

Artículo original

Volumen, área y factor de forma nuclear neuronal en un modelo animal de diabetes pregestacional

Neuronal nuclear volume, area and shape factor in an animal model of pregestational diabetes

Yaliana Isla Labrada^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-0252-1905>

Pedro Augusto Díaz Rojas¹ <https://orcid.org/0000-0003-4897-363X>

Deimarys Toledo Hidalgo¹ <http://orcid.org/0000-0001-7813-1471>

Meilin Alonso Trasobares¹ <https://orcid.org/0000-0002-0593-3614>

Susel Rodríguez Fortuny¹ <https://orcid.org/0000-0002-7139-9026>

¹Universidad de Ciencias Médicas de Holguín. Facultad de Ciencias Médicas Mariana Grajales Coello. Departamento de Ciencias Básicas. Holguín. Cuba.

*Autor por correspondencia: isel.leyvag@nauta.cu

RESUMEN

Fundamento: El cerebro durante la etapa prenatal es uno de los órganos más afectados por factores teratógenos, por ejemplo la Diabetes Mellitus Pregestacional. Su efecto sobre este en esta etapa requiere un mayor conocimiento porque es un importante predictor de problemas cognitivos y psicológicos en la edad adulta. Para el estudio de la corteza cerebral resultan muy útiles los modelos animales, combinados con técnicas morfométricas tendremos una mayor precisión a la hora de establecer las causas que condicionan el daño.

Objetivo: Determinar las posibles diferencias de los indicadores morfométricos nucleares: área, volumen, y factor de forma en las neuronas de la corteza cerebral temporal de gazapos de ratas Wistar normal y en un modelo animal con diabetes mellitus pregestacional.

Métodos: Se realizó un estudio experimental básico con 16 cerebros de gazapos de ratas Wistar en el período comprendido entre junio 2021 a junio 2022 en la Universidad de Ciencias Médicas de Holguín. Dichos cerebros se organizaron en dos grupos de ocho cada uno. Un grupo control con los procedentes de gazapos de ratas sanas y un grupo casos con los cerebros de gazapos de ratas diabéticas. Se estudiaron indicadores morfométricos nucleares como el área, el volumen y el factor de forma.

Resultados: El área y el volumen nuclear muestran valores superiores en el grupo control. El valor del factor de forma no mostró diferencias.

Conclusiones: Los resultados obtenidos traducen que la Diabetes Mellitus Pregestacional puede causar daño a las neuronas del tejido nervioso de la zona cerebral estudiada.

Palabras clave: corteza cerebral; diabetes mellitus pregestacional; neurodesarrollo; morfometría.

ABSTRACT

Background: The brain during the prenatal stage is one of the organs most affected by teratogenic factors such as Pregestacional Diabetes Mellitus. Its effect on it during these stages requires greater knowledge because it is an important predictor of cognitive and psychological problem in age adult. For the study of the cerebral cortex, animal models are very useful, combined with morphometric

techniques, greater precision will be obtained when establishing the causes to determinate the damage.

Objective: To determine the possible differences of the nuclear morphometric indicators: area, volume and shape factor in the neurons of the temporal cerebral cortex of normal Wistar rat kits and in an animal model with pregestacional diabetes mellitus.

Method: A basic experimental study was carried out with 16 brains of Wistar rats in the period from June 2021 to June 2022 at the University of Medical Sciences of Holguín. These brains were organized into two groups of eight each. A control group with those from healthy rat kits and a case group with brain from diabetic rats kits. Nuclear morphometric indicators such as area, volume and shape of factor were studied.

Results: The area and the nuclear volume show superior values in the control group. The value of the shape factor did not show significant difference.

Conclusions: the results obtained show that Pregestacional Diabetes Mellitus can cause damage to the neurons of the nervous tissue of the brain area studied.

Keywords: cerebral cortex; diabetes mellitus; neurodevelopment; morphometry.

Recibido: 01/11/2022

Aprobado: 22/06/2023

Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) va en aumento constante en relación con el gran número de personas con sobrepeso, obesidad e inactividad física.⁽¹⁾ Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) existen proyecciones de que dicha enfermedad será la séptima causa de muerte en el 2030. En Chile en el año 2019 el Ministerio de salud publicó los resultados de una encuesta nacional de salud realizada en 2016-2017 que revela datos que constatan el aumento de esta enfermedad en mujeres en edad fértil en el país.⁽²⁾ En Cuba se reportaron 2313 defunciones por diabetes mellitus durante el 2019 siendo la 8va causa de muerte. En la provincia Holguín la incidencia es de 41,3 x 100 000 habitantes.⁽³⁾

Según la OMS⁽⁴⁾ alrededor de un 75 % a 90 % de las hiperglucemias del embarazo son diabetes mellitus gestacional y del porcentaje restante más de la mitad de los diagnósticos a pesar de tratarse de diabetes mellitus pregestacional se realizan al comienzo de la gestación.⁽⁴⁾

El efecto de la diabetes mellitus pregestacional sobre el neurodesarrollo en edades tempranas requiere un mayor conocimiento ya que puede ser un importante predictor de problemas cognitivos y psicológicos en la edad adulta, tales como problemas en las funciones ejecutivas, enfermedades ligadas a trastornos de la conducta, envejecimiento precoz y coeficientes de inteligencia más bajos en adulto.^(4,5,6)

El uso de los animales como modelos de experimentación es de mucha utilidad en investigaciones relacionadas con diferentes enfermedades.^(7,8,9) En el caso del estudio de la fisiopatología de la diabetes mellitus pregestacional permite entender algunas de sus causas y consecuencias, además de obtener avances en el tratamiento y control de este síndrome, aun cuando los signos y alteraciones no se reproducen con exactitud.⁽⁸⁾

Es aquí donde la morfometría juega un importante papel al ser una poderosa herramienta que ha sido empleada en múltiples estudios^(10,11,12,13) histológicos e histopatológicos y permite además ser aplicada a modelos animales con resultados prometedores por su alta objetividad y fácilmente comparable, de los que ya existen investigaciones relacionadas con cambios morfométricos en diferentes tejidos y órganos e incluso en el tejido cerebral sometido a cambios metabólicos.^(14,15)

Los estudios en humanos que posibilitan explorar los mecanismos responsables de los cambios causados por la diabetes durante la gestación son limitados, no sólo por razones éticas, sino también por diversas variables incontrolables (dieta, factores socioeconómicos, nutrición y factores genéticos) que pueden alterar el ambiente intrauterino e incrementar las malformaciones congénitas. Otra razón para desarrollar modelos experimentales apropiados y modelos biológicos que se desarrollan en roedores (ratas y ratones principalmente) debido a su similitud biológica con el hombre y el gran conocimiento que de estas especies se tiene a nivel genético y molecular.⁽¹⁶⁾

En la literatura médica existe suficiente evidencia sobre las características de la diabetes mellitus y las consecuencias que trae para la descendencia de quienes la padecen en los diferentes sistemas corporales, sin embargo es muy poco frecuente encontrar un modelo en el que se estudien indicadores morfométricos de la corteza cerebral que demuestre las alteraciones provocadas por esta enfermedad al cerebro.

Si tenemos en cuenta los indicadores morfométricos que identifican a la corteza cerebral obtendremos una mayor precisión a la hora de establecer las causas que condicionan el daño a la descendencia, pues permite una visión más profunda sobre este aspecto, en aras de obtener mejores resultados en el diagnóstico histopatológico de los Trastornos del Neurodesarrollo.

Métodos

Se realizó un estudio experimental básico cuyo objetivo fue la determinación de parámetros morfométricos en el tejido nervioso de la sustancia gris de la corteza cerebral temporal de gazapos de ratas Wistar normales y en un modelo animal con Diabetes Mellitus Pregestacional procedentes de un experimento realizado como parte de un proyecto nacional del Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón.

La muestra fue conformada por dos grupos de ocho gazapos de ratas Wistar, uno con los gazapos de ratas sanas que constituyó el grupo control y un segundo grupo con los gazapos de ratas con el modelo de Diabetes Mellitus Pregestacional que constituyó el grupo casos. Los 16 cerebros de gazapos de ratas Wistar se obtuvieron mediante su disección luego del uso de la técnica de perfusión “in situ” la que permite la fijación del órgano sin su extracción. Los cerebros fueron enviados a la Universidad de Ciencias Médicas de Holguín desde el Instituto Superior de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón, sitio donde se obtuvo el modelo animal de Diabetes Mellitus Pregestacional. La institución donde radican los autores no tiene bioterio.

Para el estudio histológico se seccionó el cerebro según el mapa de Brodman con un corte transversal a dos milímetros del borde externo frontal y a cuatro milímetros del borde externo occipital. Los fragmentos obtenidos se procesaron con la técnica clásica de la parafina.

A los bloques seleccionados, uno de cada gazapo de los grupos, se les realizó cortes seriados, de diez micrómetros en un micrótomo vertical HistoLine modelo MR 3000. De cada cerebro se obtuvieron dos secciones histológicas que se montaron en ocho portaobjetos las que fueron teñidas con Hematoxilina y Eosina.

De cada lámina se procedió mediante microscopio chino Motic, modelo BA-210 con cámara acoplada de tres megapíxel de la compañía Motic S.A. a obtener imágenes de cinco campos entre los dos cortes para un total de 300 campos. Los aumentos objetivos empleados fueron de 4X, 10X y 40X. A partir de estas imágenes se realizó descripción de las características histológicas de la corteza cerebral estudiada. Para la realización de las mediciones morfométricas se empleó la aplicación *ImageJ*, versión 1.49p del *National Institutes of Health*, USA, 2015.

Los indicadores morfométricos estudiados fueron los siguientes:

- Área
- Volumen
- Factor de forma

Área nuclear

Este indicador se obtuvo con la opción manos libres del sistema *ImageJ*, contorneando el borde externo de los núcleos de las neuronas. La mensuración la brinda el sistema en micrómetros de manera automática.

Volumen nuclear

Se obtuvo con la opción *Fit Ellipse*, con la que obtenemos el diámetro mayor y el diámetro menor del núcleo contorneado. El procedimiento es igual al anterior para área y perímetro. Estos valores permiten el cálculo del volumen nuclear de las neuronas transcribiendo sus resultados a una hoja de cálculo de Microsoft Excel, y se aplicó la fórmula de Palkovits:

$$V = 1,04 \pi(A*B) \sqrt{A*B}$$

Donde:

A: Diámetro mayor.

B: Diámetro menor.

π : 3,1416

Factor de forma nuclear

Se obtuvo con la opción *Shape Descriptor*. Se contorneó el borde externo de los núcleos de las neuronas con la opción *manos libres* del sistema *ImageJ*, el sistema calcula el valor de la circularidad o factor de forma, para lo cual utiliza los indicadores de perímetro y área calculados automáticamente por la aplicación.

La fórmula que emplea *ImageJ* para determinar el factor de forma es:

$$\text{Índice de circularidad o FF} = 4\pi \text{ área/perímetro}^2$$

Donde:

FF: Factor de forma.

π : 3,1416

A: Área nuclear.

P: Perímetro nuclear.

Tiene un valor de 1 cuando es un círculo perfecto y de 0 si es una línea. Los valores presentados que más se aproximan a 1 indican mayor circularidad, los más alejados reflejan mayor grado de irregularidad en su contorno.

Para garantizar la aleatoriedad del estudio se utiliza la opción *Grid* con la opción de cruces aleatorias del submenú *Plugins*, lo que permite medir solo aquellos núcleos sobre los que inciden las cruces de la malla. Con esta selección aleatoria se realizaron un total de 1127 mediciones de núcleos, distribuidos en 604 núcleos en el grupo control y 523 en el grupo de casos. El área entre los puntos fue de 60 micrómetros cuadrados.

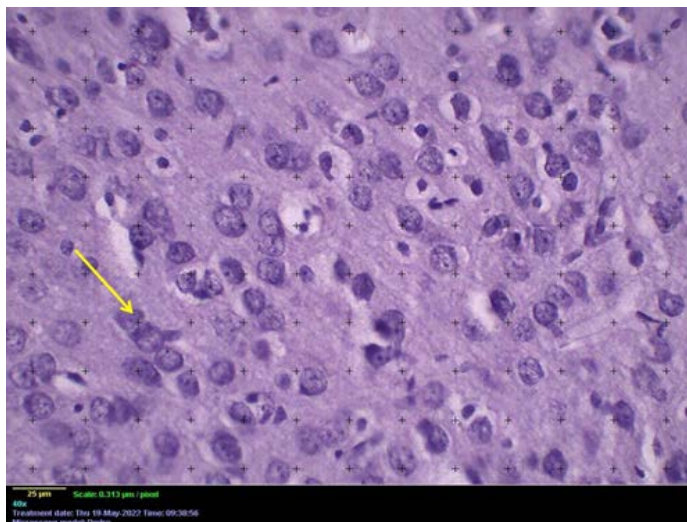


Fig. 1- Microfotografía de corteza cerebral temporal. Aumento 850X. Tinción H y E. La flecha indica la cruz del sistema de testaje que permite la selección aleatoria de los núcleos a medir.

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.

Se determinaron estadígrafos descriptivos como media, desviación estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza para una $p \leq 0,001$. 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 $p \leq 0,001$.

El editor estadístico utilizado fue el MyStat Los resultados se muestran en cuadros.

Se tuvo 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

El análisis morfológico del núcleo, incluidos elementos morfométricos y estereológicos como herramientas para el diagnóstico de las lesiones neoplásicas, puede proporcionar información importante sobre la estructura y la morfología de las células y los tejidos.^(10,11,12,13)

De igual manera se conoce que los cambios en el ciclo celular o el metabolismo celular, durante diferentes estados fisiológicos o intervenciones terapéuticas farmacológicas se acompaña de cambios en la arquitectura nuclear.⁽¹⁷⁾

En una gran proporción de los trabajos se aplica la morfometría al estudio de los tejidos y se utilizan parámetros morfométricos nucleares en sus análisis, tanto para estudios de caracterización como para análisis pronósticos en diferentes tipos de cáncer.^(11,12,13)

La caracterización del área y el volumen de los núcleos de las neuronas estudiadas muestran los valores de los estadígrafos mínimo, máximo, media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación. Estos indicadores se comportan dentro del intervalo de confianza obtenido en el estudio.

La media aritmética y su desviación estándar en el caso del área (Tabla 1) en el grupo control mostró un valor de $145,996 \pm 50,351 \mu\text{m}^2$ y $117,561 \pm 39,004 \mu\text{m}^2$ el grupo de casos.

Tabla 1- Área nuclear neuronal en la corteza temporal

Estadígrafos	Área nuclear (μm^2)	
	Controles	Casos
Determinaciones	604	523
Media Aritmética	145,996	117,561
Desviación Estándar	50,351	39,004
Límite de confianza > 95 mínimo	141,973	114,211
Límite de confianza > 95 máximo	150,020	120,912
Coeficiente de Variación	0,345	0,332

*Test de comparación de medias: $Z = -10,711$ $p \leq 0,001$

Para determinar las dimensiones nucleares también se estudió el volumen (Tabla 2), el valor obtenido de la media aritmética y su desviación estándar para este indicador en el grupo control es $112\,924,890 \pm 102\,499,958 \mu\text{m}^3$ mientras que en el grupo de casos es $6\,264,583 \pm 3\,267,483 \mu\text{m}^3$.

Tabla 2- Volumen nuclear de las neuronas de la sustancia gris cortical

<i>Estadígrafos</i>	<i>Volumen nuclear (μm^3)</i>	
	<i>Controles</i>	<i>Casos</i>
Determinaciones	604	523
Media Aritmética	112,924.890	6,264.583
Desviación Estándar	102,499.958	3,267.483
Límite de confianza mínimo > 95	104,734.097	5,983.899
Límite de confianza máximo > 95	121,115.684	6,545.268
Coefficiente de Variación	0,908	0,522

*Test de comparación de medias: $Z = -25.572$ $p \leq 0,001$

En cuanto al factor de forma (Tabla 3) la media aritmética y su desviación estándar en el grupo control mostró un valor de $0,852 \pm 0,078 \mu\text{m}$ y en el grupo de los casos fue de $0,891 \pm 0,056 \mu\text{m}$. Valores cercanos a uno lo que muestra tendencia a la circularidad en los núcleos de en ambos grupos de estudio.

Tabla 3- Factor de Forma nuclear de las neuronas de la sustancia gris cortical

Estadígrafos	Controles	Casos
Determinaciones	604	523
Media Aritmética	0,852	0,891
Desviación Estándar	0,078	0,056
Límite de confianza mínimo > 95	0,845	0,886
Límite de confianza máximo > 95	0,858	0,895
Coefficiente de Variación	0,092	0,062

* Test de comparación de medias: $Z = 10,865$ NS

Discusión

A partir de estudios experimentales y en humanos se conoce que las malformaciones congénitas se producen en la gestación temprana o etapa embrionaria y el riesgo de ocurrencia aumenta con el incremento del descontrol metabólico materno en el primer trimestre del embarazo.^(5,6)

El riesgo de malformaciones en embarazos diabéticos es de tres a cinco veces superior que en embarazos no diabéticos y estas malformaciones pueden afectar múltiples sistemas de órganos, incluyendo el cerebro y dar lugar a mortalidad o discapacidad prenatal o posnatal.^(5,6)

A criterio de la autora, el comportamiento de los indicadores morfométricos nucleares área y volumen demuestra los efectos negativos de la diabetes mellitus pregestacional sobre el tejido cerebral cortical pues se observa como los núcleos de las neuronas de la corteza cerebral temporal de gazapos de ratas Wistar en el modelo animal con diabetes mellitus pregestacional son más pequeños en el grupo caso. Pudiera estar relacionado con que los gazapos de este grupo se encontraron expuestos a los cambios metabólicos sufridos por la madre durante la gestación, provocados por la diabetes mellitus.

Mármol Caballero⁽¹²⁾ en su estudio obtuvo resultados similares con el análisis de estos indicadores morfométricos lo que refuerza la hipótesis de la autora relacionada con el daño al tejido cortical cerebral.

Los resultados de la autora se corresponden con los resultados de Mirarab *et al.*⁽¹⁴⁾ en su investigación Efecto de la diabetes gestacional sobre las células neuronales del cerebelo de ratas en el período postnatal, en la que el número de células granulares de Purkinje y espesor de las capas de cerebelo fueron evaluadas por método morfométrico. En ella plantea que la diabetes gestacional induce la pérdida del número y tamaño de las células Purkinje.

Los indicadores morfométricos relacionados con el área y volumen nuclear son útiles para interpretar el tamaño de la célula, si se tiene en cuenta lo planteado por Huber MD *et al.*⁽¹⁸⁾ donde se pudo observar en su estudio que a mayor núcleo celular mayor tamaño de la célula.⁽¹⁰⁾

Autores plantean que las células tienen la capacidad de adaptarse a determinadas circunstancias a través de cambios bioquímicos y de su morfología. Logran un equilibrio con el medio extracelular de modo que se preserven la viabilidad y la función.⁽¹⁰⁾ Como respuesta adaptativa a diferentes estados se observan cambios en el volumen nuclear.^(10,13,15)

Las alteraciones del tamaño nuclear pueden estar relacionadas con la glucosa, pues esta 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. De hecho, aun la hiperglucemia moderada durante un período corto es capaz de producir mutaciones al ADN.⁽⁶⁾

Otros estudios como el de Concepción Osorio M *et al.*⁽¹⁵⁾ también estudian la variación del volumen nuclear como respuesta adaptativa. En su investigación compara el comportamiento del volumen nuclear de los hepatocitos de la zona proximal al inicio del experimento y al final. Se tiene en cuenta que esta zona es la primera en recibir los factores estimulantes presentes en el citosol regenerativo del torrente vascular. A medida que los factores se agotan, debido a que el estímulo estuvo presente solo antes de la fase inicial del experimento, los valores del volumen nuclear comienzan a decrecer.

Es indiscutible que uno de los períodos más importantes para la determinación del volumen neuronal, la sinaptogénesis y la arborización dendrítica, es el último trimestre de la gestación por tanto, se considera que diferencias en el ambiente

intrauterino en los diferentes tramos de la vida fetal, y particularmente en el último trimestre de la gestación, pueden determinar sustancialmente el neurodesarrollo y el desarrollo cerebral a largo plazo.⁽⁴⁾

La agresión al correcto desarrollo nuclear neuronal puede constituir una causa fundamental del retraso del neurodesarrollo al ser la neurona la célula fundamental y toda su actividad metabólica estar controlada por el núcleo como centro rector. Las alteraciones nucleares de las células de los diferentes tejidos, traducen cambios en procesos como la diferenciación, el ciclo celular y el estado del metabolismo durante diferentes estados fisiológicos de la célula. Ello, como es conocido, implica alteraciones genéticas que pueden consistir en una mutación puntual, translocación, delección y ganancia o pérdida de un cromosoma completo.⁽¹⁹⁾ Esta afirmación es un elemento a considerar al valorar la posible relación entre el volumen nuclear y la madurez del tejido nervioso.

El factor de forma o índice de circularidad es una variable morfométrica que proporciona información sobre la morfología de las células, los procesos de diferenciación celular y estado del metabolismo. Su determinación ayudó a diferentes investigadores a establecer valores diagnósticos y pronósticos.^(10,12,13)

Las características de la matriz extracelular y su medio pueden influir en la forma nuclear, por ejemplo donde hay predominio de sustancia intercelular amorfa que proporciona un medio blando, los núcleos tienden a ser esféricos y en un medio de mayor consistencia o sea en presencia de una matriz donde exista un mayor componente fibroso los núcleos tienden a ser más aplanados.

En el estudio, el factor de forma del núcleo celular, no constituye un indicador determinante para demostrar la influencia negativa de la diabetes mellitus pregestacional en el tejido cortical neuronal de gazapos de ratas Wistar porque a pesar que son núcleos más pequeños los encontrados en los casos, mantienen su tendencia a la circularidad. Lo que deja claro que la diabetes materna no afecta en

gran medida la forma de los mismos y que las neuronas mantienen las características nucleares descritas en la bibliografía básica en cuanto a este aspecto.

Lo anterior no significa que este indicador no sea importante en los estudios morfométricos pues en la relación que existe entre las variaciones en la forma del núcleo y enfermedades como las neoplasias.

Los autores reconocen la relación existente entre la morfología y el tamaño del núcleo y la importancia que tiene un adecuado desarrollo de este componente celular para un neurodesarrollo normal.

Aunque al extrapolar los resultados de la investigación a los humanos, la misma es una herramienta importante para ampliar las posibilidades de atención a los pacientes expuestos durante la gestación a la Diabetes Mellitus Pregestacional, no constituye por sí sola un método diagnóstico de trastornos del neurodesarrollo producidos por la enfermedad estudiada.

Conclusiones

Los autores consideran que los valores superiores del área y el volumen nuclear de las neuronas de la corteza cerebral temporal de gazapos de ratas Wistar del grupo control respecto al grupo caso se traduce en un mayor grado de madurez de estas células en los gazapos de ratas no diabéticas y por tanto en el tejido nervioso. Este pudiera ser un elemento a considerar en el estudio de las adaptaciones nucleares neuronales ante cambios metabólicos y particularmente en estados de hiperglucemia.

Referencias bibliográficas

1. Aguilera Lagos R, Díaz López EJ, Colman Juárez BL, Carranza Pagoada RE, Padilla Mesa JC, Cáceres Munguía GI. Enfermedad arterial periférica y diabetes mellitus tipo 2 en atención primaria. Rev Cubana Angiol Cir Vas [Internet]. 2020 Ago

[citado 2022 julio 19; 21(2):e113.Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1682-00372020000200003

2. Olmos Coelho P, Borzone Tassara G, Poblete Lizana A, Oyarzun Ebensperger E. Continuo ascenso de la prevalencia de diabetes mellitus en mujeres chilenas en edad fértil: proyección 2020-2039 de malformaciones congénitas por diabetes pregestacional. Rev. Méd. Chile [Internet].2020 Ago [citado 2022 jul 19]; 148(8):1171-1182. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872020000801171&script=sci_abstract&lng=es

3. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Dirección de Registros médicos y estadísticas de salud. La Habana: Editorial Científico -Técnica; 2020. Disponible en: <https://salud.msp.gob.cu>.

4. Torres-Espinola JF, Jerez –Calero A, Segura M, Moreno Torres R. Estados del neurodesarrollo en niños nacidos de madre con sobrepeso, obesidad, diabetes gestacional, durante los primeros 18 meses de vida. En: Encuestas de Neurociencia (111). Enfermedades neurodegenerativas, Psiquiátricas: aspectos moleculares, genéticos y clínicos.[Internet].España: Editorial Universidad de granada;2016.[citado 10 enero 2022];[Aprox 19p.].Disponible: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8891011>

5. Bequer L, Gómez T, Molina JM, Freire C, Álvarez A, Quintero M. Efecto de la Hiperglucemia pregestacional en la morfología fetal en un modelo de Diabetes Experimental. Primer congreso virtual Ciencias Básicas Biomédicas. [Internet].2020 [citado 2 febrero 2022];[Aprox 13p.].Disponible en: <https://www.cibamanz2020.sld.cu>.

6. Polanco PAC, Revilla MMC, Palomino GMA, et al. Efecto de la diabetes materna en el desarrollo fetal de humanos y ratas. Ginecol Obstet Mex. 2005;73(10):544-553.

7. Monzón Tamargo MJ, Gandia Carvajal D, Hernández Rodríguez Y, Vendo Pérez R, Morejón Rosales D. Alteraciones morfométricas de Corazón y pulmón en crías de ratas wistar infectadas con leptospira canícula durante la preñez .V Jornada Científica Cátedra Santiago Ramón y Cajals [Internet].2020 [citado 20 jun 2022]:[Aprox 11p.]. Disponible en: <https://www.eae-publishing.com>.
8. Díaz Hernández MC. Efectos morfométricos del alcohol en núcleos de la fascia dentada y área CA1 del hipocampo de ratones macho albino [Tesis]. [España]: Universidad de Laguna: 2020.28p. Disponible: <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/915/20316/1/EFFECTOS%20MORFOMETRICOS%20DEL%20ALCOHOL%20EN%20NUCLEOS%20DE%20LA%20FASCIA%20DENTADA%20Y%20AREA%20CA1%20DEL%20HIPOCAMPO%20EN%20RATONES%20MACHOS%20ALBINOS.pdf>
9. Riveros HEAP PA. Morfometría del cuerpo calloso en ratas sometidas a stress prenatal crónico por restricción del movimiento. [Tesis]. [Santiago de Chile]: Universidad de Chile: 2021.56p. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/185823>
10. Toledo Hidalgo D, Díaz Rojas PA. Indicadores morfométricos del carcinoma papilar de tiroides diagnosticado por biopsia escisional. Archivo médico de Camagüey [Internet].2020 [citado 20 jun 2022]; 24(4): [Aprox 10p.]Disponible en: <https://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/7366>
11. Ferrer Magadan C, Reyes Mesa L, Martínez Barreiro A, Casado Méndez PR, López Sánchez Y. Volumen nuclear en la neoplasia intraepitelial cervical en biopsia por ponche. Primer congreso virtual de Ciencias Básicas Biomédicas en Granma [Internet].2020 [citado 13 jun 2022]: [Aprox 18p.].Disponible desde: <http://cibamanz2020.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2020/paper/download/40/32>

12. Mármol Caballero L. Caracterización morfométrica de la corteza cerebral frontal de gazapos de ratas Wistar en modelo animal con diabetes pregestacional (Tesis). Holguín. UCM Holguín; 2021.
13. Oro Pozo Y, Leyva Sánchez E, Díaz Rojas PA. Indicadores morfométricos del Melanoma maligno de piel. Archivo médico de Camagüey [Internet].2020 [citado 20 jun 2022]; 24(6): [Aproxi 16p.]Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=211166537006>.
14. Razi Elahe M, Ghafari S, Hojati V, Gotalipour Mohammad J .Effect of Gestational Diabetes on Neuronal Cells in Rats Cerebellum in Early Postnatal Life.Int.J.Morphol.[Internet].2014 Jun [citado 2022 oct 21];32(2):420-425.Disponible en [http://.cl/scielo.php?script=sci-arttex&pid=S0717-95022014000200006](http://.cl/scielo.php?script=sci-arttex&pid=S0717-95022014000200006&lng=es)<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022014000200006>
15. Concepción Osorio M, Díaz Rojas PA. Volumen nuclear de hepatocitos de hígados sometidos a un factor estimulante humoral en ratones isogénicos línea IOQ. Rev Cubana Invest Biomed [Internet].2013 Mar [citado 2022 oct 21]; 32(1):83-92 .Disponible en <http://scielo.sld.cu.php?script=sci-arttext&pid=S0864-03002013000100008&lng=es>.
16. Pérez Ramos N, Triana de la Paz I, Sánchez Freire P, Yanes Milian B, Milian Ramírez O, Álvarez Luna Y. Hepatic afectations according to morphometry in rats with metabolic síndrome. Acta Méd Centro [Internet].2021 Dic [citado 2022 jul 19]; 15(4):580-590).Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2709-79272021000400580
17. Seaman L, Meixner W, Snyder J, Rajapakse I. Periodicity of nuclear morphology in human fibroblasts. Nucleus [Internet]. 2015 [citado 15 Feb 2022]; 6(5); 408–416.Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19491034.2015.1095432>

18. Huber MD, Gerace L. The size-wise nucleus: nuclear volume control in eukaryotes. J Cell Biol [Internet]. 2007 [citado 20 Abr 2022]; 179(4):583-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2080922/>.

19. Toledo Hidalgo D, Díaz Rojas PA, Torres Batista M, Sánchez Anta A. La densidad óptica nuclear como indicador diagnóstico en el carcinoma papilar de tiroides. Rev Cubana Invest Biomed [Internet]. 2020 Ago [citado 21 oct 2022]; 39(3):Aprox. 14p .Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002020000300013

20. Del Rosario Plua VM, Lino Peñafiel ED, Moreira Quijije JX, Duran Pincay YE. Prevalence associated with gestational diabetes at the latin american level. MQRInvestigar [Internet]. 2023 Mar [citado 21 oct 2022]; 7(1):Aprox.13p. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/8040242>

21. Reyes Baque JM, Choez Chancay AA, Lino Avila AM. Diabetes mellitus gestacional: epidemiología, diagnóstico y complicaciones en la mortalidad perinatal . Pentaciencias [Internet]. 24 de enero de 2023 [citado 4 de febrero de 2022];5(1):324-35. Disponible en: <https://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/449>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Listado de contribución de autoría

Dra. Yaliana Isla Labrada, Dra. Deimarís Toledo Hidalgo, Dra. Meilin Alonso Trasobares y Dra. Susel Rodríguez Fortuny: Búsqueda de bibliografía y Marco Teórico.

Dra. Yaliana Isla Labrada: Identificación del problema y los objetivos.

Dra. Yaliana Isla Labrada y Dr.C Pedro Augusto Díaz Rojas: Selección de la muestra del estudio.

Dr.C Pedro Augusto Díaz Rojas: Elaboró el instrumento de medición.

Dr.C Pedro Augusto Díaz Rojas: Realizó procesamiento estadístico.

Dra. Yaliana Isla Labrada, Dra. Deimarís Toledo Hidalgo: Análisis y Discusión de los resultados.