A; 2014.p.479-514. Disponible en:

[https://www.academia.edu/43982282/NEUROANATOMÍA\\_de\\_Snell\\_7ma\\_ed](https://www.academia.edu/43982282/NEUROANATOMÍA_de_Snell_7ma_ed)

<http://revistaamc.sld.cu/>



2. Valdés Valdés A, Pérez Núñez HM, García Rodríguez RE, López Gutiérrez A. Periodo embrionario. En: Valdés Valdés A, editor. Embriología Humana. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2011.p.45-54.
3. Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica Texto y Atlas. 12ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2015.
4. International Diabetes Federation. Atlas de la Diabetes de la FID. 9ª ed [Internet]. Bruselas: FID; 2019 [citado 19 Ene 2021]. Disponible en: [https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133352\\_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf](https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-SPAN-BOOK.pdf)
5. American Diabetes Association. Diabetes. Estándares para la atención médica de la diabetes 2 [Internet] 2019. [citado 09 May 2021]:[aprox. 194 p.]. Disponible en: <https://www.redgdps.org/los-standards-of-medical-care-in-diabetes-2019>
6. Cruz Hernández J, Hernández García P, Grandía Guzmán R, Lang Prieto J, Isla Valdés A, González Padilla K, et al. Consideraciones acerca de la diabetes mellitus durante el embarazo. Rev cuba endocrinol [Internet]. 2015 Ene-Abr [citado 09 May 2019];26(1):47-65. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-29532015000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532015000100005)
7. Vigil-De Gracia P, Olmedo J. Diabetes gestacional: conceptos actuales. Ginecol Obstet Méx [Internet]. 2017 Jun [citado 19 Ene 2021];85(6):380-90. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2017/gom176g.pdf>
8. Mayo de Andrés S. Búsqueda e identificación de nuevas causas genéticas o epigenéticas de trastornos del neurodesarrollo [tesis doctoral]. Valencia: Universidad de Valencia; 2015 [citado 19 May 2021]. Disponible en: [https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/47942/Tesis\\_Mayo%20de%20Andres.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/47942/Tesis_Mayo%20de%20Andres.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
9. Galán-López IG, Lascarez-Martínez S, Gómez-Tello MF, Galicia-Alvarado MA. Abordaje integral en los trastornos del neurodesarrollo. Rev Hosp Jua Mex [Internet]. 2017 [citado 05 May 2019];84(1):19-25. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/juarez/ju-2017/ju171e.pdf>
10. Mitancher D. Fetal and neonatal complications in gestational diabetes: perinatal mortality, congenital malformations, macrosomía, shoulder dystocia, birth injuries, neonatal outcomes. J Ginecol Obstet Biol Reprod [Internet]. 2010 Dic [citado 09 May 2021];39(8 Suppl 2):S189-996. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2010.11.013>
11. Hugues Hernandorena B, Rodríguez González JC, Rodríguez García JC. Animales de laboratorio en la endocrinología: biomodelos de la diabetes mellitus tipo 1. Rev cuba endocrinol [Internet]. 2001 [citado 09 May 2021];12(3):168-77. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/end/v12n3/end06301.pdf>
12. Arias-Díaz J, Balibrea J. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. Nutr Hosp [Internet]. 2007 Mar-Abr [citado 19 Ene 2021];22(2):160-8. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112007000200005](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000200005)  
<http://revistaamc.sld.cu/>

13. Gorrita Pérez Y, Núñez López N, Clapés Hernández S, Fernández Romero T. Malformaciones congénitas en la descendencia de ratas diabéticas. Medimay [Internet]. 2012 [citado 19 Ene 2021];18 (2):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://revcmhabana.sld.cu/index.php/rcmh/article/view/568/html>
14. González E. Diabetes mellitus experimental: etiología de las malformaciones congénitas en descendientes de ratas diabéticas. Rev cuba endocrinol [Internet]. 2002 Ene-Abr [citado 19 May 2021];13(1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-29532002000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532002000100007)
15. Spalletta G, Piras F, Gili T. Brain Morphometry. Neuromethods [Internet]. 2018 [citado 10 Dic 2021];136(3):35-49. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-7647-8>
16. Aguilar Cordero JM, Baena García L, Rodríguez Blanque R, Latorre García J, Mur Villar N, Sánchez López AM. Diabetes mellitus materna y su influencia en el neurodesarrollo del niño; revisión sistemática. Nutr Hosp [Internet]. 2015 [citado 05 May 2019];32(6):2484-95. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v32n6/17revision12.pdf>
17. Aycheh HM, Seong JK, Shin JH, Na DL, Kang B, Seo SW, et al. Biological Brain Age Prediction Using Cortical Thickness Data: A Large Scale Cohort Study. Front Aging Neurosci [Internet]. 2018 [citado 11 Oct 2021];10:252. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6113379/>
18. Fernández Viadero C, Verduga Vélez R, Crespo Santiago D. Patrones de envejecimiento cerebral. Rev Esp Geriatr Gerontol [Internet]. 2017 Jun [citado 11 Oct 2021];52(Suppl 1):7-14. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-geriatria-gerontologia-124-pdf-S0211139X18300738>
19. Díaz Rojas P. Introducción a la Morfometría y la Estereología [Internet]. Holguín: Universidad de Ciencias Médicas de Holguín; 2016 [citado 11 Oct 2021]. Disponible en: <http://uvs.ucm.hlg.sld.cu/mod/resource/view.php?id=3459>
20. Ramanoel S, Hoyau E, Kauffmann L, Renard F, Pichat C, Boudiaf N, et al. Gray Matter Volume and Cognitive Performance During Normal Aging. A Voxel Based Morphometric Study. Front Aging Neurosci [Internet]. 2018 Ago [citado 11 Oct 2021];10:35. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6085481/pdf/fnagi-10-00235.pdf>
21. Arizamendi J, Carmona Pertuz V, Colmenares A, Gómez Hoyos D, Palomo T. Diabetes Gestacional y Complicaciones Neonatales. rev fac med [Internet]. 2012 Jul-Dic [citado 29 Abr 2020];20(2):50-60. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-5256201200200006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-5256201200200006)
22. Jevtic P, Edens LJ, Vukovic LD, Levy DL. Sizing and shaping the nucleus: mechanisms and significance. Curr Opin Cell Biol [Internet]. 2014 Jun [citado 29 Abr 2020];28:16-27. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4061251/>  
<http://revistaamc.sld.cu/>

23. Seaman L, Meixner W, Snyder J, Rajapakse I. Periodicity of nuclear morphology in human fibroblasts. *Nucleus* [Internet]. 2015 [citado 09 May 2021];6(5):408-16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4915517/>

24. Toledo Hidalgo D. Indicadores morfométricos del Carcinoma papilar de tiroides en pacientes de la provincia Holguín [tesis]. Holguín: Facultad de Ciencias Médicas Mariana Grajales Coello; 2018.

25. Yamamoto JM, Benham JL, Dewey D, Sánchez JJ, Murphy H, Murphy HR, Feig DS, et al. Neurocognitive and behavioural outcomes in offspring exposed to maternal pre-existing diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetología* [Internet]. 2019 Sep [citado 09 May 2021];62(9):1561-74. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31278412/>

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Leticia Mármol-Caballero (Conceptualización. Curación de datos. Análisis formal. Investigación. Administración del proyecto. Recursos. Supervisión. Validación. Visualización. Redacción-borrador original. Redacción-revisión y edición).

Pedro Augusto Díaz-Rojas (Conceptualización. Curación de datos. Análisis formal. Metodología. Recursos. *Software*. Validación. Redacción-borrador original. Redacción-revisión y edición).

Doralny Peña-Marrero (Curación de datos. Investigación. Recursos. Redacción-borrador original. Redacción-revisión y edición).

Liúdisis Silva-Jardínez (Curación de datos. Investigación. Recursos. Redacción-borrador original. Redacción-revisión y edición).

Dunia Yailin Macareño-Ávila (Curación de datos. Investigación. Recursos. Redacción-borrador original. Redacción-revisión y edición).