



Universidad de Concepción
Facultad de Farmacia
Magíster en Bioquímica Clínica e Inmunología

**GENERACIÓN DE UN MODELO CLINICO-GENÉTICO
DURANTE EL EMBARAZO PARA LA PREDICCIÓN
TEMPRANA DE GLICEMIA ALTERADA**

POR BERNEL IGNACIO ORTEGA CONTRERAS

Tesis presentada a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción
para optar al grado académico de Magíster en Bioquímica Clínica e
Inmunología.

Profesor Guía

Dr. Enrique Alberto Guzmán Gutiérrez
Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Profesora Co-guía

Dr. Juan Andrés Araya Quintana
Departamento de Análisis Instrumental
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Mayo, 2023
Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

*A Graciela Díaz, mi abuela materna, quién me ha dado la fuerza para seguir y salir adelante en todo momento, sobre todo en los momentos más complejos.
Pese a que ya no está físicamente con nosotros, siento su amor y su apoyo.
Gracias por estar siempre conmigo.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mis padres y hermano, quienes me apoyan y alientan en todo momento. Gran parte de lo que soy se los debo a ellos y agradezco a la vida por tenerlos conmigo.

A mis abuelos, quienes partieron hace poco, pero que me vieron crecer y formarme, gracias por sus enseñanzas que llevaré por el resto de mi vida. A mis tías, tíos, primas, primos, a mi familia en general, les agradezco por ser el soporte de mi vida y estar presentes sobre todo en los momentos más difíciles, han sido esenciales para mí y lo seguirán siendo por siempre.

A mis amigas y amigos, por entregarme tantos buenos momentos, por estar conmigo siempre que los necesité, por las risas y los llantos. Se han convertido en parte de mi familia y les estaré eternamente agradecidos.

A Luis, por llegar en el momento preciso a entregarme el apoyo y el aliento que no sabía que necesitaba. Por darme tranquilidad, cariño, comprensión y por hacerme sentir tan cómodo con la persona que soy hoy.

A mi profesor, Enrique Guzmán Gutiérrez, agradecerle por todos estos años trabajando juntos, por ser un excelente tutor con una calidad humana excepcional. Por el apoyo y empatía desde que llegué al laboratorio, por todo lo que aprendí y todas las oportunidades que me ha dado y me han ayudado a crecer tanto en mi formación profesional como personal.

A todos quienes formaron parte de este proceso y que por distintos motivos ya no están, y a todo los que siguen junto a mí, les agradezco todo su apoyo.

Fueron tiempos muy difíciles, pero agradezco a la vida por darme la oportunidad de poder sobrellevarlos y estar finalizando este proceso.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN.....	6
ABSTRACT	9
1. MARCO TEÓRICO	12
1.1. Perfil glicémico durante el embarazo.	12
1.2. Complicaciones asociadas a alteraciones de la glicemia durante el embarazo.....	14
1.3. Factores de riesgo relacionados con alteraciones de la glicemia durante el embarazo.....	17
1.4. Variantes genéticas asociadas a alteraciones de la glicemia durante el embarazo.....	19
<i>1.4.1. Alteraciones en la secreción de insulina: Variantes genéticas rs7903146 y rs12255372 del gen TCF7L2.</i>	<i>20</i>
<i>1.4.2. Alteraciones de la resistencia a la insulina: Variante genética rs9939609 del gen FTO.</i>	<i>25</i>
<i>1.4.3. Alteración de los niveles de hormonas tiroideas: Variante genética rs225014 en el gen DIO2.....</i>	<i>28</i>
1.5. Predicción de alteraciones de la glicemia durante el embarazo basados en datos genéticos utilizando <i>Machine Learning</i>.....	31
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	35
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	36
4. HIPÓTESIS	36
5. OBJETIVO GENERAL	37
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37

7.	METODOLOGÍA	38
7.1.	Diseño del estudio.....	38
7.2.	Criterios de inclusión y exclusión.	38
7.3.	Reclutamiento de pacientes.	39
7.4.	Tamaño muestral.....	40
7.5.	Recolección de datos clínicos.	40
7.6.	Clasificación de Glicemia Alterada (GA) durante el embarazo....	41
7.7.	Aspectos éticos de la investigación.	42
7.8.	Toma de muestras.....	42
7.9.	Extracción de ADN genómico.	43
7.10.	Genotipificación.	44
7.10.1.	<i>rs7903146 TCF7L2 y rs12255372 TCF7L2 (PCR alelo-específica)</i>	44
7.10.2.	<i>rs225014 DIO2 (PCR-RFLP)</i>	47
7.10.3.	<i>rs9939609 FTO (PCR-HRM)</i>	49
7.11.	Secuenciación.	51
7.12.	Verificación del equilibrio de Hardy Weinberg.	51
7.13.	Análisis de regresión lineal simple mediante score genético.	51
7.14.	Análisis estadístico univariado.	52
7.15.	Análisis estadístico multivariado.....	53
8.	RESULTADOS	56
8.1	Descripción y clasificación de la población de embarazadas en estudio.....	56
8.2	Comparación de variables entre pacientes con Glicemia normal y Glicemia alterada durante su embarazo.....	57
8.3	Frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes genéticas en las embarazadas.....	61
8.4	Comparación de variables entre embarazadas según sus genotipos.	69
8.5	Relación entre glicemia postcarga durante el embarazo y score genético.....	78
8.6	Análisis multivariado por <i>Machine Learning</i>	80
9	DISCUSIÓN	93
9.1	Características de la población evaluada.....	94

9.2	Glicemia alterada durante el embarazo.	96
9.3	Asociación de los factores genéticos con las variables clínicas y bioquímicas.....	98
9.4	Análisis multivariados asociados a alteraciones de la glicemia durante el embarazo.....	101
9.5	Limitaciones, fortalezas y validez clínica del estudio	108
10	CONCLUSIÓN.....	110
11	BIBLIOGRAFÍA	112
12	ANEXOS.....	129
12.1	Anexo N°1: Ficha clínica Proyecto FONDECYT 11170710	129
12.2	Anexo N°2: Consentimiento informado.....	134

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Niveles de glicemia basales anterior, durante y posteriores al embarazo.	13
Figura 2: Proporción de mujeres que desarrollan glicemia alterada durante su embarazo.	59
Figura 3: Edades de las pacientes según clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.	61
Figura 4: Niveles basales de glicemia en el primer trimestre según clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.	61
Figura 5: Genotipificación de la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>).	62
Figura 6: Genotipificación de la variante genética rs12255372 (<i>TCF7L2</i>).	64
Figura 7: Genotipificación de la variante genética rs9939609 (<i>FTO</i>).	66
Figura 8: Genotipificación de la variante genética rs225014 (<i>DIO2</i>).	68
Figura 9: Comparación del peso en el primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>).	72
Figura 10: Comparación del IMC en el primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>).	72
Figura 11: Comparación de los niveles de glicemia basal en el segundo trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>).	72
Figura 12: Comparación de los niveles de TSH del primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>).	72

Figura 13: Comparación de los niveles de glicemia basal en el segundo trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs225014 (<i>DIO2</i>).	78
Figura 14: Comparación de los niveles de T3 total del primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs225014 (<i>DIO2</i>).	78
Figura 15: Modelo de regresión lineal simple para niveles de glicemia 2h postcarga mediante score genético que incluye todas las variantes genéticas evaluadas.	81
Figura 16: Modelo de regresión lineal simple para niveles de glicemia 2h postcarga mediante score genético que incluye variantes genéticas rs1225372, rs9939609 y rs225014.	81
Figura 17: Score plot generado por PCA.	82
Figura 18: Loadings plot generado por PCA.	83
Figura 19: Grafico de Distancia de clases.	85
Figura 20: Poder total de modelamiento de cada variable en estudio para el modelo predictivo de clasificación por SIMCA.	86
Figura 21: Poder discriminante de cada variable en estudio para el modelo predictivo de clasificación por SIMCA.	87
Figura 22: Desempeño del modelo predictor de glicemia a las 2 horas postcarga por PLS.	89
Figura 23: AUC-ROC. Desempeño del modelo de predicción de glicemia 2 horas postcarga mediante PLS.	90
Figura 24: Relevancia de cada variable en la generación del modelo de regresión para predicción de glicemia a las 2 horas postcarga, mediante PLS.	92

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: <i>Odds Ratios</i> ajustados para la asociación entre la glicemia materna como variable continua y complicaciones asociadas al embarazo.	16
Tabla 2: Frecuencias alélicas de la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>) en distintas poblaciones.....	22
Tabla 3: Frecuencias alélicas de la variante genética rs12255372 (<i>TCF7L2</i>) en distintas poblaciones.....	22
Tabla 4: Frecuencias alélicas de la variante genética rs9939609 (<i>FTO</i>) en distintas poblaciones.....	27
Tabla 5: Frecuencias alélicas de la variante genética rs225014 (<i>DIO2</i>) en distintas poblaciones.....	30
Tabla 6: Modelos predictivos tempranos de DMG, basados en Machine Learning que han utilizado variantes genéticas como predictores.....	34
Tabla 7: Cálculo de tamaño muestral.	41
Tabla 8: Información de los partidores utilizados para la genotipificación de rs7903146.....	45
Tabla 9: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs7903146.....	46
Tabla 10: Información de los partidores utilizados para la genotipificación de rs12255372.....	46
Tabla 11: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs12255372.....	47

Tabla 12: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs225014.....	48
Tabla 13: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs9939609.....	50
Tabla 14: Variables en estudio de la población total de embarazadas.	58
Tabla 15: Perfil glicémico de los grupos de clasificación para glicemia alterada durante el embarazo.	59
Tabla 16: Comparación de variables en estudio según clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.	60
Tabla 17: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs7903146 (<i>TCF7L2</i>); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.....	63
Tabla 18: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs12255372 (<i>TCF7L2</i>); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.....	65
Tabla 19: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs9939609 (<i>FTO</i>); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.	67
Tabla 20: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs225014 (<i>DIO2</i>); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.	69
Tabla 21: Comparación de variables, según genotipo para la variante rs7903146 (<i>TCF7L2</i>).	71
Tabla 22: Comparación de variables, según genotipo para la variante rs12255372 (<i>TCF7L2</i>).	74
Tabla 23: Comparación de variables según genotipo para la variante rs9939609 (<i>FTO</i>).	75
Tabla 24: Comparación de variables según genotipo para la variante rs225014 (<i>DIO2</i>).	77
Tabla 25: Modelos de regresión lineal para la evaluación de los niveles glicémicos poscarga mediante el score genético.	80
Tabla 26: Desempeño del modelo de clasificación por SIMCA.	84
Tabla 27: Parámetros de la calibración y validación del método predictivo de glicemia 2 horas poscarga por PLS.	88

Tabla 28: Desempeño del modelo de regresión por PLS.	90
Tabla 29: Análisis multivariados para predicción de alteraciones de la glicemia en el embarazo utilizando variantes genéticas y datos clínicos.....	107

RESUMEN

Durante el embarazo, la alteración de la glicemia provoca una desregulación de la unidad fetoplacentaria, aumentando el riesgo de que tanto la madre como su hijo sufran complicaciones a corto y largo plazo debido a esta condición. Los criterios diagnósticos utilizados actualmente son tardíos, no existe consenso universal ni tampoco métodos predictivos que puedan pesquisar tempranamente la glicemia alterada (GA) en este periodo.

Diversos estudios han demostrado que existen marcadores genéticos y clínicos que podrían servir como predictores de GA durante la gestación. Dentro de los genéticos, se han encontrado variantes en los genes *TCF7L2*, *FTO* y *DIO2*, los cuales están relacionados con un mayor riesgo a cursar con dicha condición.

El objetivo del presente trabajo fue generar un modelo predictivo de GA en el segundo trimestre de embarazo, que incluyera las variantes genéticas mencionadas, sumado a datos clínicos y bioquímicos al inicio de la gestación.

Para esto se recopiló información clínica y bioquímica de una muestra de pacientes embarazadas, quienes fueron clasificadas según sus niveles de glicemia (GA y glicemia normal (GN)), comparando ambos grupos. Estas pacientes fueron genotipificadas según los polimorfismos mencionados, para luego establecer las asociaciones individuales de cada genotipo con los parámetros clínicos y bioquímicos de las gestantes. Con esta información y utilizando el método multivariado *Soft independent modelling of class analogies* (SIMCA), se generó un modelo predictivo de GA en el segundo trimestre de embarazo, en base a los parámetros clínicos, bioquímicos y genéticos de relevancia del primer trimestre. Además, mediante un análisis de regresión por *Partial least squares* (PLS), se generó un modelo predictivo de glicemia a las 2 horas postcarga en el embarazo, utilizando variables de primer trimestre.

Del total de pacientes embarazadas (68), un 35% (24) cursaron con GA durante la gestación, quienes se caracterizaron por ser de mayor edad y presentar mayores niveles de glicemia basal en el primer trimestre de embarazo. En el análisis genético no se encontraron asociaciones entre las variantes genéticas y la GA durante el embarazo. Sin embargo, para la variante rs7903146 (*TCF7L2*), el genotipo de riesgo "TT" se asoció con mayor peso e IMC en el primer trimestre y niveles elevados de glicemia basal en el segundo trimestre de embarazo, comparado con los otros genotipos. Además, los niveles de TSH fueron menores en las pacientes que presentaban el alelo de riesgo "T". Para la variante rs225014

(*DIO2*), los niveles de glicemia basal del segundo trimestre fueron mayores en las portadoras del genotipo de riesgo “CC”, el cual también se asoció con niveles de triyodotironina total (T3T) disminuidos. También, se estableció una correlación positiva entre los niveles de glicemia a las 2 horas postcarga y el score genético, donde el mejor modelo (R: 0.35) consideró los genotipos rs12255372 (*TCF7L2*), rs9939609 (*FTO*) y rs225014 (*DIO2*). En el análisis multivariado, el modelo predictivo por SIMCA, para la clasificación de GA en embarazadas presentó un AUC (*Area under curve*) para la curva ROC (*receiver operating characteristic*) de 0.8734, junto con una sensibilidad y especificidad de 0.8182 y 0.9286 respectivamente, mientras que el modelo predictivo por PLS, para los valores de glicemia a las 2 horas postcarga en el embarazo, presentó un AUC de 0.7890 con la mayor sensibilidad y especificidad (0.7727 y 0.8333, respectivamente) en un corte de glicemia de 115 mg/dL.

En base a los resultados expuestos, se puede evidenciar que los factores genéticos en conjunto con las variables clínicas y bioquímicas evaluadas son de gran relevancia para el desarrollo de GA durante el embarazo, y el modelo predictivo permitiría pesquisar tempranamente dicha condición.

ABSTRACT

During pregnancy, blood glucose alteration causes a fetoplacental deregulation, increasing risk that both (the mother and her offspring) to suffer short- and long-term complications due to this condition. The diagnostic criteria currently used are late, there is not universal consensus or predictive methods that can early detect Altered Glycemia (AG) in this period.

Several studies have shown that there are genetic and clinical factors that could be useful as predictors of AG during pregnancy. Within the genetics, variants have been found in the *TCF7L2*, *FTO* and *DIO2* genes, which are related to an increased risk of developing this condition.

The aim of this study was to generate a predictive model of AG in the second trimester of pregnancy, which included the genetic variants, clinical and biochemical data at the beginning of pregnancy.

For this, clinical and biochemical information was collected from a sample of pregnant patients, who were classified according to their blood glucose levels (AG and normal glycemia (NG)), comparing both groups. These patients were genotyped according to the polymorphisms, to then establish the individual associations of each genotype with clinical and biochemical parameters of pregnant women. With this information and using the Soft independent modeling of class analogies (SIMCA) multivariate method, a predictive model of AG in the second trimester of pregnancy was generated, based on relevant clinical, biochemical, and genetic parameters of first trimester. In addition, through a regression analysis using Partial Least Squares (PLS), a predictive model of 2-hours post-load blood glucose in pregnancy was generated, using first trimester variables.

Of the total pregnant patients (68), 35% (24) had AG during pregnancy, who were characterized by being older and presenting higher basal blood glucose levels in the first trimester of pregnancy. In the genetic analysis, no associations were found between the genetic variants and AG during pregnancy. However, for rs7903146 (*TCF7L2*) variant, the “TT” risk genotype was associated with higher weight and BMI in first trimester and elevated basal blood glucose levels in the second trimester of pregnancy, compared to the other genotypes. In addition,

TSH levels were lower in patients with the risk allele "T". For the rs225014 (*DIO2*) variant, second trimester basal blood glucose levels were higher in carriers of the "CC" risk genotype, which was also associated with decreased total triiodothyronine (TT3) levels. Also, a positive correlation was established between the 2-hours post-load blood glucose levels and the genetic score, where the best model (R: 0.35) considered the rs12255372 (*TCF7L2*), rs9939609 (*FTO*) and rs225014 (*DIO2*) genotypes. In the multivariate analysis, the SIMCA predictive model for the classification of GA in pregnant women presented an AUC (Area under curve) for the ROC (receiver operating characteristic) curve of 0.8734, together with a sensitivity and specificity of 0.8182 and 0.9286 respectively, while PLS predictive model, for 2-hours post-load blood glucose levels at pregnancy, presented an AUC of 0.7890 with the highest sensitivity and specificity (0.7727 and 0.8333, respectively) at a glycemia cutoff of 115 mg/dL.

Based on the presented results, the genetic factors together with the clinical and biochemical variables evaluated are relevant for the development of AG during pregnancy, and the predictive model would allow early detection of this condition.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Perfil glicémico durante el embarazo.

Durante el embarazo se presentan una serie de cambios a nivel morfológico, hormonal y también metabólico. En etapas tempranas, se desarrolla un estado de resistencia a la insulina fisiológico, el cual se intensifica a finales de la gestación (Lain y Catalano, 2007). Dicho estado se genera por el aumento en las concentraciones plasmáticas de algunas hormonas como prolactina y lactógeno placentario, que estimulan la hiperplasia de células beta pancreáticas e incrementan la producción de insulina en la madre (Brelje *et al.*, 1993). Lo anterior, sumado a una mayor utilización de glucosa a nivel periférico y la síntesis de glicógeno aumentada, generan una disminución de la glicemia en ayuno en etapas tempranas del embarazo (Di Cianni *et al.*, 2003).

Durante la gestación, se presenta una disminución en la media de la glicemia en comparación al estado de preconcepción. Estos niveles van disminuyendo levemente a medida que avanza el embarazo hasta el puerperio, donde la glicemia se eleva para luego estabilizarse a niveles de preconcepción (Figura 1). Sin embargo, entre un 5,2 a un 9,0% de las embarazadas cursan con niveles basales de glicemia elevados durante su embarazo, mayores o iguales a 92 mg/dL (Riskin-Mashiah *et al.*, 2011).

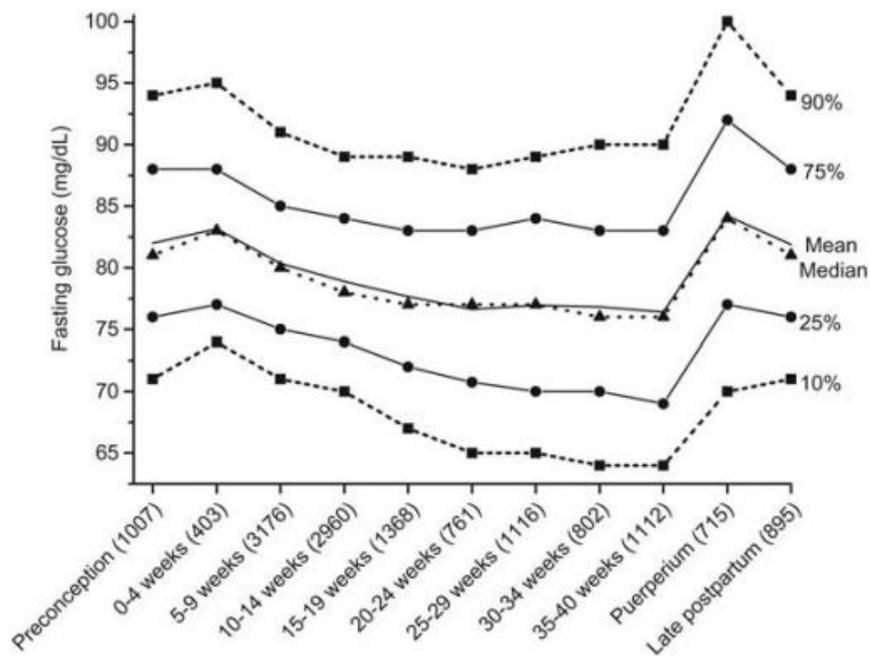


Figura 1: Niveles de glicemia basales anterior, durante y posteriores al embarazo. (Extraído de Riskin-Mashiah *et al.*, 2011).

Lo anterior podría estar dado por el aumento en la secreción de hormonas y mediadores placentarios que estimulan una serie de cambios metabólicos que ocurren en la madre para poder suplir los requerimientos que tiene el feto durante su gestación. Estos cambios generan un aumento fisiológico en la resistencia a la insulina, lo cual estimula una mayor secreción de insulina por parte de las células beta pancreáticas. Sin embargo, diversos factores genéticos y/o ambientales pueden generar ya sea un aumento patológico en la resistencia a la insulina o una disminución en la secreción de esta hormona, lo que favorecería el desarrollo de un estado de intolerancia a la glucosa durante el embarazo (Baz *et al.*, 2016; Catalano *et al.*, 1999; Chiefari *et al.*, 2017; Homko *et al.*, 2001).

1.2. Complicaciones asociadas a alteraciones de la glicemia durante el embarazo.

Algunas hormonas que durante el embarazo se encuentran elevadas, como el cortisol y la progesterona, serían las responsables de generar un estado diabetogénico, ya que inducen una progresiva resistencia a la insulina (Lockitch, G. Gamer, 1997; Ryan y Enns, 1988), cuya alteración genera cambios en el

metabolismo de la glucosa en la madre, que pueden llevar a diversas complicaciones tanto para la madre como para su hija o hijo.

Una investigación de gran relevancia en el estudio de los niveles glicémicos durante el embarazo, es la realizada por el *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes (HAPO) Study Cooperative Research Group*, en donde se ha demostrado que existe una correlación significativa entre los niveles plasmáticos de glicemia materna durante el embarazo, y el riesgo de complicaciones materno-fetales como macrosomía, hiperinsulinemia, hipoglicemia neonatal y partos por cesárea (Tabla 1) (HAPO Study Cooperative Research Group, 2002, 2008).

Excluyendo a las embarazadas diabéticas (mellitus tipo 2 y gestacional), se ha descrito que un 2,6% presenta niveles de glicemia basal mayores a 95 mg/dL en el segundo trimestre de gestación, lo que también puede aumentar el riesgo de complicaciones. Se ha descrito que a medida que aumentan los niveles glicémicos basales durante el embarazo, existe un mayor riesgo de que se desarrollen fetos grandes para la edad gestacional, hipertensión gestacional y prematuridad en el recién nacido (Sesnilo *et al.*, 2017). Lo anterior indicaría que no solo la condición de diabetes durante el embarazo supone un riesgo para la

gestante, sino que glicemias alteradas que se encuentran bajo el rango considerado para el diagnóstico, también podrían generar complicaciones.

Tabla 1: Odds Ratios ajustados para la asociación entre la glicemia materna como variable continua y complicaciones asociadas al embarazo.

Complicaciones asociadas al embarazo	Nivel de glucosa en sangre	
	Ayuno	A las 2 horas
	Odds Ratio (IC 95%)	
Peso al nacer > percentil 90	1,38 (1,32 – 1,44)	1,38 (1,32 – 1,44)
Parto por cesárea	1,11 (1,06 – 1,15)	1,08 (1,03 – 1,12)
Hipoglicemia neonatal	1,08 (0,98 – 1,19)	1,10 (1,00 – 1,12)
Péptido C en sangre de cordón > percentil 90	1,55 (1,47 – 1,64)	1,37 (1,30 – 1,44)
Parto prematuro (antes de 37 semanas)	1,05 (0,99 – 1,11)	1,16 (1,10 – 1,23)
Distocia de hombros o lesión al nacer	1,18 (1,04 – 1,33)	1,22 (1,09 – 1,37)
Cuidado neonatal intensivo	0,99 (0,94 – 1,05)	1,09 (1,03 – 1,14)
Hiperbilirrubinemia	1,00 (0,95 – 1,05)	1,08 (1,02 – 1,13)
Preeclampsia	1,21 (1,13 – 1,29)	1,28 (1,20 – 1,37)

Modificado de HAPO, 2008. Los valores de *Odds Ratio* (OR) fueron calculados para un aumento en los niveles de glucosa de 1 desviación estándar (6,9 mg/dL para los niveles de glucosa en ayuno y de 23,5 mg/dL para los niveles de glicemia a las 2 horas post-carga de glucosa oral).

Además, las condiciones asociadas a estas glicemias alteradas en el embarazo no se limitan tan solo al periodo gestacional, sino que, se ha determinado que los hijos de madres que cursan con dicha condición presentan mayor peso, una

menor sensibilidad a la insulina, menor secreción de insulina, y menor compensación de las células beta pancreáticas por la resistencia a la insulina, comparada con las madres sin alteraciones glicémicas. Además, los hijos de madres con glicemia alterada también suelen presentar dichas alteraciones de manera más frecuente que las embarazadas normoglicémicas, independiente de su índice de masa corporal (IMC) (Lowe *et al.*, 2019).

1.3. Factores de riesgo relacionados con alteraciones de la glicemia durante el embarazo.

Diversos factores de riesgo han sido relacionados con glicemias alteradas durante el embarazo, sin embargo, se ha observado que la magnitud del riesgo puede variar según la población estudiada. Una reciente investigación realizada por Garmendia *et al.* (2020), ha determinado varios de estos factores en la población chilena en donde se ha descrito que el haber tenido Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) en un embarazo previo, la obesidad pregestacional o la edad materna avanzada, son factores que aumentarían al menos en dos veces el riesgo a cursar con niveles alterados de glicemia en el embarazo.

Además de los factores de riesgo mencionados anteriormente, se indican también otros descritos para diversas poblaciones, asociadas al estilo de vida, a una dieta de baja calidad (relacionado al consumo excesivo de carbohidratos y grasas saturadas, y al bajo consumo de ácidos grasos poliinsaturados), el sedentarismo y el hábito tabáquico. También algunas condiciones clínicas que anteceden el embarazo como el síndrome de ovario poliquístico, resistencia a la insulina (Sonagra *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2018), y el hipotiroidismo (Gong *et al.*, 2016); como también condiciones asociadas a un embarazo previo, tal como la macrosomía fetal o el aborto espontáneo, pueden generar mayor riesgo a cursar con glicemias alteradas en el embarazo.

Dentro de los factores no modificables, se ha descrito que algunas etnias serían más susceptibles a presentar glicemias alteradas durante su embarazo, específicamente en población asiática e hispana (Ferrara, 2007). En este contexto, y en concordancia también con que las mujeres con un familiar en primer grado con diabetes mellitus presentan mayor riesgo a cursar con glicemias alteradas en el embarazo (Wang *et al.*, 2018), se propone que estaría asociada a susceptibilidad genética, principalmente por la presencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs por su sigla en inglés: *Single nucleotide polymorphisms*), transmitidos de generación en generación, y que podrían generar cambios en la expresión y actividad de diversas proteínas y metabolitos

importantes en la homeostasis de la glicemia durante la gestación (Zhang *et al.*, 2016; Mwanri *et al.*, 2015; Chiefari *et al.*, 2017).

Existen polimorfismos genéticos que han evidenciado alguna relación con la alteración de los niveles glicémicos durante el embarazo, sin embargo, surge la necesidad de seleccionar las alteraciones genéticas más relevantes para poder considerarlas como factores de riesgo de dicha condición.

1.4. Variantes genéticas asociadas a alteraciones de la glicemia durante el embarazo.

Existen diversas variantes genéticas que han sido relacionadas con las glicemias alteradas durante el embarazo. Si bien, los mecanismos por los cuales estas variantes genéticas generan cambios en el metabolismo de la glucosa durante el embarazo no están claros en todos los casos, podemos establecer algunos de los más relevantes, los cuales son: 1) disminución en la secreción de insulina, 2) aumento en la resistencia a la insulina y 3) alteración en los niveles de hormonas tiroideas. Los polimorfismos que se describirán a continuación están asociados respectivamente a dichas condiciones.

1.4.1. Alteraciones en la secreción de insulina: Variantes genéticas rs7903146 y rs12255372 del gen TCF7L2.

El gen del factor de transcripción 7 tipo 2 (*TCF7L2*) se encuentra localizado en el cromosoma 10 y codifica una proteína nuclear que se expresa en diversos tejidos, incluyendo los islotes de Langerhans e hígado (Zhou *et al.*, 2014). Este factor participa como un efector transcripcional en la vía de señalización Wnt, donde se regula la expresión de diversos genes, incluyendo algunos relacionados con la producción y función de hormonas incretinas, homeostasis de la glicemia y fusión de gránulos secretores de insulina (Schinner *et al.*, 2008; Ip *et al.*, 2012; da Silva *et al.*, 2009).

Estudios han demostrado que los niveles reducidos de ARNm para este gen en los islotes pancreáticos se relacionan con un significativo aumento de la apoptosis de células beta pancreáticas y disminución en su proliferación, lo que generaría la reducción en la secreción de insulina (Shu *et al.*, 2008; Savic *et al.*, 2011). Además, existe evidencia que, en modelos murinos sin expresión del gen *Tcf7l2*, se genera una alteración en el metabolismo de la glucosa causando hipoglicemia, y que la sobreexpresión de dicho gen en el mismo modelo animal

resulta en intolerancia a la glucosa (Savic *et al.*, 2011). Estos resultados se encuentran asociados con los altos niveles de expresión de ARNm para el gen *TCF7L2*, en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Lyssenko *et al.*, 2007), sin embargo, aún no existen estudios en modelos asociados al periodo gestacional.

Se ha determinado que ciertas variantes genéticas en *TCF7L2* podrían alterar la expresión de este factor de transcripción, generando una desregulación en la función del páncreas. Una de las variantes genéticas relevantes en diabetes, y asociada a este gen es rs7903146, cuya frecuencia alélica se describe en la Tabla 2, y en donde portadores del alelo de riesgo “T”, son más propensos a desarrollar DMT2 (*Odd Ratio* (OR): 1.58) y a tener un deterioro más rápido del páncreas en la secreción de insulina (Lyssenko *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015). De manera interesante, se ha determinado que embarazadas portadoras de la variante genética presentan una respuesta más favorable en tratamiento nutricional para evitar la DMG que quienes presentan el genotipo común (Barabash *et al.*, 2020).

Efectos similares genera la variante rs12255372, cuya frecuencia alélica se describe en la Tabla 3, y la cual se presenta frecuentemente en pacientes que poseen historial familiar de DMT2 (Chaudhuri *et al.*, 2021), y que además ha sido

asociada con el aumento en el riesgo de intolerancia a la glucosa (OR: 1,07), DMT2 (OR: 2,14) (Reyes-López *et al.*, 2019) y DMG (OR: 1.46) en portadoras del alelo de riesgo “T” (Zhang *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2017).

Tabla 2: Frecuencias alélicas de la variante genética rs7903146 (*TCF7L2*) en distintas poblaciones.

<i>TCF7L2</i> rs7903146 C>T		
Población	Frecuencia del alelo de riesgo	Referencia
Mundial	0,29	dbSNP
Latinoamericana	0,21	dbSNP
Chilena	0,20	Petermann-Rocha <i>et al.</i> , 2019

dbSNP: Base de datos de Polimorfismos de nucleótido simple (*database Single Nucleotide Polymorphism*)

Tabla 3: Frecuencias alélicas de la variante genética rs12255372 (*TCF7L2*) en distintas poblaciones.

<i>TCF7L2</i> rs12255372 G>T		
Población	Frecuencia del alelo de riesgo	Referencia
Mundial	0,28	dbSNP
Latinoamericana	0,19	dbSNP
Chilena	No ha sido reportado	-

dbSNP: Base de datos de Polimorfismos de nucleótido simple (*database Single Nucleotide Polymorphism*)

En concordancia con lo anterior, otro metaanálisis reafirma la asociación entre el desarrollo de DMG y ambas variantes genéticas del gen *TCF7L2*, rs7903146 (OR: 1,43) y rs12255372 (OR: 1,47), tanto en la población general, como en el análisis estratificado por etnias (Wang *et al.*, 2020; Shalabi *et al.*, 2021; Lin *et al.*, 2016; Shaat *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2016). Además, se asociarían con una mayor predisposición a generar DMT2 luego del embarazo (Chaudhuri *et al.*, 2021). Sin embargo, existe controversia en la asociación de DMG con estas variantes genéticas (Popova *et al.*, 2021).

Portadores del alelo de riesgo para estas variantes genéticas muestran una expresión significativamente mayor del ARNm de *TCF7L2* en los islotes pancreáticos y una producción aumentada de glucosa hepática (Lyssenko *et al.*, 2007). Portadores del genotipo “TT” para estas variantes nucleotídicas, tienen una mayor concentración plasmática de glucosa, proinsulina, y hormonas incretinas, comparado con el grupo de genotipo común (Gjesing *et al.*, 2011). Así mismo, el índice insulínogénico, el cual está dado por los resultados de la prueba de tolerancia a la glucosa oral, se encuentran disminuidos en portadores del alelo “T”, lo cual podría estar asociado a un deterioro en la secreción de insulina y no a la resistencia a la acción de dicha hormona (Saxena *et al.*, 2006). Sin embargo, aún no existen estudios en modelos de glicemia alterada en el embarazo que demuestren esta asociación.

Si bien para la variante genética rs12255372 aún se desconoce el mecanismo por el cual se genera la alteración en la expresión del gen *TCF7L2*, para la variante nucleotídica rs7903146 se ha descrito que se localiza en una región intrónica del gen, río arriba del exón 5, en un sitio de regulación génica, específicamente en un sitio de cromatina abierta selectivo de los islotes. Esto significa que, en las células de los islotes en el humano, el estado de la cromatina en el sitio de la variante rs7903146, es más abierto en cromosomas portadores del alelo “T”, por ende, tienen mayor actividad promotora de la transcripción, comparado con el alelo C (Gaulton *et al.*, 2010). Esto podría explicar la asociación del alelo “T” con una merma secreción de insulina estimulada por glucosa (Dahlgren *et al.*, 2007).

Por esto, la presencia del alelo de riesgo “T” en las variantes nucleotídica rs7903146 y rs12255372, podrían ser factores genéticos de riesgo para cursar con glicemia alterada durante el embarazo.

1.4.2. Alteraciones de la resistencia a la insulina: Variante genética rs9939609 del gen *FTO*.

El gen asociado a grasa corporal y obesidad (*FTO*), codifica para una enzima dioxigenasa que se encuentra en el núcleo celular. Se ha determinado que *FTO* participa en el procesamiento y *splicing* de ARNm. Específicamente, su acción corresponde a la desmetilación de las N6-metiladenosinas en el ARNm y regulación del *splicing* de genes involucrados en la adipogénesis, tales como *FABP4*, *PPAR γ* , *C/EBP α* y *PLIN1* (Zhao *et al.*, 2014a; Ben-Haim *et al.*, 2015; Merkestein *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015; Bartosovic *et al.*, 2017).

En modelos murinos, el gen *Fto* se encuentra ampliamente expresado en el cerebro, incluyendo el núcleo hipotalámico, el cual se relaciona con la regulación de la captación de energía (Speakman, 2015). Estudios realizados en cultivos primarios de fibroblastos embrionarios de ratón, han demostrado que *FTO* regula el *splicing* del gen *RUNX1T1* (Zhao *et al.*, 2014b), el cual se asocia a procesos tempranos de la adipogénesis (Rochford *et al.*, 2004). *FTO* ejerce su acción durante el proceso de *splicing* del transcrito de ARNm del gen *RUNX1T1*, generando la exclusión del exón 6 y formando una isoforma corta pro-adipogénica del factor de transcripción, el cual aumenta la proliferación de los adipocitos. Esto último corresponde a una condición que se ve favorecida cuando

FTO se sobreexpresa (Merkestein *et al.*, 2015). Además, ha sido determinado que la sobreexpresión de *FTO* en ratones C57B/6J se asocia con ganancia de peso y aumentada actividad adipogénica (Merkestein *et al.*, 2015).

Con respecto al gen *FTO*, los polimorfismos rs9939609, rs8050136, y rs1421085 han sido asociados con aumento del IMC, riesgo de obesidad y DMT2 (Kroll *et al.*, 2022). Sin embargo, aún existe controversia en la asociación de estos polimorfismos y el desarrollo de glicemia alterada en el embarazo (Hotta *et al.*, 2008; He *et al.*, 2018; Popova *et al.*, 2021). De hecho, las variantes rs8050136 y rs1421085, no han sido asociadas con el riesgo de DMG (de Melo *et al.*, 2015; Anghebem-Oliveira *et al.*, 2017; Lin *et al.*, 2018; Tarnowski *et al.*, 2018), pero sí con la generación de un ambiente proinflamatorio y mayor ganancia de peso durante el embarazo (Saucedo *et al.*, 2017).

El polimorfismo rs9939609, cuyas frecuencias alélicas se describen en la Tabla 4, se localiza en el primer intrón del gen *FTO* (Frayling *et al.*, 2007). Esta variante genética podría alterar la expresión o la actividad enzimática de *FTO*, llevando a cambios en el metabolismo que podrían dañar la homeostasis de la glucosa y generar resistencia a la insulina (Saber-Ayad *et al.*, 2019).

Evidencia reciente sugiere que este polimorfismo se encuentra fuertemente correlacionado con el riesgo de DMG (OR: 1.31) en un subgrupo de población caucásica (Lin *et al.*, 2018). También, el alelo de riesgo “A” se ha asociado con una rápida ganancia de peso durante el embarazo (Lawlor *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2022) y además, se ha determinado su relación con el peso del neonato (Franzago *et al.*, 2021).

Tabla 4: Frecuencias alélicas de la variante genética rs9939609 (*FTO*) en distintas poblaciones.

<i>FTO</i> rs9939609 T>A		
Población	Frecuencia del alelo de riesgo	Referencia
Mundial	0,40	dbSNP
Latinoamericana	0,25	dbSNP
Chilena	0,30	Petermann <i>et al.</i> , 2018

dbSNP: Base de datos de Polimorfismos de nucleótido simple (*database Single Nucleotide Polymorphism*)

Variaciones en el primer intrón del gen *FTO* han sido asociadas con un mayor IMC y riesgo de DMG, y se ha reportado que hay una región de 47 kb que aloja múltiples variantes nucleotídicas asociadas con dichas patologías. La variante rs9939609 ha sido extensamente estudiada (Frayling *et al.*, 2007). El mecanismo por el cual esta variante genera obesidad aún no está claro, sin embargo, se ha determinado que sujetos heterocigotos para dicha variante, presentan mayores

niveles de transcrito primario de *FTO*, provenientes del alelo de riesgo “A”, en comparación al alelo común “T” (Berulava y Horsthemke, 2010), lo que podría provocar mayores niveles de expresión de *FTO*, favoreciendo la adipogénesis. Sin embargo, esta última asociación aún no ha sido reportada en literatura.

Otra variante genética cercana al rs9939609, y asociada con aumento del IMC, es rs8050136. La secuencia de ADN que incluye el alelo de riesgo A de dicha variante genética, se une preferencialmente con el factor de transcripción CUTL1, el cual incrementa la expresión de *FTO*. Se ha propuesto que, dada la proximidad entre ambas variantes genéticas, rs9939609 podría incrementar la expresión de *FTO* por este mismo mecanismo (Stratigopoulos *et al.*, 2008).

1.4.3. Alteración de los niveles de hormonas tiroideas: Variante genética rs225014 en el gen DIO2.

El gen *DIO2* codifica para la enzima deiodinasa tipo 2 (*DIO2*), de expresión ubicua en el cuerpo, que regula la conversión de tetraiodotironina (*T4*) a triiodotironina (*T3*), su forma biológicamente activa. La *DIO2* es una enzima con un rol esencial en la homeostasis de las hormonas tiroideas al regular la conversión y concentración final de la hormona *T3*. *DIO2* también es importante

en el crecimiento y maduración cerebral, captación de glucosa a nivel muscular, entre otros efectos (Loubière *et al.*, 2010; Galton *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2016). Esta enzima se encuentra principalmente en el Sistema nervioso central, hipófisis, músculo esquelético, tiroides, corazón, huesos y tejido adiposo (Coppotelli *et al.*, 2006).

Se ha propuesto que el polimorfismo rs225014, cuyas frecuencias alélicas se presentan en la Tabla 5, genera un cambio en la secuencia aminoacídica de treonina (Thr) a una alanina (Ala) en el codón 92 (Thr92Ala) (Estivalet *et al.*, 2011). Esta variación ha sido asociada con los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c) en pacientes sin alteración de la glicemia (Sotak *et al.*, 2018), como también en aquellos que cursaban con DMT2 (Zhang *et al.*, 2016). También la variante genética se relaciona con un mayor riesgo de DMT2 (OR: 1,18) en un metaanálisis (Dora *et al.*, 2010). Además, un estudio en mujeres embarazadas ha demostrado asociación entre este polimorfismo y el riesgo de DMG (OR: 1,29) (Asadi *et al.*, 2016). También se ha determinado que esta variante genética estaría asociada con el cambio en los niveles de hormonas tiroideas en pacientes que han sufrido un infarto agudo al miocardio (Brozaitiene *et al.*, 2018). Lo anterior es relevante debido a que el cambio en los niveles de dichas hormonas puede estar asociado con el desarrollo de resistencia a la insulina en diversos tejidos.

Tabla 5: Frecuencias alélicas de la variante genética rs225014 (*DIO2*) en distintas poblaciones.

<i>DIO2</i> rs225014 T>C		
Población	Frecuencia del alelo de riesgo	Referencia
Mundial	0,37	dbSNP
Latinoamericana	0,54	dbSNP
Chilena	No ha sido reportado	-

dbSNP: Base de datos de Polimorfismos de nucleótido simple (*database Single Nucleotide Polymorphism*)

El genotipo de la variante genética rs225014 se encuentra asociado con la expresión de *DIO2* (Bomer *et al.*, 2015), y la presencia del alelo de riesgo “C”, reduce la actividad de *DIO2* (Estivalet *et al.*, 2011). En efecto, se ha observado que los pacientes homocigotos para este polimorfismo tienen menor actividad, evidenciado por una disminución del 37% en la velocidad de *DIO2* en el músculo esquelético, con una reducción del 90% en la velocidad máxima. Este resultado podría explicar la asociación de esta variación con la resistencia a la insulina. Por esto, como el músculo esquelético es el principal sitio de captación de glucosa dependiente de insulina, una menor actividad de *DIO2* podría disminuir los niveles de T3 generados en el músculo esquelético, y con esto, la expresión de

genes involucrados en el uso de energía, como GLUT4, llevando a resistencia a la insulina (Canani *et al.*, 2005).

Uno de los mayores problemas en cuanto a la detección de glicemia alterada durante el embarazo, es que se pesquisa de manera tardía, ya que usualmente se determina en el segundo o tercer trimestre de embarazo, cuando los niveles elevados de glicemia ya pueden estar generando alteraciones en la unidad materno-fetal. Además, la alta prevalencia de factores de riesgo asociados a esta condición de glicemia alterada en las embarazadas chilenas, aumenta el riesgo a que se curse con ella. Pese a esto, no existe un método que pueda predecir tempranamente la glicemia alterada durante el embarazo, y se hipotetiza que considerando variables clínicas y genéticas se podrían contribuir en la pesquisa temprana de dicha condición durante el embarazo.

1.5. Predicción de alteraciones de la glicemia durante el embarazo basados en datos genéticos utilizando *Machine Learning*.

Machine Learning corresponde a una subdisciplina dentro de la inteligencia artificial, la cual tiene el potencial de recolectar y analizar grandes cantidades de información que permitirían generar estrategias de detección, diagnóstico y

tratamiento que se adapten continuamente a los pacientes y a los cambios en su entorno, dando así un diagnóstico más preciso y atención personalizada (Goecks *et al.*, 2020). Existen diversos tipos de análisis, los cuales se pueden clasificar en análisis de tipo supervisados (permite predecir marcas o clases de información futura, basado en información previa que contiene estas marcas o clases), no supervisados (se identifican *clusters* que se generan en base a información sin clasificar) y semi-supervisados (se genera un análisis no supervisado y luego el operador asigna las marcas a la información) (Goecks *et al.*, 2020).

Existen estudios en donde este tipo de análisis ha sido utilizado para la predicción de DMG (Tabla 6), por ejemplo, utilizando factores de riesgo clásicos de la patología como predictores, logrando la validación de un método predictivo del riesgo de DMG con una sensibilidad del 61% y una especificidad del 71% (Teede *et al.*, 2011). Así mismo, otros estudios han generado modelos incorporando diversos parámetros bioquímicos y lipídicos (Sweeting *et al.*, 2019; Zheng *et al.*, 2019).

Ya se han reportado modelos predictivos para DMG que utilizan variantes genéticas como variables, sin embargo, han mostrado tener poca precisión y bajo poder predictivo. Además, no siempre presentan validación interna y/o externa del modelo. Otros estudios han generado modelos de predicción utilizando

variantes genéticas sumado a parámetros clínicos para evaluar su potencial relación con DMG, sin embargo, tampoco han conseguido la precisión adecuada (Mennickent *et al.*, 2022).

Pese a que los modelos evaluados para la predicción de alteraciones en la glicemia durante el embarazo no han tenido un buen desempeño, cabe mencionar, que dichos modelos que incluyen variantes genéticas no contemplan todas las descritas en este trabajo, pese a su asociación con las glicemias alteradas durante el embarazo.

Tabla 6: Modelos predictivos tempranos de DMG, basados en Machine Learning que han utilizado variantes genéticas como predictores.

Tipo de variables	Referencia	N° de variables	Variables	Casos/Controles	Técnica	Tiempo de predicción	Poder predictivo				Validación	
							AUC	Pre	Es	Se	VI	VE
Variantes genéticas	Yu <i>et al.</i> , 2021	2	Rs2134095, rs100537	573/740	PCR-RFLP	Pre-ges	-	0,552	-	-	X	-
	Kawai <i>et al.</i> , 2017	34	Entre ellas: rs5015480, rs4402960, rs7936247, rs4506565	458/1538	PCR-Sqn y PCR-TaqMan	Pre-ges	0,61	-	-	-	-	-
	Lamri <i>et al.</i> , 2020	1.290.525	Entre ellas: rs6813195, rs9505118, rs17106184, rs3130501	353/2865	PCR-DNA array	Pre-ges	0,65	-	-	-	-	X
Variantes clínicas y genéticas	Krishnan <i>et al.</i> , 2020	4	Edad, IMC, historial familiar de DM, rs373863828	35/77	PCR-TaqMan	12-17 semanas	0,76	-	-	-	-	-
	Popova <i>et al.</i> , 2021	9	Edad, IMC, historial familiar de DM, DMG en embarazo previo, hipertensión previa, paridad, IGO previa, SOP, rs10830963	688/454	PCR-TaqMan	Pre-ges	0,729	-	-	-	-	-
	Dziedziejko <i>et al.</i> , 2019	10	Edad, IMC, rs6681231, rs174550, rs4430796, rs266729, rs187238, rs1024611, rs5015480, rs10811661	204/207	PCR-TaqMan	Pre-ges	0,773	-	70	70	-	-

Modificado de Mennickent et al. (2022). AUC: *Area under cover* (Área bajo la curva); Pre: Precisión; Es: Especificidad; Se: Sensibilidad; VI: Validación interna; VE: Validación externa; Pre-ges: Pre-gestacional.

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Se ha descrito que cursar con glicemia alterada durante la gestación genera diversas complicaciones tanto para la madre como para la hija o hijo, durante el periodo prenatal y postnatal. Diversos factores de riesgo han sido asociados a esta condición, dentro de los cuales se ha descrito que el factor genético es relevante. Diversas variantes genéticas se han asociado con las glicemias alteradas durante el embarazo, sin embargo, no han sido considerados como factores predictivos para lograr una pesquisa temprana de esta condición.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál sería el desempeño de un modelo predictivo de glicemia alterada en el embarazo que incluya las variantes genéticas de *TCF7L2*, *FTO* y *DIO2*?

4. HIPÓTESIS

Un modelo predictivo de glicemia alterada durante el embarazo, que incluya el haplotipo de riesgo de las variantes genéticas presentes en *TCF7L2*, *FTO* y *DIO2*, tendrá un mejor desempeño en la pesquisa temprana de esta condición, en comparación al diagnóstico actual.

5. OBJETIVO GENERAL

Generar un modelo predictivo de glicemias alteradas del segundo trimestre de embarazo, mediante la determinación de variantes genéticas presentes en los genes *TCF7L2*, *FTO* y *DIO2*, parámetros clínicos y bioquímicos al inicio del embarazo.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir a la población de embarazadas en cuanto a parámetros clínicos y bioquímicos relevantes.
2. Genotipificar a la población de embarazadas para los SNPs de los genes *TCF7L2*, *FTO* y *DIO2*.
3. Establecer las asociaciones individuales de cada genotipo con los parámetro clínico y bioquímicos de las embarazadas.
4. Generar un modelo predictivo multivariado de glicemias alteradas en el segundo trimestre del embarazo, en base a los parámetros clínicos, bioquímicos y genéticos de relevancia del primer trimestre.

7. METODOLOGÍA

7.1. Diseño del estudio.

Se realizó un estudio observacional de cohorte.

7.2. Criterios de inclusión y exclusión.

Las pacientes para este estudio fueron incluidas según los siguientes criterios:

1. Mujeres embarazadas mayores de 18 años.
2. Reciben atención en salud para su embarazo en alguno de los siguientes Centros de Salud Familiar (CESFAM) de Concepción:
 - a. CESFAM Víctor Manuel Fernández
 - b. CESFAM Tucapel

c. CESFAM Santa Sabina

Las pacientes fueron excluidas del estudio si presentaban alguna de las siguientes condiciones:

1. Nacionalidad extranjera
2. Embarazo múltiple (mellizos o gemelos)
3. Haber sido diagnosticada con diabetes pregestacional
4. Presentar alguna otra patología del embarazo (preeclampsia u otras)

7.3. Reclutamiento de pacientes.

Las pacientes fueron reclutadas entre marzo de 2017 y diciembre de 2019, en los CESFAM anteriormente mencionados, durante alguno de sus controles prenatales de embarazo. Se entregó verbalmente y de manera explícita a las pacientes, la información necesaria acerca del estudio, y se consultó por su intención de participar en dicho proyecto. Las pacientes que aceptaron expresamente a participar firmaron un consentimiento informado asociado al proyecto FONDECYT 11170710 (Anexo N° 1), y se le hizo entrega de una copia de dicho documento.

Además, a las pacientes se les entregaron las indicaciones necesarias para la toma de muestra de sangre en su CESFAM de procedencia, asociada a este estudio, y se les hizo entrega de una orden de toma de muestra para dicho fin.

7.4. Tamaño muestral.

Utilizando los valores de sensibilidad y especificidad de la prueba postcarga de glucosa oral para la detección de DMG (Orozco-Saborío y Moya-Moya, 2007) se determinó que para aumentar la especificidad de un 65,1% a un 86%, con una razón entre no enfermos/enfermos de 4,6 y para un nivel de confianza del 95%, se necesitan 15 pacientes que presenten la condición y 68 que no la presenten (Tabla 7). El cálculo del tamaño muestral fue determinado con el software Epidat.

7.5. Recolección de datos clínicos.

Un muestreo por conveniencia se utilizó para el reclutamiento de las pacientes en los CESFAMs, y su información clínica fue obtenida mediante una encuesta

estandarizada, en la cual se solicitaron datos personales de las pacientes, historial obstétrico, historial previo al embarazo, antecedentes familiares, entre otros (Anexo N° 2). Además, se evaluó el perfil tiroideo de las embarazadas en el primer trimestre de gestación, el cual fue considerado hasta las 14 semanas de gestación. El IMC fue calculado como: $(masa(kg)) / (estatura(cm))^2$.

Tabla 7: Cálculo de tamaño muestral.

Datos:

Especificidad esperada:	
Prueba 1:	65,100%
Prueba 2:	86,000%
Razón no enfermos/enfermos:	4,60
Nivel de confianza:	95,0%

Resultados:

Potencia (%)	Tamaño de la muestra		
	Enfermos	No enfermos	Total
80,0	15	68	83

7.6. Clasificación de Glicemia Alterada (GA) durante el embarazo.

Las pacientes embarazadas fueron clasificadas según sus niveles glicémicos durante el segundo trimestre de gestación. Se utilizaron valores de corte de 100 mg/dL para los niveles de glicemia en ayuno, y de 120 mg/dL para los de glicemia

a las 2 horas postcarga tras una prueba de tolerancia a la glucosa oral (Shanmugam *et al.*, 2019). Las pacientes que presentaron al menos un valor glicémico por sobre el corte fueron clasificadas como GA y quienes no presentaron valores alterados se clasificaron como embarazadas que cursaron con Glicemia Normal (GN) durante su embarazo.

7.7. Aspectos éticos de la investigación.

Cada paciente accedió voluntariamente a participar de esta investigación y firmó un consentimiento informado en donde se le dio a conocer la investigación, los objetivos, beneficios, riesgos y se identificó al investigador responsable del estudio. Este documento se encuentra revisado y aprobado por el Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción (Código CEC 23-2017-20) y el Comité Ético de la Universidad de Concepción.

7.8. Toma de muestras.

A cada paciente embarazada se le extrajeron dos muestras de 6 mL de sangre periférica cada una, la primera en un tubo sin anticoagulante y la segunda en un

tubo con anticoagulante EDTA. Estas muestras fueron mantenidas a 4°C durante el día hasta su procesamiento, el cual consistió en centrifugar las muestras a temperatura ambiente por 10 minutos a 3000 rpm. El suero obtenido desde las muestras sin anticoagulante fue utilizado para la medición del perfil tiroideo, mientras que la capa leucocitaria proveniente de las muestras con EDTA, fue utilizada para la extracción de ADN genómico.

7.9. Extracción de ADN genómico.

Desde 200 uL de la capa leucocitaria de las muestras de sangre, se extrajo cada ADN genómico, utilizando el kit de extracción de ADN, *NuceloSpin® Blood* (Machery-Nagel), según las indicaciones del fabricante para este tipo de muestras. Se eluyó el ADN genómico para cada muestra, en un volumen final de 100 uL.

El ADN extraído fue cuantificado en el espectrofotómetro *Synergy™ HTX Multi-Mode Microplate Reader* (BioTeck®), y se determinó el índice de pureza mediante la relación 260/280 nm. Además, se evaluó la integridad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% p/v en buffer TAE (*Tris-Acetate-EDTA*) 1X.

Las muestras de ADN con una concentración igual o mayor a 50 ng/uL, índice de pureza entre 1.8 y 2.0, además de presentar una banda única y sin degradación en la electroforesis de agarosa, fueron seleccionadas para su posterior genotipificación.

7.10. Genotipificación.

7.10.1. rs7903146 TCF7L2 y rs12255372 TCF7L2 (PCR alelo-específica).

La determinación de los genotipos para las variantes del gen *TCF7L2* se realizaron mediante PCR alelo-específica, según lo descrito por Dutra *et al.* (2008) para rs7903146, y Acharya *et al.* (2015) para rs12255372.

Se realizarán dos reacciones por muestra, una específica para la detección del alelo de riesgo, y la otra específica para el alelo común, para ambas variantes genéticas. Se utilizaron *GoTaq® G2 Green Master Mix* (Promega), siguiendo las indicaciones del fabricante para la reacción.

Para la genotipificación de rs7903146 se utilizaron partidores específicos para cada alelo, en cada reacción. Las secuencias de los partidores que se utilizaron y las concentraciones finales se muestran en la Tabla 8. Para la detección del alelo común “C”, se utilizaron los *Primers Forward C* y *Reverse*, mientras que para la detección del alelo de riesgo “T”, se utilizaron los *Primers Forward T* y *Reverse*. Las etapas del proceso de amplificación en el termociclador se describen en la Tabla 9.

Tabla 8: Información de los partidores utilizados para la genotipificación de rs7903146.

Primers	Secuencia	%GC	Tm	Concentración final
Forward C	5'-GAACAATTAGAGAGCTAAGCACTTTTGTAGAAAC -3'	33%	67 °C	0,3 uM
Forward T	5'-GAACAATTAGAGAGCTAAGCACTTTTGTAGAGAT-3'	33%	68 °C	0,3 uM
Reverse	5'-AGATGAAATGTAGCAGTGAAGTGC-3'	42%	66 °C	0,3 uM

%GC: Porcentaje de pares Guanina-Citocina; Tm: Temperatura de *melting* (alineamiento).

Para la genotipificación de rs12255372 se utilizaron partidores específicos para cada alelo, en cada reacción. Las secuencias de los partidores que se utilizaron y las concentraciones finales se muestran en la Tabla 10. Para la detección del alelo común “G”, se utilizaron los *Primers Forward Común*, *Reverse Común* y *Forward G*, mientras que para la detección del alelo de riesgo “T”, se utilizaron los

Primers Forward Común, Reverse Común y Reverse T. Las etapas del proceso de amplificación en el termociclador se describen en la Tabla 11.

Tabla 9: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs7903146.

ETAPA	Temperatura	Tiempo	Nº de ciclos
Denaturación inicial	94 °C	2 min	1
Denaturación	94 °C	1 min	32
Alineamiento	58 °C	1 min	
Extensión	72 °C	1 min	
Extensión final	72 °C	5 min	1

Tabla 10: Información de los partidores utilizados para la genotipificación de rs12255372.

Primers	Secuencia	%GC	Tm	Concentración final
Forward Común	5'-TTTTGTTAATGGCTTG CAGGT-3'	38%	64 °C	0,3 uM
Forward G	5'-TGCCCAGGAATATCCAGGCAAGACTG-3'	54%	73 °C	0,6 uM
Reverse T	5'-GGCCTGAGTAATTATCAGAATATGATA-3'	33%	63 °C	0,6 uM
Reverse Común	5'-GCGCATGCTAATTCCTGTC-3'	50%	64 °C	0,3 uM

%GC: Porcentaje de pares Guanina-Citocina; Tm: Temperatura de *melting* (alineamiento).

Tabla 11: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs12255372.

ETAPA	Temperatura	Tiempo	Nº de ciclos
Denaturación inicial	94 °C	2 min	1
Denaturación	94 °C	1 min	30
Alineamiento	55 °C	30 seg	
Extensión	72 °C	1 min	
Extensión final	72 °C	5 min	1

Para ambas genotipificaciones se realizó una electroforesis cargando cada producto de PCR en un gel de agarosa al 2% en buffer TAE 1X y se observaron las bandas en un transiluminador UV. En el caso del rs7903146, la presencia de una banda de 205 pb da cuenta de la presencia del alelo correspondiente en cada reacción. Para el rs12255372 la presencia de una banda de 352 pb corresponde al control de la amplificación en ambas reacciones, la presencia de una banda de 151 pb en la reacción para el alelo común “G” y de 253 pb en la reacción del alelo de riesgo “T”, da cuenta de la presencia de dicho alelo en la correspondiente reacción.

7.10.2. rs225014 DIO2 (PCR-RFLP).

La determinación de los genotipos de la variante genética en el gen *DIO2* se realizó mediante la técnica de PCR-RFLP (del inglés *Restriction Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción)). Se aplicó el segmento de ADN que contiene dicha variante utilizando *primers* específicos (*Forward Primer*: 5'-GATAGTAAAGAATAACAGCCTTGGCT-3' y *Reverse Primer*: 5'-CAGCTATCTTCTCCTGGATACCA-3') (Procopciuc *et al.*, 2016). La reacción de PCR se llevó a cabo con *GoTaq® G2 Green Master Mix* (Promega) según las indicaciones del fabricante. En el termociclador se utilizó el protocolo de amplificación descrito en la Tabla 12.

Tabla 12: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs225014.

ETAPA	Temperatura	Tiempo	Nº de ciclos
Denaturación inicial	94 °C	10 min	1
Denaturación	94 °C	30 seg	45
Alineamiento	58 °C	30 seg	
Extensión	72 °C	45 seg	
Extensión final	72 °C	10 min	1

Los productos amplificados de la reacción fueron digeridos con la enzima de restricción RsaI (NEB), según el protocolo descrito por el fabricante, realizando una incubación de esta reacción a 37 °C por 3 horas. Luego de la digestión, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 3% en buffer TAE 1X, para finalmente identificar el genotipo de cada muestra según las bandas que se presentan en el gel. Para el genotipo homocigoto normal (TT), se obtienen fragmentos de 363 y 49 pb, para el genotipo heterocigoto (TC), los fragmentos son de 412, 363 y 49 pb y para el genotipo homocigoto mutado (CC) un único fragmento de 412 pb.

7.10.3. rs9939609 FTO (PCR-HRM).

La determinación de los genotipos para la variante del gen *FTO* se realizó mediante análisis por PCR-HRM (del inglés *High Resolution Melting* (Alta resolución de fusión)). Se utilizó *5x Hot FirePol EvaGreen qPCR Mix Plus* (Solis BioDyne), siguiendo las indicaciones del fabricante para la reacción, flanqueando la región de interés con los *Forward Primer* (5'-CTAGGTTTCCTTGCGACTGCT-3') y *Reverse Primer* (5'-TGCTCTCCCACTCCATTTCT-3') para obtener un producto de 101 pares de bases. En cada corrida se amplificaron muestras de ADN correspondientes a 3 controles para cada genotipo de este polimorfismo

(*Wild Type* (TT), heterocigoto (TA) y homocigoto mutado (AA)). Se realizaron 2 reacciones por cada muestra, la primera utilizando 100 ng de ADN de la paciente correspondiente; y la segunda con 50 ng de ADN de la paciente y 50 ng de ADN control de genotipo *Wild Type*, para una mejor detección de los genotipos. La reacción de PCR y la posterior curva de *melting* se realizó en el termociclador *Rotor Gene 6000* (QIAGEN). El protocolo que se utilizó se indica en la Tabla 13.

Tabla 13: Etapas del proceso de amplificación para la genotipificación de rs9939609.

Etapa	N° de ciclos	Temperatura	Tiempo
Activación	1	94 °C	10 min
Amplificación	45	94 °C	30 s
		58 °C	30 s
		72 °C	45 s
Melting	1	68-90 °C	0,1 °C cada 2 s

Los resultados de fluorescencia fueron recolectados en el software asociado a *Rotor Gene 6000*. Los genotipos de las muestras fueron asignados comparando los patrones de “melting” con los genotipos de referencia.

7.11. Secuenciación.

Se purificaron productos de PCR de cada variante genética por medio del kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega) y se secuenciaron mediante el método Sanger utilizando reactivo *BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*, en la Unidad de Secuenciación y Tecnologías Ómicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

7.12. Verificación del equilibrio de Hardy Weinberg.

Mediante el cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas se evaluó el cumplimiento del equilibrio de Hardy Weinberg para cada polimorfismo, por la comparación de proporciones observadas y esperadas mediante el test estadístico Chi-cuadrado.

7.13. Análisis de regresión lineal simple mediante score genético.

Se generó un *score* genético para los modelos de regresión lineal, valorando cada genotipo de manera diferenciada, para cada variante genética. Los genotipos homocigotos comunes o "*Wild-type*" tomaron valor "0", los genotipos heterocigotos tomaron valor "0,5", los genotipos homocigoto-mutados tomaron valor "1". La sumatoria de los valores para cada genotipo de cada variante genética dan como resultado el *score* genético para cada modelo de regresión lineal. Se evaluaron los niveles de glicemia a las 2 horas poscarga en base al *score* genético calculado, utilizando diversos modelos. Se determinaron los valores de R para determinar la mejor relación entre los niveles glicémicos y el *score* genético calculado.

7.14. Análisis estadístico univariado.

Las variables continuas se presentan como promedio \pm Desviación Estándar (DE) si la variable presenta una distribución normal, o como mediana (rango intercuartílico) cuando no presentaron distribución normal, la cual fue evaluada mediante Test D'Agostino Pearson, y en el caso de muestras pequeñas ($n < 10$) mediante Test de Shapiro-Wilk. Las variables categóricas se presentan como frecuencia (porcentaje (%)). Los valores atípicos fueron excluidos mediante el método ROUT, con un valor $Q = 1\%$. La comparación entre los grupos se realizó

mediante Test-t de Student o Test-U de Mann-Whitney, según si las variables presentaron o no una distribución normal, respectivamente. En los casos en que se compararon más de dos grupos se utilizó los test ANOVA si la variable presenta distribución normal o Kruskal-Wallis si no se presenta dicha distribución de los datos. Las comparaciones entre proporciones fueron evaluadas mediante Test exacto de Fisher cuando solo se compararon dos grupos, o mediante Test Chi-cuadrado cuando se compararon tres grupos. Todos los análisis estadísticos y gráficos se realizaron con el software estadístico *GraphPad Prism 6*®. Valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

7.15. Análisis estadístico multivariado.

Para el análisis multivariado de datos maternos en el primer trimestre de embarazo, se realizó el pretratamiento de estos mediante auto-escalamiento de las variables. Se evaluó distribución normal de los datos y se realizó un análisis de detección de *outliers* (residuos estudentizados y *Leverage*).

Se ejecutó un análisis exploratorio de los datos mediante análisis de componentes principales o PCA (por sus siglas en inglés: *Principal component analysis*), el cual corresponde a un algoritmo de reconocimiento de patrones de tipo no

supervisado. En este análisis se eligieron los componentes principales que mostraron una tendencia de separación espontánea de los datos según la clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.

Luego se realizaron dos análisis de tipo supervisados, uno de clasificación, correspondiente a SIMCA (por sus siglas en inglés: *Soft Independent Modeling of Class Analogy*), y otro de regresión, correspondiente a PLS (por sus siglas en inglés: *Partial Least Squares*). Para estos modelos se utilizó el criterio de clasificación de glicemia alterada durante el embarazo y los niveles de glicemia a las 2 horas postcarga como variables a predecir, respectivamente para cada modelo.

Para el modelo de clasificación por SIMCA, se analizó el gráfico de Distancia de Clases (*Class distances* o Cooman's plot), y por medio de la matriz de confusión se construyó una tabla con los resultados de la clasificación realizada por el algoritmo. Se tabularon los resultados según el número de muestras predichas por SIMCA, en contraste con el número de pacientes reales con glicemia alterada en el embarazo o sin dicha condición.

Para el modelo de regresión por PLS, los datos fueron evaluados para la predicción de glicemia a las 2 horas postcarga. El modelo fue sometido a validación

cruzada *leave-one-out* (LOO). El desempeño del modelo fue evaluado por la determinación de la raíz del error cuadrático medio (RECM) y el error relativo (ER), para la calibración (RECMC y ERC), y para la validación cruzada (RECMV y ERV).

Los análisis multivariados se llevaron a cabo mediante el software *Pirouette 4.5* (Infometrix Inc, USA).

El desempeño de los modelos supervisados fue evidenciado mediante el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés: *Area under curve*) de la curva ROC (por su sigla en inglés: *Receiver Operating Characteristic*), en base a los valores de sensibilidad y especificidad. El AUC-ROC de los modelos finales fueron determinado mediante el software GraphPad Prism 9.2.0 (GraphPad Software Inc, USA).

8. RESULTADOS

8.1 Descripción y clasificación de la población de embarazadas en estudio.

Se obtuvieron los antecedentes clínicos de 68 pacientes embarazadas en total, cuya información se resume en la Tabla 14. Los parámetros evaluados se encuentran dentro de los valores de referencia para mujeres gestantes, salvo el IMC durante el primer trimestre de embarazo, donde se puede evidenciar que gran parte de la población presenta sobrepeso (43%) u obesidad (29%).

Las gestantes fueron clasificadas según sus niveles glicémicos en el segundo trimestre de embarazos, siguiendo los valores de corte definidos previamente para determinar glicemia alterada (GA) y normal (GN) durante el embarazo. Del total, un 35% de las mujeres evaluadas presentó GA durante el embarazo (Figura 2), las cuales presentaron niveles glicémicos significativamente mayores, tanto

basales como a las 2 horas postcarga durante el segundo trimestre de embarazo (Tabla 15).

8.2 Comparación de variables entre pacientes con Glicemia normal y Glicemia alterada durante su embarazo.

Se compararon las variables evaluadas entre los grupos de pacientes, según la categorización de GA (Tabla 16). Se descartaron valores *outliers* de TG, aTG y aTPO según el criterio descrito anteriormente en Metodología.

Se logró determinar que las embarazadas que cursaron con GA durante su embarazo eran de mayor edad, comparadas con aquellas que cursaron con niveles glicémicos normales durante dicho periodo (Figura 3). Además, los niveles glicémicos basales en el primer trimestre de embarazo fueron mayores en el grupo que desarrolló GA en trimestres posteriores, en comparación con quienes lo cursaron con glicemia normal en dicho periodo (Figura 4). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el resto de los parámetros evaluados.

Tabla 14: Variables en estudio de la población total de embarazadas.

VARIABLES	Total (n=68)	Rango de referencia
Variables clínicas		
Edad (años)	30 ± 6	-
Estatura (m)	1,60 ± 0,06	-
Peso (kg)	70 (60 - 77)	-
IMC (kg/m ²)	28 ± 5	(18,5 – 25)
<i>Estado nutricional</i>		
- Normopeso	19 (28%)	
- Sobrepeso	29 (43%)	
- Obesidad	20 (29%)	
Perfil glicémico		
Glicemia basal 1T (mg/dL)	80 ± 7	< 100
Glicemia basal 2T (mg/dL)	80 ± 9	< 100
Glicemia postcarga 2T (mg/dL)	111 ± 27	<140
Perfil tiroideo		
TSH (mUI/L)	1,7 (0,9 - 2,5)	0,1 – 4,00
T3T (ng/mL)	1,7 (1,5 - 1,8)	0,91 – 1,90
T4T (ug/dL)	11,6 (10,7 - 13,5)	6,9 – 15,20
T4L (ng/dL)	1,0 (0,9 - 1,1)	1,03 – 1,48
TG (ng/mL)	14,9 (6,0 - 27,2)	<55
TG elevado	2 (3%)	-
aTG (UI/mL)	10,2 (6,1 - 17,3)	<95
aTG elevado	5 (7%)	-
aTPO (UI/mL)	1,5 (0,8 - 3,3)	<30
aTPO elevado	8 (12%)	-
TRAb (UI/L)	0,25 (0,25 - 0,37)	<1,5

IMC: Índice de masa corporal; 1T: Primer trimestre; 2T: Segundo trimestre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; T3T: Triyodotironina total; T4T: Tetrayodotironina total; T4L: Tetrayodotironina libre; TG: Tiroglobulina; aTG: Anticuerpo anti-TG; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TRAb: Anticuerpo anti-receptor de TSH.

Total de embarazadas (n=68)

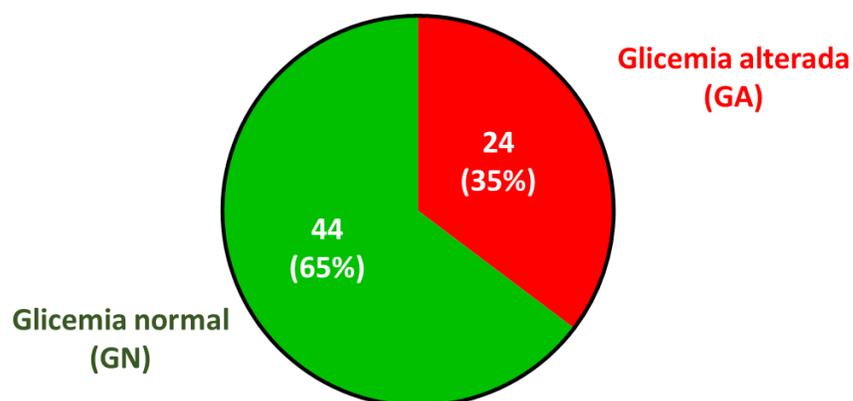


Figura 2: Proporción de mujeres que desarrollan glicemia alterada durante su embarazo.

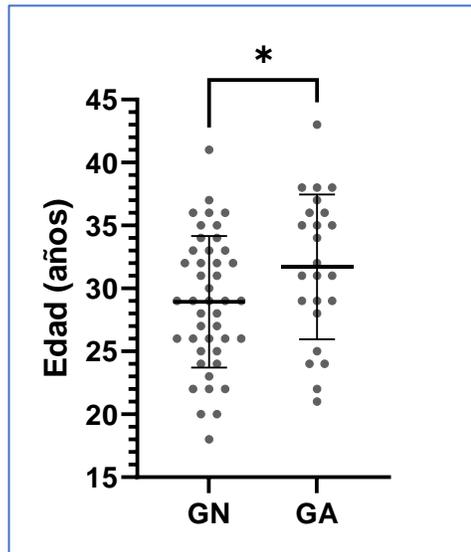
Tabla 15: Perfil glicémico de los grupos de clasificación para glicemia alterada durante el embarazo.

Variable glicémica	Glicemia alterada (n = 24)	Glicemia normal (n = 44)	Valor p
Glicemia basal 2T (mg/dL)	83 (77 – 89)	76 (71 – 83)	0.0223
Glicemia 2 horas postcarga (mg/dL)	140 ± 22	95 ± 13	< 0.0001

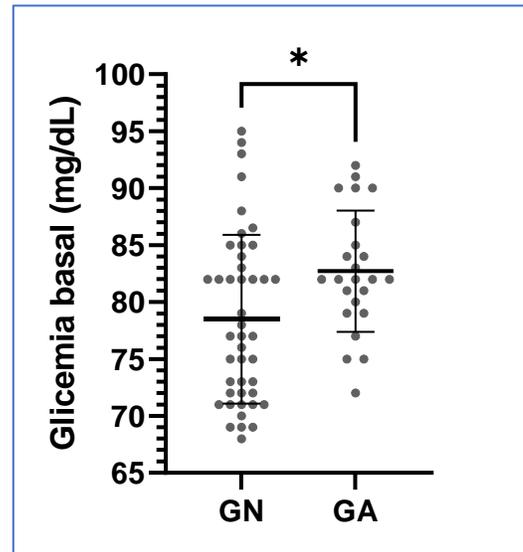
Tabla 16: Comparación de variables en estudio según clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.

VARIABLES	n	Glicemia Normal	n	Glicemia Alterada	Valor p
VARIABLES CLÍNICAS					
Edad (años)	44	29 ± 5	24	32 ± 6	0,04
Estatura (m)	44	1,60 ± 0,05	24	1,58 ± 0,07	0,26
Peso (kg)	44	69 (58 - 76)	24	70 (63 - 80)	0,67
IMC (kg/m ²)	44	27 (24 - 31)	24	28 (25 - 31)	0,26
<i>Estado nutricional</i>					
- Normopeso		14 (32%)		5 (21%)	0,47
- Sobrepeso		19 (43%)		10 (41%)	
- Obesidad		11 (25%)		9 (38%)	
Glicemia basal 1T (mg/dL)	44	78 ± 7	24	83 ± 5	0,02
PERFIL TIROIDEO					
TSH (mUI/L)	44	1,6 (0,9 - 2,4)	24	1,8 (0,9 - 2,7)	0,64
T3T (ng/mL)	44	1,8 ± 0,2	24	1,6 ± 0,2	0,07
T4T (ug/dL)	44	12,0 (11,2 - 14,0)	24	11,3 (9,8 - 12,7)	0,05
T4L (ng/dL)	44	1,0 (0,9 - 1,1)	24	1,0 (0,9 - 1,1)	0,45
TG (ng/mL)	43	16,8 (5,4 - 29,0)	23	11,6 (6,3 - 17,6)	0,38
TG elevado	44	1 (2%)	24	1 (4%)	>0,99
aTG (UI/mL)	42	10,1 (6,0 - 14,3)	21	10,0 (4,6 - 26,5)	0,68
aTG elevado	44	2 (4%)	24	3 (12%)	0,34
aTPO (UI/mL)	41	1,4 (0,6 - 3,0)	19	1,1 (0,8 - 1,6)	0,22
aTPO elevado	44	3 (7%)	24	5 (21%)	0,12
TRAb (UI/L)	44	0,25 (0,25 - 0,37)	24	0,25 (0,25 - 0,36)	0,88

IMC: Índice de masa corporal; 1T: Primer trimestre; 2T: Segundo trimestre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; T3T: Triyodotironina total; T4T: Tetrayodotironina total; T4L: Tetrayodotironina libre; TG: Tiroglobulina; aTG: Anticuerpo anti-TG; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TRAb: Anticuerpo anti-receptor de TSH.



*: Valor $p < 0.05$



*: Valor $p < 0.05$

Figura 3: Edades de las pacientes según clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.

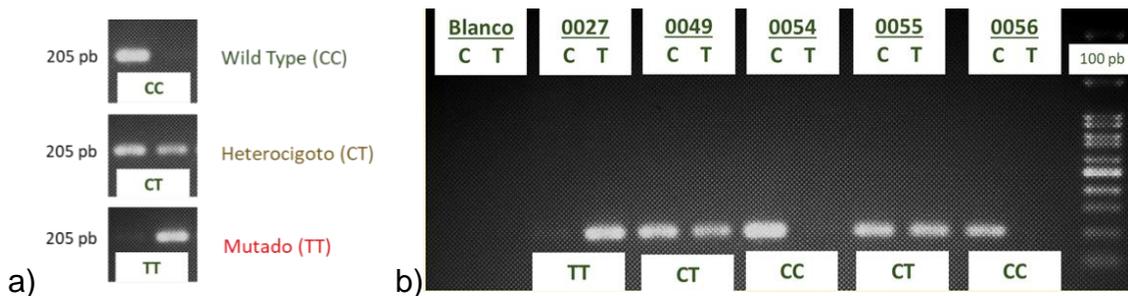
Figura 4: Niveles basales de glicemia en el primer trimestre según clasificación de glicemia alterada durante el embarazo.

8.3 Frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes genéticas en las embarazadas.

Se determinaron los genotipos para cada una de las variantes genéticas evaluadas en las 68 pacientes.

8.3.1 rs7903146 (TCF7L2).

Se muestran los patrones de bandas esperados para la genotipificación (Figura 5a) y algunos resultados de esta, en un grupo de pacientes (Figura 5b).



a) Patrones de banda esperados para cada genotipo. b) Resultados de la genotipificación de un grupo de pacientes en este estudio.

Figura 5: Genotipificación de la variante genética rs7903146 (TCF7L2).

Se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas para la población total, además de las frecuencias diferenciada para las pacientes que cursaron con glicemia normal o alterada durante su embarazo (Tabla 17). La frecuencia del alelo de riesgo “T”, fue de un 26% para el total de la población, y se cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los grupos. Al comparar las frecuencias genotípicas y alélicas para esta variante genética, no se observaron diferencias

significativas entre el grupo de embarazadas que presentaron GN frente al de GA.

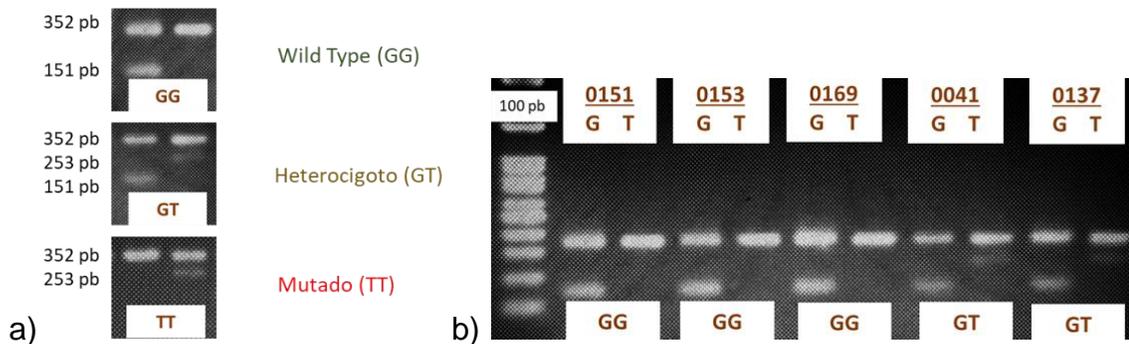
Tabla 17: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs7903146 (TCF7L2); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

	Total	Glicemia Normal	Glicemia Alterada	Valor p ¹
Genotipos	n = 68	n = 44	n = 24	
Wild Type (CC)	38 (56%)	25 (57%)	13 (54%)	0,73
Heterocigoto (CT)	24 (35%)	16 (36%)	8 (33%)	
Mutado (TT)	6 (9%)	3 (7%)	3 (13%)	
Alelos	n = 136	n = 88	n = 48	
Alelo común (C)	100 (74%)	66 (75%)	34 (67%)	0,68
Alelo de riesgo (T)	36 (26%)	22 (25%)	14 (33%)	
Equilibrio Hardy-Weinberg	n = 68	n = 44	n = 24	
Valor p ²	0,74	0,98	0,59	

¹Comparación de proporciones entre población que presentó glicemia normal frente a la de glicemia alterada. ²Evaluación del Equilibrio de Hardy-Weinberg mediante comparación de frecuencias genotípicas observadas y esperadas.

8.3.2 rs12255372 (TCF7L2)

Se muestran los patrones de bandas esperados para la genotipificación (Figura 6a) y algunos resultados de esta en un grupo de pacientes (Figura 6b).



a) Patrones de banda esperados para cada genotipo. b) Resultados de la genotipificación de un grupo de pacientes en este estudio.

Figura 6: Genotipificación de la variante genética rs1225372 (*TCF7L2*).

Se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas para la población total, además de las frecuencias diferenciada para las pacientes que cursaron con glicemia normal o alterada durante su embarazo (Tabla 18). La frecuencia del alelo de riesgo “T”, fue de un 29% para el total de la población, y se cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los grupos. Al comparar las frecuencias genotípicas y alélicas para esta variante genética, no se observaron diferencias significativas entre el grupo de embarazadas que presentaron glicemia normal frente al de glicemia alterada.

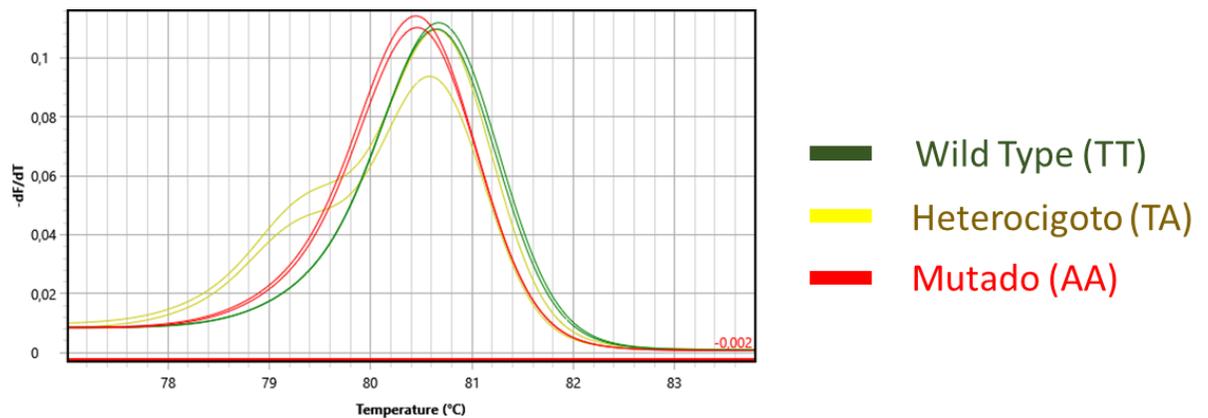
Tabla 18: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs12255372 (*TCF7L2*); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

	Total	Glicemia Normal	Glicemia Alterada	Valor p ¹
Genotipos	n = 68	n = 44	n = 24	
Wild Type (GG)	36 (53%)	24 (54%)	12 (50%)	0,44
Heterocigoto (GT)	25 (37%)	17 (39%)	8 (33%)	
Mutado (TT)	7 (10%)	3 (7%)	4 (17%)	
Alelos	n = 136	n = 88	n = 48	
Alelo común (G)	97 (71%)	65 (74%)	32 (67%)	0,43
Alelo de riesgo (T)	39 (29%)	23 (26%)	16 (33%)	
Equilibrio Hardy-Weinberg	n = 68	n = 44	n = 24	
Valor p ²	0,70	0,99	0,47	

¹Comparación de proporciones entre población que presentó glicemia normal frente a la de glicemia alterada. ²Evaluación del Equilibrio de Hardy-Weinberg mediante comparación de frecuencias genotípicas observadas y esperadas.

8.3.3 rs9939609 (*FTO*)

Se muestran resultados de la genotipificación para algunas pacientes, mediante las curvas de *melting* para cada genotipo de la variante genética (Figura 7).



Curvas de *melting* obtenidas para cada uno de los genotipos evaluados.

Figura 7: Genotipificación de la variante genética rs9939609 (FTO).

Se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas para la población total, además de las frecuencias diferenciada para las pacientes que cursaron con GN o GA durante su embarazo (Tabla 19). La frecuencia del alelo de riesgo “A”, fue de un 26% para el total de la población, y se cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los grupos. Al comparar las frecuencias genotípicas y alélicas para esta variante genética, no se observaron diferencias significativas entre el grupo de embarazadas que presentaron GN frente al de GA.

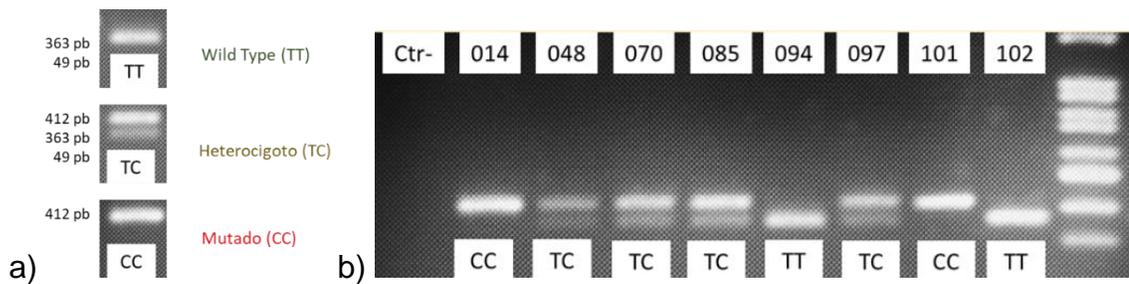
Tabla 19: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs9939609 (*FTO*); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

	Total	Glicemia Normal	Glicemia Alterada	Valor p ¹
Genotipos	n = 68	n = 44	n = 24	
Wild Type (TT)	34 (50%)	25 (57%)	9 (38%)	0,20
Heterocigoto (TA)	33 (48%)	18 (41%)	15 (62%)	
Mutado (AA)	1 (2%)	1 (2%)	0 (0%)	
Alelos	n = 136	n = 88	n = 48	
Alelo común (T)	101 (74%)	68 (77%)	33 (69%)	0,31
Alelo de riesgo (A)	35 (26%)	20 (23%)	15 (31%)	
Equilibrio Hardy-Weinberg	n = 68	n = 44	n = 24	
Valor p ²	0,08	0,55	0,08	

¹Comparación de proporciones entre población que presentó glicemia normal frente a la de glicemia alterada. ²Evaluación del Equilibrio de Hardy-Weinberg mediante comparación de frecuencias genotípicas observadas y esperadas.

8.3.4 rs225014 (*DIO2*)

Se muestran los patrones de bandas esperados para la genotipificación (Figura 8a) y algunos resultados de esta en un grupo de pacientes (Figura 8b).



a) Patrones de banda esperados para cada genotipo. b) Resultados de la genotipificación de un grupo de pacientes en este estudio.

Figura 8: Genotipificación de la variante genética rs225014 (*DIO2*).

Se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas para la población total, además de las frecuencias diferenciada para las pacientes que cursaron con GN o GA durante su embarazo (Tabla 20). La frecuencia del alelo de riesgo “C”, fue de un 47% para el total de la población, y se cumplió el equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los grupos. Al comparar las frecuencias genotípicas y alélicas para esta variante genética, no se observaron diferencias significativas entre el grupo de embarazadas que presentaron GN frente al de GA.

Tabla 20: Frecuencias genotípicas y alélicas para la variante genética rs225014 (DIO2); y evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

	Total	Glicemia Normal	Glicemia Alterada	Valor p ¹
Genotipos	n = 68	n = 44	n = 24	
Wild Type (TT)	16 (23%)	10 (23%)	6 (25%)	0,14
Heterocigoto (TC)	40 (59%)	29 (66%)	11 (46%)	
Mutado (CC)	12 (18%)	5 (11%)	7 (29%)	
Alelos	n = 136	n = 88	n = 48	
Alelo común (T)	72 (53%)	49 (56%)	23 (48%)	0,47
Alelo de riesgo (C)	64 (47%)	39 (44%)	25 (52%)	
Equilibrio Hardy-Weinberg	n = 68	n = 44	n = 24	
Valor p ²	0,33	0,08	0,92	

¹Comparación de proporciones entre población que presentó glicemia normal frente a la de glicemia alterada. ²Evaluación del Equilibrio de Hardy-Weinberg mediante comparación de frecuencias genotípicas observadas y esperadas.

8.4 Comparación de variables entre embarazadas según sus genotipos.

Se compararon las variables en el embarazo, agrupando a las pacientes según su genotipo para cada variante genética en estudio.

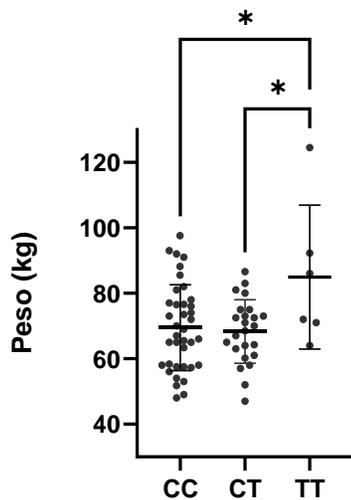
8.4.1 rs7903146 (*TCF7L2*).

Al comparar los parámetros entre los genotipos de esta variante se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en el peso, IMC y TSH del primer trimestre; y en la glicemia basal del segundo trimestre de embarazo (Tabla 21). Se puede notar que existen diferencias significativas en el peso de las pacientes, durante el primer trimestre de embarazo (Figura 9), siendo el grupo con genotipo de riesgo “TT” el que presenta un mayor peso, en comparación a los otros genotipos. En concordancia con lo anterior, se determinó que el IMC del primer trimestre de embarazo en el genotipo de riesgo “TT” también era significativamente mayor al compararlo con los otros dos genotipos (Figura 10). En cuanto a los parámetros glicémicos, se observan diferencias en cuanto a los niveles de glicemia basal en el segundo trimestre entre los genotipos, siendo nuevamente las portadoras del genotipo de riesgo “TT” quienes cursan con mayores niveles glicémicos en dicho trimestre (Figura 11). Además, en el perfil tiroideo del primer trimestre de embarazo, se determinó que los niveles de TSH eran menores en los grupos que presentaban el alelo de riesgo “T” (genotipos CT y TT), en comparación con el genotipo común “CC” (Figura 12). En el resto de los parámetros, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Algunos de los análisis estadísticos no pudieron ser realizados debido al bajo número de pacientes que presentaban la condición evaluada

Tabla 21: Comparación de variables, según genotipo para la variante rs7903146 (TCF7L2).

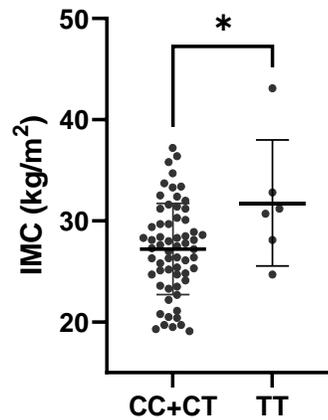
VARIABLES	Genotipo rs7903146 (TCF7L2)			Valor p					
	WT (CC)	HET (CT)	MUT (TT)	CC vs CT vs TT	CC vs CT	CC vs TT	CT vs TT	CC vs CT+TT	CC+CT vs TT
VARIABLES	n = 38	n = 24	n = 6						
Variabes clínicas									
Edad (años)	30 ± 6	29 ± 5	29 ± 4	0,66	0,76	0,75	0,95	0,38	0,55
Estatura (m)	1,60 ± 0,06	1,59 ± 0,05	1,63 ± 0,07	0,37	0,96	0,41	0,35	0,82	0,17
Peso (kg)	70 ± 13	68 ± 10	85 ± 22	0,02	0,93	0,02	0,02	0,52	0,01
IMC (kg/m ²)	27 ± 5	27 ± 4	32 ± 6	0,08	0,96	0,09	0,08	0,59	0,03
Estado nutricional									
- Normopeso	12 (32%)	6 (25%)	1 (17%)						
- Sobrepeso	14 (36%)	14 (58%)	1 (17%)	-	0,22	-	-	0,54	-
- Obesidad	12 (32%)	4 (17%)	4 (66%)						
Perfil glicémico									
Glicemia basal 1T (mg/dL)	80 ± 7	79 ± 7	84 ± 7	0,21	0,65	0,40	0,19	0,77	0,13
Glicemia basal 2T (mg/dL)	78 (73 - 84)	80 (71 - 85)	90 (84 - 92)	0,04	>0,99	0,06	0,05	0,57	0,01
Glicemia postcarga 2T (mg/dL)	100 (90 - 127)	106 (96 - 132)	126 (103 - 145)	0,19	>0,99	0,25	0,73	0,17	0,12
Perfil tiroideo									
TSH (mUI/L)	2,1 ± 1,3	1,4 ± 0,7	1,7 ± 1,4	0,14	0,03	0,89	0,95	0,03	0,80
T3T (ng/mL)	1,6 (1,6 - 1,8)	1,7 (1,5 - 1,9)	1,7 (1,5 - 2,0)	0,86	>0,99	>0,99	>0,99	0,59	0,85
T4T (ug/dL)	11,5 (10,8 - 13,0)	12,4 (10,6 - 14,4)	11,4 (9,7 - 12,1)	0,28	0,76	>0,99	0,45	0,50	0,28
T4L (ng/dL)	1,0 (0,9 - 1,1)	1,0 (0,9 - 1,1)	1,0 (0,8 - 1,1)	0,52	0,81	>0,99	>0,99	0,35	0,79
TG (ng/mL)	12,9 (4,7 - 22,7)	16,7 (8,2 - 28,6)	10,8 (5,5 - 25,4)	0,56	0,92	>0,99	>0,99	0,41	0,69
TG elevado	2 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	-	0,52	>0,99	>0,99	0,50	>0,99
aTG (UI/mL)	9,8 (4,2 - 13,9)	10,8 (7,0 - 15,6)	10,8 (2,6 - 50,0)	0,68	>0,99	>0,99	>0,99	0,39	0,88
aTG elevado	3 (8%)	2 (8%)	0 (0%)	-	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99
aTPO (UI/mL)	1,3 (0,7 - 3,6)	1,4 (0,8 - 1,9)	1,8 (0,4 - 1,9)	0,98	>0,99	>0,99	>0,99	0,83	0,89
aTPO elevado	5 (13%)	3 (12%)	0 (0%)	-	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99
TRAb (UI/L)	0,25 (0,25 - 0,35)	0,25 (0,25 - 0,365)	0,26 (0,25 - 0,56)	0,72	>0,99	>0,99	>0,99	0,96	0,50

Valores p y variables en negrita corresponden a valores que presentan diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05). IMC: Índice de masa corporal; 1T: Primer trimestre; 2T: Segundo trimestre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; T3T: Triyodotironina total; T4T: Tetrayodotironina total; T4L: Tetrayodotironina libre; TG: Tiroglobulina; aTG: Anticuerpo anti-TG; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TRAb: Anticuerpo anti-receptor de TSH.



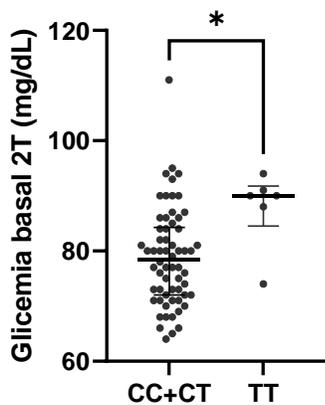
*: Valor $p < 0.05$

Figura 9: Comparación del peso en el primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (*TCF7L2*).



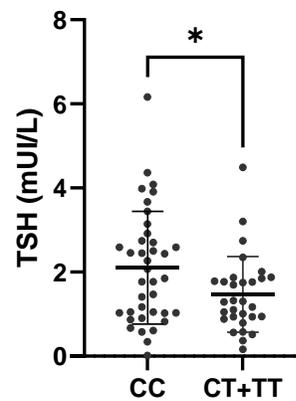
*: Valor $p < 0.05$

Figura 10: Comparación del IMC en el primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (*TCF7L2*).



*: Valor $p < 0.05$

Figura 11: Comparación de los niveles de glicemia basal en el segundo trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (*TCF7L2*).



*: Valor $p < 0.05$

Figura 12: Comparación de los niveles de TSH del primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs7903146 (*TCF7L2*).

8.4.2 rs12255372 (*TCF7L2*)

El análisis de comparación de variables para los genotipos de esta variante no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos evaluados (Tabla 22). Algunos de los análisis estadísticos no pudieron ser realizados debido al bajo número de pacientes que presentaban la condición evaluada.

8.4.3 rs9939609 (*FTO*)

El análisis de comparación de variables para los genotipos de esta variante no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos evaluados (Tabla 23). Algunos de los análisis estadísticos no pudieron ser realizados debido al bajo número de pacientes que presentaban la condición evaluada.

Tabla 22: Comparación de variables, según genotipo para la variante rs12255372 (TCF7L2).

VARIABLES	Genotipo rs12255372 (TCF7L2)			Valor p					
	WT (GG)	HET (GT)	MUT (TT)	GG vs GT vs TT	GG vs GT	GG vs TT	GT vs TT	GG vs GT+TT	GG+GT vs TT
VARIABLES	n = 36	n = 25	n = 7						
VARIABLES	n = 36	n = 25	n = 7						
Variabes clínicas									
Edad (años)	30 ± 6	30 ± 5	30 ± 5	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	0,94	0,96
Estatura (m)	1,59 ± 0,06	1,60 ± 0,05	1,61 ± 0,05	0,79	0,97	0,77	0,87	0,65	0,52
Peso (kg)	67 (58 - 77)	72 (61 - 78)	71 (66 - 86)	0,59	>0,99	0,92	>0,99	0,50	0,35
IMC (kg/m ²)	27 ± 5	28 ± 4	30 ± 6	0,29	0,97	0,26	0,35	0,44	0,12
Estado nutricional									
- Normopeso	10 (28%)	7 (28%)	2 (28%)						
- Sobrepeso	16 (44%)	11 (44%)	2 (28%)	-	>0,99	-	-	0,94	-
- Obesidad	10 (28%)	7 (28%)	3 (44%)						
Perfil glicémico									
Glicemia basal 1T (mg/dL)	80 ± 7	80 ± 7	83 ± 7	0,55	0,99	0,53	0,60	0,61	0,28
Glicemia basal 2T (mg/dL)	78 (72 - 86)	80 (72 - 83)	90 (74 - 91)	0,15	>0,99	0,20	0,18	0,61	0,05
Glicemia postcarga 2T (mg/dL)	100 (88 - 130)	105 (94 - 124)	134 (101 - 143)	0,15	>0,99	0,17	0,58	0,15	0,08
Perfil tiroideo									
TSH (mUI/L)	1,8 (1,0 - 2,7)	1,7 (0,9 - 1,9)	1,3 (0,8 - 2,4)	0,60	0,93	>0,99	>0,99	0,33	0,94
T3T (ng/mL)	1,6 (1,6 - 1,8)	1,7 (1,6 - 1,8)	1,5 (1,5 - 1,9)	0,75	>0,99	>0,99	>0,99	0,90	0,47
T4T (ug/dL)	11,3 (10,6 - 12,9)	12,4 (11,0 - 14,2)	11,8 (10,1 - 12,9)	0,22	0,28	>0,99	0,88	0,16	0,65
T4L (ng/dL)	1,0 (0,9 - 1,1)	1,0 (0,9 - 1,1)	1,0 (0,9 - 1,1)	0,89	>0,99	>0,99	>0,99	0,64	0,93
TG (ng/mL)	12,6 (4,5 - 27,0)	16,8 (9,1 - 30,2)	11,0 (6,3 - 18,1)	0,26	0,50	>0,99	0,56	0,33	0,39
TG elevado	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)	-	0,51	>0,99	>0,99	0,49	>0,99
aTG (UI/mL)	9,8 (4,9 - 14,6)	10,6 (6,1 - 14,0)	12,8 (3,7 - 49,3)	0,62	>0,99	0,99	>0,99	0,56	0,36
aTG elevado	3 (8%)	2 (8%)	0 (0%)	-	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99
aTPO (UI/mL)	1,3 (0,8 - 3,2)	1,4 (0,7 - 1,8)	1,8 (0,4 - 1,9)	0,87	>0,99	>0,99	>0,99	0,61	0,95
aTPO elevado	5 (14%)	2 (8%)	1 (14%)	-	0,69	>0,99	0,54	0,71	>0,99
TRAb (UI/L)	0,25 (0,25 - 0,37)	0,25 (0,25 - 0,34)	0,25 (0,25 - 0,34)	0,91	>0,99	>0,99	>0,99	0,88	0,67

Valores p y variables en negrita corresponden a valores que presentan diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05). IMC: Índice de masa corporal; 1T: Primer trimestre; 2T: Segundo trimestre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; T3T: Triyodotironina total; T4T: Tetrayodotironina total; T4L: Tetrayodotironina libre; TG: Tiroglobulina; aTG: Anticuerpo anti-TG; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TRAb: Anticuerpo anti-receptor de TSH.

Tabla 23: Comparación de variables según genotipo para la variante rs9939609 (FTO).

VARIABLES	Genotipo 9939609 (FTO)			Valor p					
	WT (TT)	HET (TA)	MUT (AA)	TT vs TA vs AA	TT vs TA	TT vs AA	TA vs AA	TT vs TA+AA	TT+TA vs AA
VARIABLES	n = 34	n = 33	n = 1						
Variables clínicas									
Edad (años)	29 ± 5	31 ± 6	32	0,36	0,52	>0,99	>0,99	0,16	-
Estatura (m)	1,60 ± 0,05	1,60 ± 0,06	1,65	0,47	>0,99	0,68	0,78	0,94	-
Peso (kg)	69 (62 - 75)	70 (58 - 82)	98	0,19	>0,99	0,25	0,36	0,34	-
IMC (kg/m ²)	27 ± 4	28 ± 5	36	0,19	>0,99	0,29	0,46	0,14	-
Estado nutricional									
- Normopeso	10 (29%)	9 (28%)	0 (0%)						
- Sobrepeso	17 (50%)	12 (36%)	0 (0%)	-	0,33	-	-	0,26	-
- Obesidad	7 (21%)	12 (36%)	1 (100%)						
Perfil glicémico									
Glicemia basal 1T (mg/dL)	79 ± 7	81 ± 7	75	0,19	0,28	>0,99	>0,99	0,13	-
Glicemia basal 2T (mg/dL)	77 (72 - 85)	81 (75 - 88)	71	0,17	0,41	>0,99	0,58	0,18	-
Glicemia postcarga 2T (mg/dL)	105 ± 23	117 ± 31	94	0,46	0,95	>0,99	>0,99	0,11	-
Perfil tiroideo									
TSH (mUI/L)	1,7 (0,9 - 2,1)	1,5 (1,0 - 2,9)	4,1	0,18	0,93	0,29	0,47	0,07	-
T3T (ng/mL)	1,7 (1,6 - 1,9)	1,6 (1,5 - 1,8)	1,7	0,37	0,48	>0,99	>0,99	0,17	-
T4T (ug/dL)	12,2 (11,2 - 13,4)	11,3 (10,4 - 13,2)	14,1	0,24	0,66	0,96	0,59	0,29	-
T4L (ng/dL)	1,0 (0,9 - 1,1)	1,0 (0,9 - 1,1)	0,9	0,49	>0,99	0,86	>0,99	0,44	-
TG (ng/mL)	15,4 ± 11,6	18,8 ± 15,5	15,3	0,82	>0,99	>0,99	>0,99	0,32	-
TG elevado	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)	-	0,49	>0,99	>0,99	0,49	-
aTG (UI/mL)	10,2 (5,0 - 15,2)	10,0 (6,1 - 13,9)	11,0	0,94	>0,99	>0,99	>0,99	0,97	-
aTG elevado	3 (9%)	2 (6%)	0 (0%)	-	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	-
aTPO (UI/mL)	1,5 (0,4 - 2,3)	1,1 (0,8 - 2,1)	0,4	0,37	>0,99	0,48	0,53	0,69	-
aTPO elevado	4 (12%)	4 (12%)	0 (0%)	-	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	-
TRAb (UI/L)	0,25 (0,25 - 0,35)	0,25 (0,25 - 0,40)	0,25	0,76	>0,99	>0,99	>0,99	0,88	-

Valores p y variables en negrita corresponden a valores que presentan diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05). IMC: Índice de masa corporal; 1T: Primer trimestre; 2T: Segundo trimestre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; T3T: Triyodotironina total; T4T: Tetrayodotironina total; T4L: Tetrayodotironina libre; TG: Tiroglobulina; aTG: Anticuerpo anti-TG; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TRAb: Anticuerpo anti-receptor de TSH.

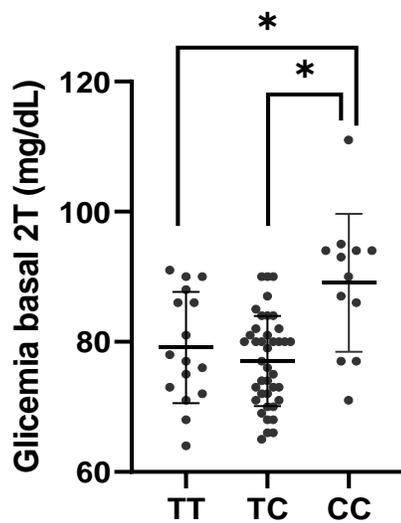
8.4.4 rs225014 (*DIO2*)

El análisis de comparación de variables para los genotipos de esta variante mostró diferencias estadísticamente significativas en los niveles de T3 total del primer trimestre de embarazo y en la glicemia basal del segundo trimestre de embarazo (Tabla 24). En cuanto a los parámetros glicémicos, se puede evidenciar que existen diferencias significativas en los niveles glicémicos del segundo trimestre de embarazo, entre los grupos de los tres genotipos (Figura 13), siendo el grupo de embarazadas con genotipo de riesgo “CC” el que cursa con mayores niveles glicémicos, en comparación a los otros dos genotipos en dicho trimestre. Además, en el perfil tiroideo del primer trimestre de embarazo, se determinó que los niveles de T3 total eran menores en el grupo que presentaba el genotipo de riesgo “CC”, en comparación con el genotipo heterocigoto “TC” (Figura 14), pese a que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la comparación con el genotipo común “TT”. En el resto de los parámetros, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Algunos de los análisis estadísticos no pudieron ser realizados debido al bajo número de pacientes que presentaban la condición evaluada.

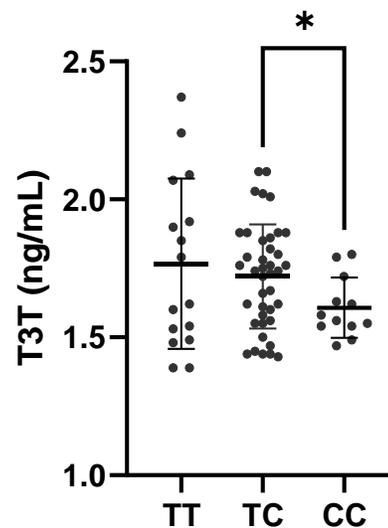
Tabla 24: Comparación de variables según genotipo para la variante rs225014 (DIO2).

VARIABLES	Genotipo rs225014 (DIO2)			Valor p					
	WT (TT)	HET (TC)	MUT (CC)	TT vs TC vs CC	TT vs TC	TT vs CC	TC vs CC	TT vs TC+CC	TT+TC vs CC
Variables clínicas	n = 16	n = 40	n = 12						
Edad (años)	29,9 ± 6,7	29,3 ± 4,9	31,9 ± 5,9	0,36	0,92	0,62	0,33	0,98	0,17
Estatura (m)	1,61 ± 0,06	1,60 ± 0,06	1,57 ± 0,05	0,23	0,59	0,20	0,50	0,19	0,16
Peso (kg)	75,9 ± 18,7	69,2 ± 11,4	67,3 ± 11,2	0,23	0,47	0,36	0,94	0,16	0,38
IMC (kg/m ²)	29,1 ± 6,5	27,2 ± 4,1	27,2 ± 4,4	0,37	0,36	0,54	>0,99	0,27	0,72
<i>Estado nutricional</i>									
- Normopeso	4 (25%)	12 (30%)	3 (25%)						
- Sobrepeso	5 (31%)	18 (45%)	6 (50%)	-	-	-	-	-	-
- Obesidad	7 (44%)	10 (25%)	3 (25%)						
Perfil glicémico									
Glicemia basal 1T (mg/dL)	80,8 ± 8,5	79,1 ± 6,6	82,0 ± 6,0	0,41	0,70	0,89	0,43	0,62	0,28
Glicemia basal 2T (mg/dL)	79,1 ± 8,5	77,0 ± 6,9	89,1 ± 10,6	<0,01	0,66	0,01	<0,01	0,79	<0,01
Glicemia postcarga 2T (mg/dL)	100,5 (86,0 - 129,5)	105,0 (91,2 - 125,3)	123,0 (96,0 - 167,5)	0,19	>0,99	0,26	0,33	0,38	0,08
Perfil tiroideo									
TSH (mUI/L)	2,20 ± 1,59	1,67 ± 0,94	1,83 ± 1,38	0,46	0,54	0,89	0,97	0,27	0,98
T3T (ng/mL)	1,77 ± 0,31	1,72 ± 0,19	1,61 ± 0,11	0,17	0,92	0,19	0,04	0,38	0,07
T4T (ug/dL)	12,0 (11,2 - 13,2)	12,1 (10,9 - 13,9)	11,0 (9,6 - 11,7)	0,24	>0,99	0,48	0,30	0,69	0,09
T4L (ng/dL)	1,01 (0,92 - 1,11)	1,00 (0,90 - 1,15)	0,94 (0,87 - 1,02)	0,34	>0,99	0,62	0,50	0,65	0,15
TG (ng/mL)	17,6 ± 14,9	16,7 ± 13,0	17,7 ± 15,2	0,97	0,98	>0,99	0,98	0,88	0,87
TG elevado	0 (0%)	2 (5%)	0 (0%)	-	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99	>0,99
aTG (UI/mL)	11,1 (3,8 - 15,8)	9,6 (5,5 - 13,3)	11,7 (7,0 - 17,0)	0,62	>0,99	>0,99	>0,99	0,67	0,71
aTG elevado	2 (12%)	2 (5%)	1 (8%)	-	0,57	0,56	>0,99	0,58	>0,99
aTPO (UI/mL)	1,58 (0,86 - 2,04)	1,18 (0,38 - 1,76)	1,81 (0,96 - 3,44)	0,18	>0,99	>0,99	0,22	0,64	0,11
aTPO elevado	2 (16%)	4 (10%)	2 (17%)	-	>0,99	>0,99	0,61	>0,99	0,62
TRAb (UI/L)	0,25 (0,25 - 0,33)	0,25 (0,25 - 0,25)	0,34 (0,25 - 0,44)	0,09	0,71	>0,99	0,11	0,51	0,07

Valores p y variables en negrita corresponden a valores que presentan diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05). IMC: Índice de masa corporal; 1T: Primer trimestre; 2T: Segundo trimestre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; T3T: Triyodotironina total; T4T: Tetrayodotironina total; T4L: Tetrayodotironina libre; TG: Tiroglobulina; aTG: Anticuerpo anti-TG; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TRAb: Anticuerpo anti-receptor de TSH.



*: Valor $p < 0.05$



*: Valor $p < 0.05$

Figura 13: Comparación de los niveles de glicemia basal en el segundo trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs225014 (*DIO2*).

Figura 14: Comparación de los niveles de T3 total del primer trimestre en embarazadas, según su genotipo para la variante genética rs225014 (*DIO2*).

8.5 Relación entre glicemia postcarga durante el embarazo y score genético.

Se realizaron diversos análisis de regresión lineal por medio del score genético como predictor de los niveles de glicemia 2 horas poscarga en el

embarazo. El score genético fue calculado según se detalla en la Metodología. El primer modelo genético evaluado, incluyó todos los genotipos estudiados, para los siguientes modelos se fueron excluyendo variantes genéticas, y así sucesivamente, hasta llegar a modelos que solo contemplaban el uso de una variante genética como predictora de los niveles glicémicos evaluados (Tabla 25).

Mediante este análisis se evidenció que existen diversos modelos genéticos que podrían ser potenciales predictores de los niveles de glicemia 2h poscarga (valor $p < 0,05$). El modelo genético que incluye todas las variantes genéticas estudiadas se muestra como un potencial predictor de este parámetro ($R = 0.30$) (Figura 15), y se indica que el mejor modelo entre los evaluados es el que incluye las variantes rs12255372 (*TCF7L2*), rs9939609 (*FTO*) y rs225014 (*DIO2*) ($R = 0.35$) (Figura 16). Interesantemente, se evidenció que el genotipo de la variante rs225014 (*DIO2*) por sí solo podría ser un predictor de los niveles glicémicos 2h postcarga ($R = 0.26$), independiente de los genotipos de las demás variantes genéticas.

Tabla 25: Modelos de regresión lineal para la evaluación de los niveles glicémicos poscarga mediante el score genético.

Modelo de regresión lineal	R	Valor p
T1 + T2 + F + D	0,30	0,01
T1 + T2 + F	0,63	0,10
T1 + T2 + D	0,24	0,04
T1 + F + D	0,33	<0,01
T2 + F + D	0,35	<0,01
T1 + T2	0,14	0,28
T1 + F	0,20	0,08
T1 + D	0,28	0,02
T2 + F	0,22	0,07
T2 + D	0,30	0,01
F + D	0,28	0,02
T1	0,10	0,34
T2	0,14	0,28
F	0,17	0,17
D	0,26	0,03

T1: Genotipo rs7903146 (*TCFTL2*); T2: Genotipo rs12255372 (*TCF7L2*); F: Genotipo rs9939609 (*FTO*); D: Genotipo rs225014 (*DIO2*).

8.6 Análisis multivariado por *Machine Learning*.

8.6.1 Análisis de componentes principales (PCA).

Se realizó un análisis de reconocimiento de patrones no supervisado por PCA, en el cual se evaluaron en conjunto todas las variables en estudio. Se

encontraron cuatro *outliers* mediante algoritmos específicos de detección, los cuales fueron eliminados para los siguientes estudios, considerando un total de 64 embarazadas para los análisis mostrados a continuación.

Los resultados del PCA se muestran en la figura 17, en donde se puede observar una leve tendencia a la separación entre las pacientes que cursan con GA, frente a las que cursan con GN durante su embarazo. Esta leve separación está dada por los componentes principales 4 (PC4) y 5 (PC5), los cuales explican el 10.2% y el 8.5% de la varianza los datos, respectivamente.

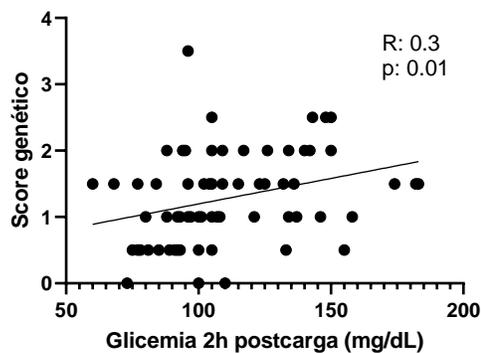


Figura 15: Modelo de regresión lineal simple para niveles de glicemia 2h postcarga mediante score genético que incluye todas las variantes genéticas evaluadas.

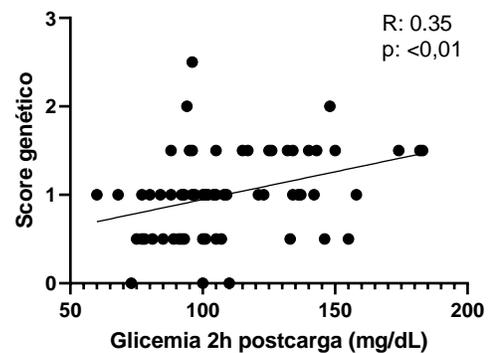
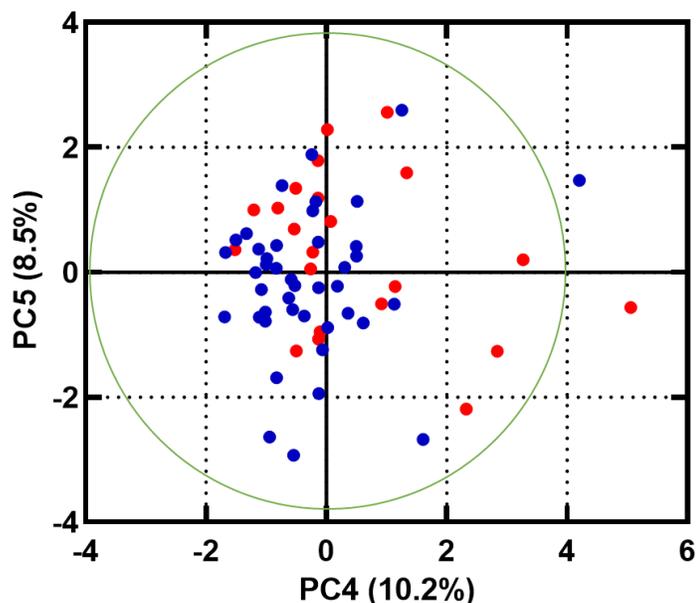


Figura 16: Modelo de regresión lineal simple para niveles de glicemia 2h postcarga mediante score genético que incluye variantes genéticas rs12255372, rs9939609 y rs225014.

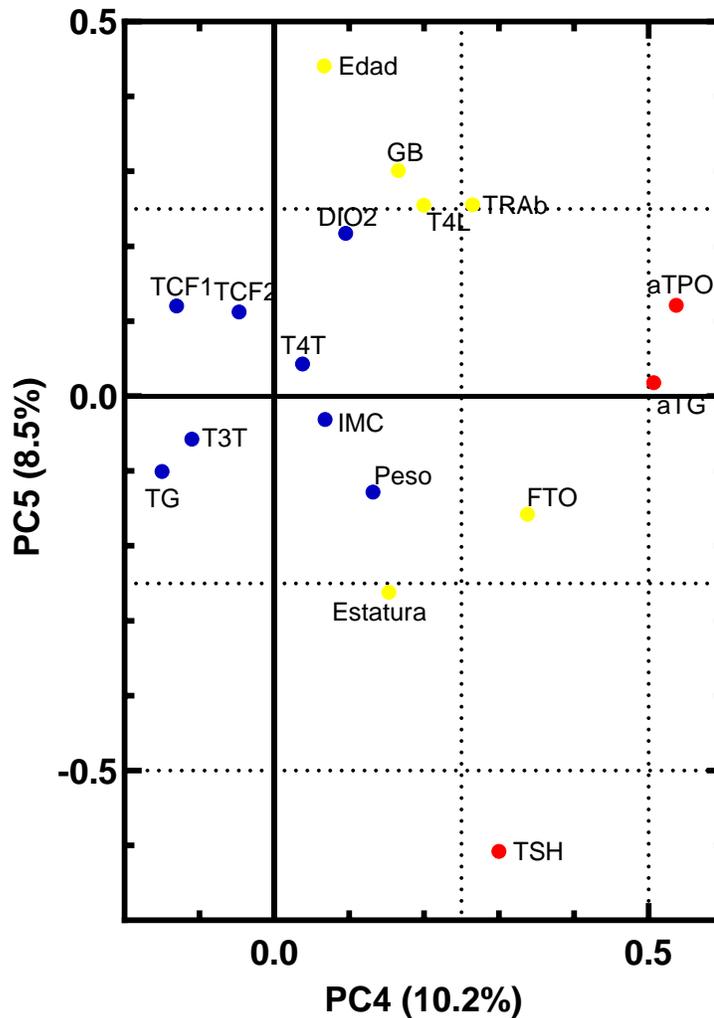


Cada punto corresponde a una paciente, en donde las embarazadas con GA (rojo) y GN (azul), se distribuyen en el nuevo espacio bidimensional generado por los PC4 y PC5.

Figura 17: Score plot generado por PCA.

En la figura 18 se puede observar la contribución de cada una de las variables a la distribución entre los grupos de datos presentados en el PCA, entre los cuales podemos ver que los niveles séricos en el primer trimestre de embarazo de aTG, aTPO y el genotipo para el polimorfismo presente en el gen *FTO* son de las variables que presentan un mayor peso dentro del PC4 (evidenciado por una mayor distancia respecto al valor cero en el eje), mientras que los niveles de TSH

en el primer trimestre, la edad de las embarazadas y la glicemia basal al comienzo del embarazo fueron de las variables con mayor peso en el PC5.



Cada punto muestra la contribución de la variable al PC4 y PC5. Los puntos rojos representan las variables por sobre el valor arbitrario de 0.5, los puntos en amarillo representan las variables por sobre el valor arbitrario de 0.25 y los azules representan las variables bajo el valor arbitrario de 0.25.

Figura 18: Loadings plot generado por PCA.

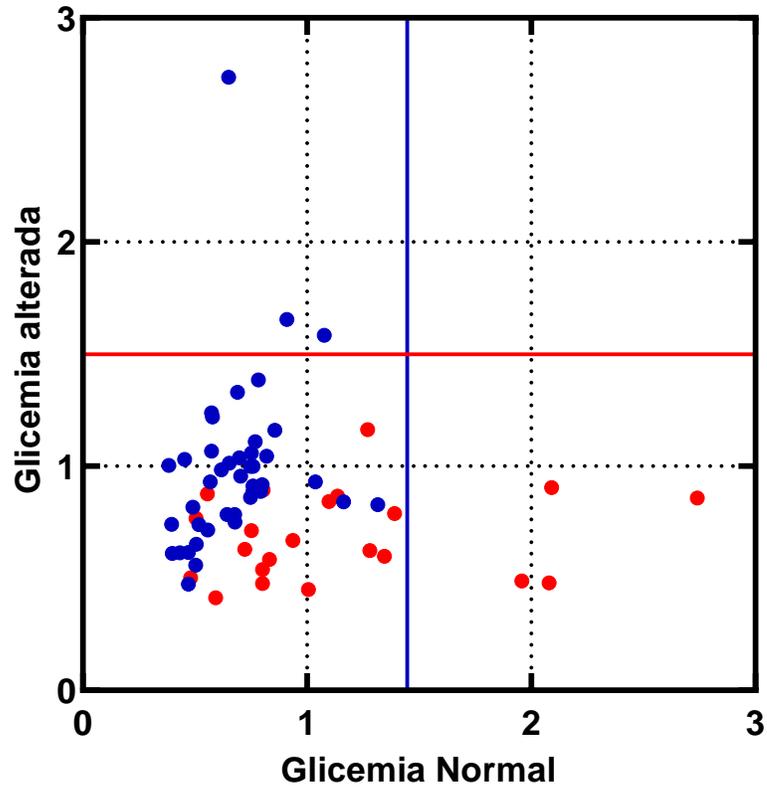
8.6.2 Generación de un modelo predictivo de Glicemia alterada en el embarazo a través de Soft independent modelling by class analogy (SIMCA).

Los resultados del análisis multivariado de clasificación (SIMCA), se observan en la Figura 19 en donde se presenta el grafico de Distancia de Clases (*Cooman's plot*), en el cual se observa que la mayoría de las muestras se encuentran en una zona de superposición de clases (cuadrante inferior izquierdo), lo que indicaría que la separación entre clases no es total. Pese a lo anterior, el desempeño del modelo predictivo permitió la clasificación de las pacientes mostrando niveles aceptables de sensibilidad (0.8182) y especificidad (0.9828), con un AUC de 0.8734 como se muestra en la tabla 26.

Tabla 26: Desempeño del modelo de clasificación por SIMCA.

Parámetro	Valor
Sensibilidad (IC 95%)	0,8182 (0,6148 - 0,9269)
Especificidad (IC 95%)	0,9286 (0,8099 - 0,9754)
AUC (IC 95%)	0.8734 (0,7680 - 0,9788)
Error estándar (AUC)	0,05376
Valor p	< 0.0001

IC 95%: Intervalo de confianza del 95%; AUC: Área bajo la curva.



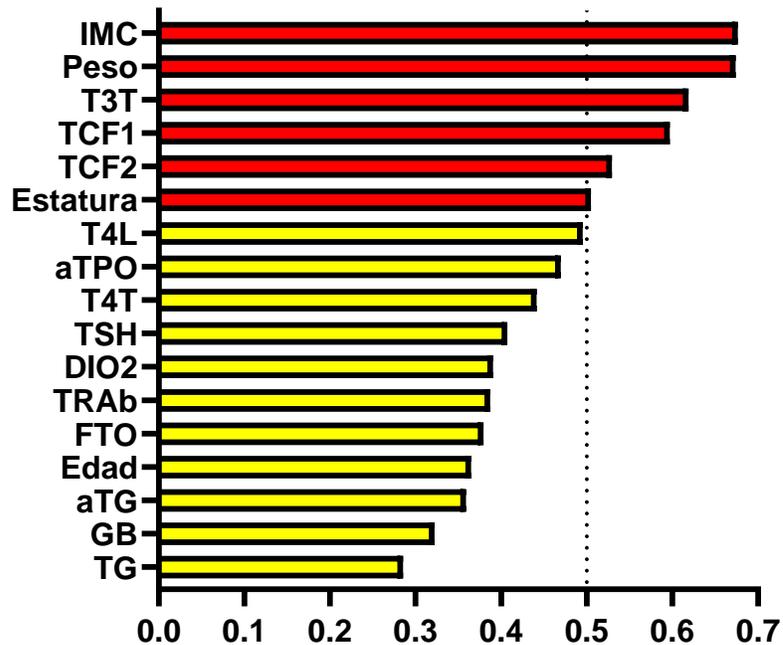
Cada punto corresponde a una paciente. Se muestran pacientes con glicemia normal (puntos azules) y con glicemia alterada (puntos rojos) durante el embarazo.

Figura 19: Grafico de Distancia de clases.

Dentro de este modelo, las variables de modelamiento que presentaron mayor poder en la definición de los grupos fueron el IMC, peso, T3T, genotipos rs7903146, rs12255372 y estatura del primer trimestre de embarazo (figura 20).

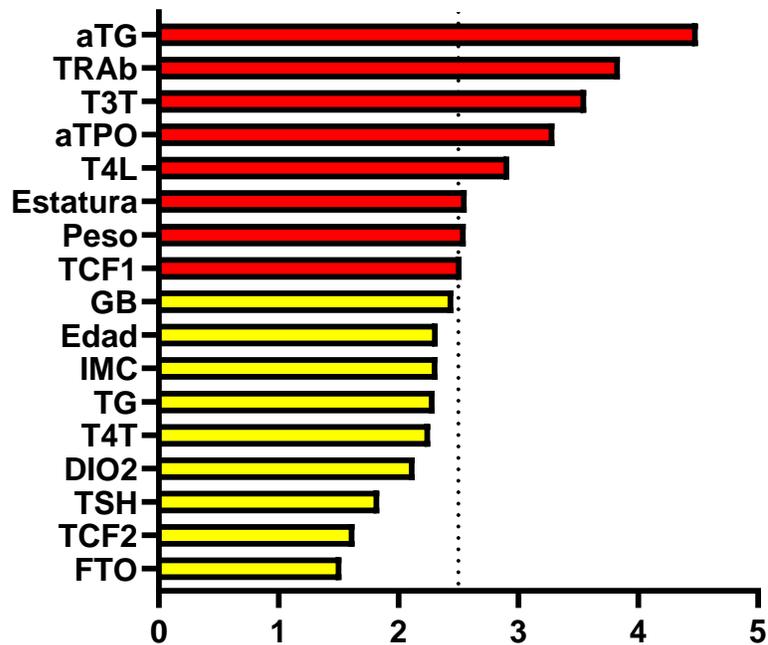
Por otra parte, dentro de las variables que permiten una mayor discriminación

entre los grupos, se encontraron los niveles de aTG, TRAb y T3T, aTPO, T4L, estatura, peso del primer trimestre y genotipo rs7903146 (figura 21).



Barras rojas indican variables por sobre valor arbitrario de 0.5, barras amarillas indican variables bajo el valor arbitrario de 0.5. IMC: Índice de masa corporal; T3T: Triyodotironina total, TCF1: rs7903146; TCF2: rs12255372; T4L: Tetrayodotironina libre, aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; T4T: Tetrayodotironina total; TSH: Hormona estimulante de tiroides; DIO2: rs225014; TRAb: Anticuerpo anti-receptor TSH. FTO: rs9939609; aTG: Anticuerpo anti-tiroglobulina; GB: Glicemia basal de primer trimestre; TG: Tiroglobulina.

Figura 20: Poder total de modelamiento de cada variable en estudio para el modelo predictivo de clasificación por SIMCA.



Barras rojas indican variables por sobre valor arbitrario de 2.5, barras amarillas indican variables bajo el valor arbitrario de 2.5. aTG: Anticuerpo anti-tiroglobulina; TRAb: Anticuerpo anti-receptor TSH; T3T: Triyodotironina total; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; T4L: Tetrayodotironina libre; TCF1: rs7903146; GB: Glicemia basal de primer trimestre; IMC: Índice de masa corporal; TG: Tiroglobulina; T4T: Tetrayodotironina total; DIO2: rs225014; TSH: Hormona estimulante de tiroides; TCF2: rs12255372; FTO: rs9939609.

Figura 21: Poder discriminante de cada variable en estudio para el modelo predictivo de clasificación por SIMCA.

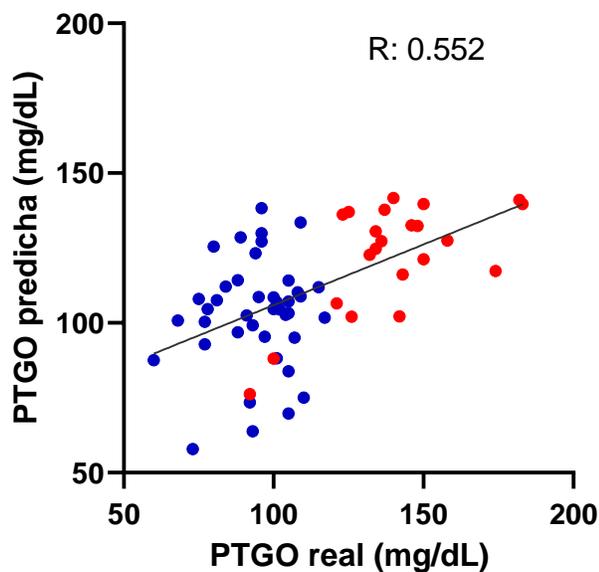
8.6.3 Generación de un modelo multivariado predictivo del valor de glicemia a las 2 horas postcarga (PLS).

De manera independiente a la clasificación de glicemia alterada durante el embarazo, se calibró un modelo multivariado para la predicción de niveles de glicemia a las 2 horas postcarga en el grupo de embarazadas. Los niveles glicémicos predichos fueron graficados junto con los medidos en el grupo de estudio (figura 22), presentando un error de regresión de validación del 23% y un valor R de 0.552 (tabla 27).

Tabla 27: Parámetros de la calibración y validación del método predictivo de glicemia 2 horas postcarga por PLS.

V.L.	RCMEC (%)	rCal	RCMEVC (%)	rValC
2	18,8142	0,7365	23,1748	0,5519

V.L: Número de variables latentes; RCMEC: Raíz del error cuadrático medio de calibración. rCal: Valor R de calibración; RCMEVC: Raíz del error cuadrático medio de validación; rValC: Valor R de validación.



Se muestran pacientes con glicemia normal (puntos azules) y con glicemia alterada (puntos rojos) durante el embarazo.

Figura 22: Desempeño del modelo predictor de glicemia a las 2 horas postcarga por PLS.

El desempeño de este modelo de regresión se muestra en la tabla 28, para el cual se logró determinar el AUC (0.789). Además, se evidenció que los mayores valores para sensibilidad y especificidad (0.7727 y 0.8333, respectivamente) se presentaron con un valor de corte de glicemia a las 2 horas poscarga de 115,2 mg/dL (figura 23).

Tabla 28: Desempeño del modelo de regresión por PLS.

Parámetro	Valor
Sensibilidad (IC95%) *	0,7727 (0,5656 - 0,8988)
Especificidad (IC95%) *	0,8333 (0,6940 - 0,9168)
AUC (IC95%)	0,7890 (0,6613 - 0,9166)
Error estándar (AUC)	0,06514
Valor p	0,0002

IC95%: Intervalo de confianza del 95%; AUC: *Area under curve* (Área bajo la curva). * Valores de sensibilidad y especificidad calculados para un valor de corte > 115.2 mg/dL de glicemia a las 2 horas postcarga durante el embarazo.

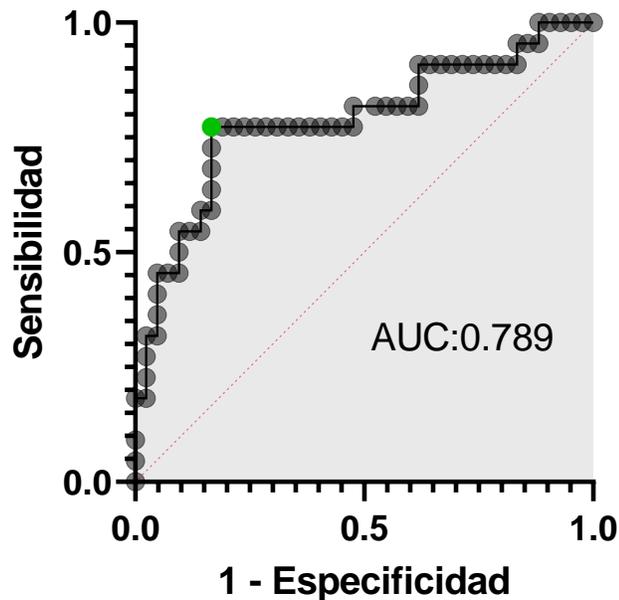
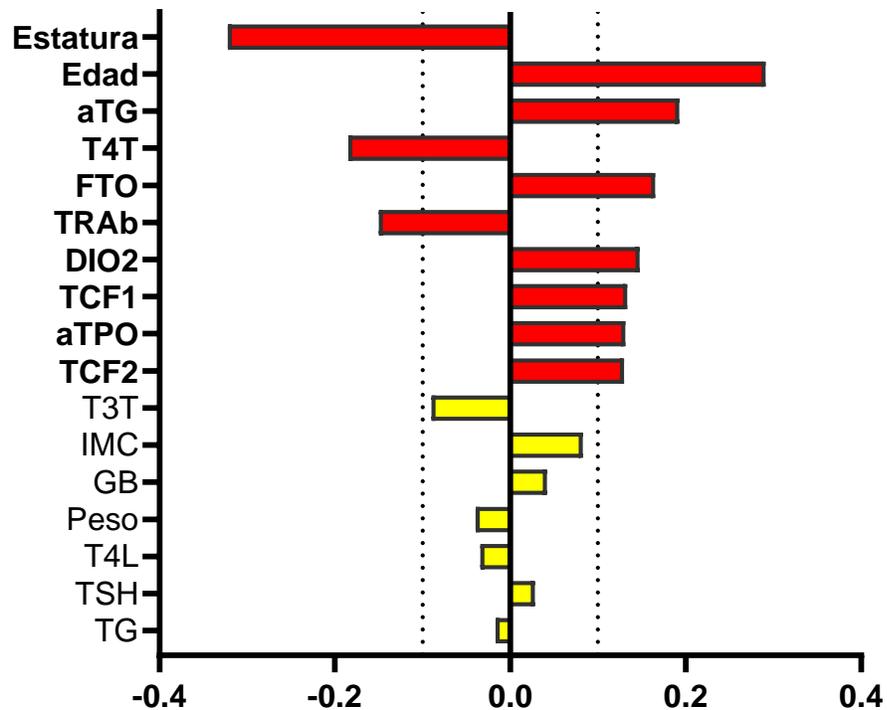


Figura 23: AUC-ROC. Desempeño del modelo de predicción de glicemia 2 horas postcarga mediante PLS.

En este modelo de regresión, podemos establecer que las variables que contribuyen mayormente a la predicción de glicemia en el embarazo (positiva o negativamente), corresponden a variables clínicas (estatura y edad), parámetros tiroideos (aTG, T4 total, TRAb y aTPO) y variantes genéticas, dentro de las cuales el polimorfismo de *FTO* presenta mayor peso dentro de dicho grupo (figura 24).



Barras rojas indican variables por sobre valor arbitrario de 0.1, barras amarillas indican variables bajo el valor arbitrario de 0.1. aTG: Anticuerpo anti-tiroglobulina; T4T: Tetrayodotironina total; FTO: rs9939609; TRAb: Anticuerpo anti-receptor TSH; DIO2: rs225014; TCF1: rs7903146; aTPO: Anticuerpo anti-peroxidasa tiroidea; TCF2: rs12255372; T3T: Triyodotironina total; IMC: Índice de masa corporal; GB: Glicemia basal de primer trimestre; T4L: Tetrayodotironina libre; TSH: Hormona estimulante de tiroides; TG: Tiroglobulina.

Figura 24: Relevancia de cada variable en la generación del modelo de regresión para predicción de glicemia a las 2 horas postcarga, mediante PLS.

9 DISCUSIÓN

Considerando los resultados expuestos anteriormente, podemos indicar que se logró generar un modelo predictivo para la pesquisa temprana de glicemia alterada durante el embarazo, utilizando las variables clínicas, las cuales también consideran el componente genético como una variable de peso en la predicción del modelo. Además, los resultados de los análisis multivariados evidencian la contribución de parámetros del perfil tiroideo durante el embarazo, los cuales serían de gran relevancia en la identificación de la condición evaluada.

Cabe mencionar que una de las principales dificultades a la hora de evaluar los datos, fue el bajo tamaño muestral obtenido (68 pacientes), frente al tamaño muestral calculado (83 pacientes), por lo cual algunos de los análisis univariados no pudieron ser realizados, y si bien algunos de los resultados mostraban cierta tendencia, no tuvieron la significancia estadística suficiente para evidenciar diferencias, ya sea entre grupos de embarazadas según su clasificación de glicemia alterada o según su genotipo por cada variante genética evaluada.

9.1 Características de la población evaluada.

En cuanto a las características clínicas evaluadas en la población total de embarazadas, además de los niveles glicémicos alterados, otra de las variables que genera mayor preocupación es el IMC, ya que una gran proporción de las gestantes (72%) cursa con valores por sobre el rango normal. El sobrepeso u obesidad durante la gestación predisponen para el desarrollo de diversas complicaciones en este periodo como, desordenes hipertensivos, DMG, macrosomía en el recién nacido y mayor riesgo de parto pretérmino. (Santos *et al.*, 2019). Esta alta prevalencia se mantiene incluso al dividir a la población según la clasificación para GA en el embarazo. Además, se relaciona también con los análisis multivariados realizados, que indican que el peso e IMC son variables de modelamiento para la predicción de los grupos de clasificación.

La edad aumentada en el grupo de glicemia alterada durante el embarazo fue esperable si relacionamos estos datos con la evidencia que se tiene para DMG, en donde la mayoría de los estudios indican que la edad de las embarazadas con alteración de la glicemia es significativamente mayor a la del grupo sin la condición evaluada (Popova *et al.*, 2017; Franzago *et al.*, 2018; Huopio *et al.*, 2013; de Melo *et al.*, 2015; Saucedo *et al.*, 2017; Pagán *et al.*, 2014).

En cuanto a los niveles glicémicos de las pacientes embarazadas del estudio, estos concuerdan con lo reportado en otras investigaciones (Lowe *et al.*, 2019), siendo significativamente mayores en la condición de glicemia alterada durante el primer trimestre de embarazo, lo cual coincide con otros estudios (Beysel *et al.*, 2019a y 2019b; Huopio *et al.*, 2013; Saucedo *et al.*, 2017; Pagán *et al.*, 2014). Si bien no se presentan otras diferencias estadísticamente significativas entre estos grupos, se puede observar que los niveles de T3 total y T4 total tienden a ser menores en el grupo de embarazadas con glicemia alterada (valores p: 0,07 y 0,05 respectivamente). En cuanto a los valores de T3T, la disminución de los niveles séricos de esta hormona concuerda con lo reportado por Shanmugam *et al.* (2018), pero no así los niveles de hormona T4T. Un posible mecanismo que podría explicar la relación entre hormonas tiroideas y alteraciones de la glicemia podría estar dado por el rol de T3 en la regulación transcripcional de la resistencia a la insulina (Kim *et al.*, 2002).

Cabe mencionar que cierto porcentaje de la población cursa con valores elevados para la detección de autoanticuerpos asociados a la tiroides, por lo cual, nuevamente podemos evidenciar que en el análisis multivariado estos factores presentaban gran peso en la discriminación entre los grupos. La prevalencia de dichos autoanticuerpos en las gestantes es de hasta un 18% y han sido asociados con complicaciones severas como aborto espontáneo y parto pretérmino (Hollowell *et al.*, 2002). La presencia de aTPO y aTG podrían ser un tipo de respuesta, más

que la causa, del daño en el tejido tiroideo y aumentarían el riesgo de cursar con hipotiroidismo durante el embarazo (Hollowell *et al.*, 2002). La presencia de estos autoanticuerpos estaría dada por diversos factores, dentro de los cuales se encuentran variantes genéticas, edad avanzada y la deficiencia o exceso de iodo. (De Leo y Pearce, 2018)

En etapas tempranas del embarazo se ha descrito que la positividad de estos autoanticuerpos estaría asociada con una reducción significativa de la tolerancia a la glucosa durante la gestación (Hornnes *et al.*, 1991). Otro estudio (Huang *et al.*, 2019), determinó que la presencia de autoanticuerpos positivos anti-TPO (aTPO) se asociaban con un mayor riesgo a desarrollar DMG y que, incluso, era un factor de riesgo más potente que el hipotiroidismo subclínico y la hipotiroxinemia durante este periodo. La asociación entre este desorden autoinmune tiroideo y la resistencia a la insulina podría estar dado por los eventos inflamatorios asociados a ambas condiciones. Sin embargo, aún existe controversia en cuanto a estos análisis (Agarwal *et al.*, 2006).

9.2 Glicemia alterada durante el embarazo.

Gran parte de los estudios que evalúan las alteraciones de la glicemia durante el embarazo se centran en la DMG, sin embargo y como ya se ha evidenciado, no existe un consenso en cuanto al diagnóstico para la patología, y diversos criterios

han sido validados para la clasificación de dichas pacientes. No existe uniformidad universal en cuanto al periodo de detección, el tipo de prueba diagnóstica ni los valores de corte adecuados para definir la DMG (Chiefari *et al.*, 2017). Además, se ha evidenciado que niveles de glicemia alterados, bajo el umbral diagnóstico también son asociados con complicaciones materno-fetales u otras posterior a la gestación (HAPO Study Cooperative Research Group, 2008). Es por esto que en el presente trabajo se define el estado de Glicemia alterada durante el embarazo, con niveles de glicemia de corte más bajo para la clasificación de pacientes, con el objetivo de pesquisar a una mayor población en riesgo a sufrir complicaciones, debido a dicha condición. La prevalencia de la condición evaluada no ha logrado ser evidenciada en otras poblaciones porque tampoco presenta valores de corte y criterios de clasificación definidos (Nasrat *et al.*, 1994; Retnakaran, 2006; Tuffnell *et al.*, 2003), de forma similar a la DMG. Sin embargo, para efectos de este trabajo, el criterio de clasificación fue adaptado desde el utilizado por (Shanmugamet *et al.*, 2018), ya que sobre estos valores de corte ya se puede observar un aumento significativo de complicaciones tanto maternas como perinatales.

El análisis multivariado por PLS refuerza lo anterior, dado que al generar la curva ROC para el modelo predictivo de niveles glicémicos a las 2 horas postcarga, se logró determinar un valor de corte de 115 mg/dL para la clasificación de las embarazadas con niveles de sensibilidad y especificidad de 0.77 y 0.83,

respectivamente. Podemos evidenciar entonces, que este modelo predictivo nos permite identificar un valor de corte para la clasificación de glicemia alterada, considerando valores por sobre los 115 mg/dL, el cual tendría una mayor sensibilidad (0.77), que el criterio utilizado de 120 mg/dL (0.68), ambos con la misma especificidad (0.83).

La prevalencia de GA en la población evaluada fue de un 35%. Si comparamos esta prevalencia con la de DMG en la población evaluada (22%), podemos evidenciar que el criterio de glicemia alterada suma un 13% de pacientes que no presentaron DMG, pero que cursan con glicemia alterada durante su embarazo.

9.3 Asociación de los factores genéticos con las variables clínicas y bioquímicas.

Para los análisis genéticos podemos evidenciar que no se encontraron diferencias significativas entre ninguna de las variantes genéticas, en relación con la condición de GA. Sin embargo, estos resultados podrían estar restringidos al bajo tamaño muestral obtenido, ya que se puede observar que en la población que presenta la condición estudiada, la presencia del alelo de riesgo para cada polimorfismo es mayor, en comparación a quienes no presentan la condición. Se observa una tendencia en el grupo de embarazadas con glicemia alterada, a

presentar el alelo de riesgo de los polimorfismos evaluados. Aún existe controversia sobre la asociación de estas variantes genéticas con los niveles glicémicos durante el embarazo (Wang *et al.*, 2020; Shalabi *et al.*, 2021; Lin *et al.*, 2016; He *et al.*, 2018; Popova *et al.*, 2021; Asadi *et al.*, 2016).

Al evaluar a la población según su genotipo para cada variante genética, se encontraron algunas asociaciones con las variables estudiadas. Para la variante rs7903146 del gen *TCF7L2*, se observa una asociación con el IMC, lo cual no se relacionaría con lo reportado (Bride *et al.*, 2021), en donde se evidencia que la variante mutada sería protectora frente al aumento del IMC. En cuanto a los niveles glicémicos durante el embarazo, se observa asociación con la glicemia basal del segundo trimestre, lo cual concuerda con el aumento en dicho parámetro por la presencia del alelo de riesgo (Gjesing *et al.*, 2011). En los parámetros asociados al perfil tiroideo, se encontró asociación de la variante con los niveles de TSH durante el primer trimestre. Al respecto solo un estudio ha evaluado los niveles de TSH con respecto a la variante genética (Taşkin y Eroğlu, 2021), y con resultados contrarios a lo reportado en el presente estudio. Sin embargo, la patología evaluada (SOP), podría tener influencia en los niveles de TSH, por lo cual estos no son comparables.

Si bien para la variante rs12255372 del gen *TCF7L2* no se evidenciaron diferencias significativas con las variables en estudio, se puede demostrar que existe

una leve tendencia asociada a los niveles de glicemia basal del segundo trimestre y la presencia del genotipo de riesgo para esta variante genética. En base a este resultado, podemos ver que tiene relación con lo reportado (Gjesing *et al.*, 2011), al igual que para la variante genética anteriormente mencionada, presente en el mismo gen.

En el análisis de la variante rs9939609 del gen *FTO*, cabe mencionar que solo una paciente presentó el genotipo homocigoto mutado (AA), por lo que diversas pruebas estadísticas asociadas a esta variante no lograron ser realizadas. Asociado a lo anterior, no se encontraron diferencias significativas entre los genotipos y las variables evaluadas, sin embargo, se encontró una leve asociación entre los niveles de TSH y el alelo de riesgo “A” de la variante genética. Existe controversia e incongruencias en cuanto a estos resultados para otros estudios, ya que se ha descrito que el genotipo de riesgo estaría asociado con el aumento de los niveles de TSH (Dwivedi *et al.*, 2012), sin embargo, otros estudios indican lo contrario (Wang *et al.*, 2021), mientras que otros autores no encontraron asociación (Labayen *et al.*, 2015). Sin embargo, coinciden en que, de haber alguna asociación, estaría dada por la alta expresión de *FTO* en la hipófisis, pudiendo regular en parte la secreción de TSH (Wang *et al.*, 2021; Dwivedi *et al.*, 2012).

Por último, la variante genética rs225014 en el gen *DIO2*, ha presentado asociación significativa con los niveles glicémicos del segundo trimestre, lo cual no ha

sido reportado anteriormente, sin embargo, existen estudios que han asociado esta variante con los niveles de HbAc1 en distintos grupos de pacientes (Sotak et al., 2018; Zhang *et al.*, 2016). En cuanto a los niveles de T3 total del primer trimestre, se ha evidenciado que concuerda con lo reportado anteriormente (Canani *et al.*, 2005), donde el genotipo de riesgo estaría asociado con menores niveles séricos de dicha hormona. Junto con esto, se puede observar una leve asociación entre los niveles de glicemia a las 2 horas postcarga y la variante genética presentada, lo cual tampoco ha sido reportado anteriormente. También se muestra tendencia en cuanto a los niveles de T4T y los de TRAb, sin embargo, los estudios que han evaluado los niveles séricos de estos parámetros del perfil tiroideo (Shahida *et al.*, 2018) no han encontrado asociación significativa con esta variante genética.

9.4 Análisis multivariados asociados a alteraciones de la glicemia durante el embarazo

Un estudio publicado por Araya *et al.* (2021), logró evidenciar mediante PCA que, utilizando variables clínicas de primer y segundo trimestre de embarazo, se formaban espontáneamente *clusters*, los cuales agrupaban a las pacientes según si presentaban o no DMG. Sin embargo, dentro del *cluster* asociado a DMG, se presentaban también algunas pacientes que no habían sido diagnosticadas con

DMG, pero cuyos niveles de glicemia 2 horas postcarga se encontraban en el límite del umbral diagnóstico para la patología. Esto podría indicar que los valores glicémicos por si solos no serían suficientes para el diagnóstico de alteraciones durante el embarazo, sino que diversas otras variables contribuyen con dicha condición, además de evidenciar que valores de corte bajo el diagnóstico de DMG (Glicemia 2 horas postcarga: 140 mg/dL) también podrían evidenciar alteraciones de la glicemia durante el embarazo.

Un estudio similar ha sido presentado por Mennickent *et al.* (2023), en el cual nuevamente mediante PCA se logró evidenciar que ciertas variables, de manera conjunta, permitían la separación parcial de las pacientes según su diagnóstico de DMG. En dicho estudio se presentan ciertas variables que contribuyen en mayor medida en la separación y agrupación de las pacientes según su diagnóstico. Algunas de estas variables coinciden con lo presentado en la presente tesis, en donde los niveles de anticuerpos aTG y TSH del primer trimestre de embarazo estarían contribuyendo en la separación parcial de los grupos de pacientes con alteración de la glicemia durante el embarazo. También en este estudio se presenta un modelo predictivo de DMG por PLS-DA, similar al PLS realizado en esta tesis, pero que además del análisis de regresión, se suma un análisis de discriminación para la clasificación de la patología en estudio. Dicho análisis indica, de manera similar a nuestros resultados, que existe un componente genético (evidenciado en ambos casos por la variante genética rs9939609 del gen *FTO*),

además de algunas variables asociadas al perfil tiroideo durante el primer trimestre de embarazo (TG y TRAb), que permitirían discriminar a embarazadas con alteraciones glicémicas. También los autores presentan un análisis de regresión para los niveles de glicemia 2 horas postcarga, en el cual se obtuvo un RCMECV de 20,7%, con un AUC de 0.867 para la validación cruzada de este modelo; mientras que, en los resultados de la presente tesis, el valor de RCMECV fue levemente mayor (23,2%), con un AUC más bajo 0,7890. Estas diferencias en el desempeño de ambos modelos predictivos de glicemia podrían estar dados por la cantidad de variables incluidas dentro de cada estudio, por ejemplo, diversos antecedentes clínicos que mostraron ser relevantes en el estudio de Mennickent *et al.*, (2023), como el antecedente de anemia, DMG previo e historial familiar de DMT2 en la embarazada, los cuales no fueron considerados en el modelo evaluado en la presente tesis. Sin embargo, los autores hacen notar la importancia que tiene la inclusión de la variante genética del gen *FTO*, la cual aumenta los valores de AUC en el modelo propuesto. Esto nos indica lo relevante de la inclusión del componente genético en la pesquisa de alteraciones glicémicas durante el embarazo.

Además de los estudios presentados anteriormente, Mennickent *et al.* (2022) presentó una revisión bibliográfica de modelos predictivos para DMG, los cuales utilizan diversos factores predictivos, entre los cuales existen modelos basados en

variantes genéticas e información clínica de las pacientes embarazadas (Tabla 29).

Dziedziejko *et al.* (2019), evaluó un modelo predictivo de DMG, que consideraba diversas variantes genéticas asociadas al metabolismo de carbohidratos y lípidos. Algunas de estas variantes genéticas, se habían asociado anteriormente con el riesgo de DMG o con algunos factores de riesgo de dicha patología en las embarazadas, como el IMC elevado, la ganancia de peso excesiva durante el embarazo, el porcentaje de HbA1c, entre otros. Se evaluaron 2 modelos en este estudio, el primero que solo consideraba edad e IMC pregestacional, y el segundo que además incluía 8 variantes genéticas asociadas a la patología. En este estudio se presenta un aumento en el desempeño del modelo predictivo cuando se incluyen las variables genéticas a dicho algoritmo (AUC: 0.77 vs 0.68). Además, podemos evidenciar la inclusión de diversas variantes genéticas dentro del modelo predictivo, sin embargo, el desempeño de este no parece aumentar en función de la cantidad de variantes genéticas, sino más bien, depende de la capacidad de las variables que componen el modelo de discriminar entre los grupos.

En el estudio realizado por Krishnan *et al.* (2020), se evaluó el poder predictivo de la variante genética rs373863828, presente en el gen *CREBRF*, cuyo alelo de riesgo (A) estaría relacionado con el aumento en el IMC y la disminución en la prevalencia de DM2. Se evaluó un modelo de regresión logística que incluyó

esta variable genética, sumada a la edad materna, IMC e historial familiar de diabetes, donde, la inclusión de la variante genética aumentó el desempeño del modelo para la predicción de DMG desde un AUC de 0.67 a 0.76. Al comparar este modelo con el que se presenta en esta tesis, se evidencia que este último presenta un mejor desempeño. Podemos considerar que el modelo presentado considera variables relevantes como el historial familiar de diabetes, pero no considera el perfil tiroideo durante el embarazo, que como hemos confirmado, guarda relación con el desarrollo de glicemia alterada en el embarazo.

Otro estudio, publicado por Popova *et al.* (2021), evaluó diversos polimorfismos y su asociación con DMG, dentro de los cuales solo la variante genética rs 10830963 en el gen *MTNR1B* fue incluido en un modelo predictivo de la patología. El gen en el cual se presenta dicha variante corresponde a un receptor de melatonina, asociado con el metabolismo de glucosa (entre otras funciones), y donde la variante genética presentada ha sido relacionada con la reducción de la secreción de insulina por las células beta pancreáticas. Al igual que en el estudio presentado anteriormente, la inclusión de una variante genética en el modelo aumentó su poder predictivo (AUC: 0.830 vs 0.812). Podemos resaltar en este estudio que la inclusión del índice HOMA, también mejoraría el poder predictivo del modelo, el cual no fue considerado dentro de nuestro estudio, pero que podría ser relevante para la predicción de esta condición. Además de lo anterior, la

inclusión de antecedentes de condiciones previas al embarazo en curso, tales como DMG previa, HTA, paridad, IGO y SOP; son variables que deberían ser consideradas a la hora de generar este tipo de modelos predictivos. Otro punto relevante de este estudio es que fueron evaluados 11 variantes genéticas, pero el modelo predictivo que presentó un mayor poder fue el que incluía solo la variante genética de *MTNR1B*. Lo anterior nos demuestra que estos modelos pueden ser mejorados agregando o quitando variables para aumentar su poder predictivo, como queda demostrado en dicho estudio (Popova *et al.*, 2021).

Tabla 29: Análisis multivariados para predicción de alteraciones de la glicemia en el embarazo utilizando variantes genéticas y datos clínicos.

Variantes predictoras	N (DMG/TNG)	AUC (IC95%)	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Referencia
rs6681231, rs174550, rs4430796, rs266729, rs187238, rs1024611, rs5015480, rs10811661, IMC y edad	411 (204/207)	0.77 (0.73-0.82)	-	-	Dziedziejko <i>et al.</i> , 2019
rs373863828, edad, IMC, historial familiar de DMT2	112 (35/77)	0.76 (0.67-0.85)	0.91 (0.77-0.98)	0.36 (0.26-0.48)	Krishnan <i>et al.</i> , 2020
rs10830963, índice HOMA-IR, edad, IMC, historial familiar de DMT2, DMG previa, hipertensión, paridad, IGO previa y SOP	1142 (688/454)	0.830 (0.792-868)	-	-	Popova <i>et al.</i> , 2021
rs9939609, DMG previa, antecedente de anemia, historial familiar de DMT2	66 (12/55)	0.91 (0.82–1.00)	1,0	1,0	Mennickent <i>et al.</i> , 2023
rs7903146, rs12255372, rs9939609, rs225014, variables clínicas y perfil tiroideo (Tabla 17)	68 (24GA/44GN)	0.87 (0,77-0,98)	0,82 (0,62-0,93)	0,93 (0,81- 0,98)	Este estudio

N: Total de participantes del estudio; DMG: Diabetes Mellitus Gestacional; TNG: Tolerancia Normal a la Glucosa; AUC: *Area under curve* (Área bajo la curva); IC95%: Intervalo de Confianza del 95%; IMC: Índice de Masa Corporal; DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2; HOMA: *Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance* (Modelo Homeostático para evaluar la Resistencia a la Insulina); IGO: Intolerancia a la Glucosa Oral; SOP: Síndrome de Ovario Poliquístico; GA: Glicemia Alterada durante el embarazo; GN: Glicemia Normal durante el embarazo.

9.5 Limitaciones, fortalezas y validez clínica del estudio

Una de las limitaciones de este estudio fue el reducido tamaño de la muestra, notablemente para la genotipificación de la variante genética rs9939609, en donde solo una paciente presentó el genotipo de riesgo mutado, lo cual impidió realizar ciertos análisis estadísticos y evidenciar algunas posibles asociaciones. Este bajo tamaño muestral se explica debido a que, si bien se contaba con un mayor número de pacientes genotipificadas para todas las variantes genéticas, la falta de datos clínicos o bioquímicos en algunos casos terminó por excluir un no menor número de pacientes.

Uno de los factores que se podrían mejorar para este estudio es la inclusión de antecedentes clínicos como el historial familiar de DMT2, DMG previa y otras que podrían mejorar la predicción de nuestro modelo.

En cuanto a los análisis por *Machine Learning* es importante mencionar que correspondieron principalmente a algoritmos que trabajan con variables de distribución normal, sin embargo, gran parte de nuestras variables no presentaban dicha distribución, por lo que algunas de las pacientes debieron ser excluidas para la generación de este modelo. Pese a esto, la utilización de

SIMCA, el cual corresponde a un algoritmo un tanto más permisivo en cuanto a la distribución de datos de las variables, permitió clasificar correctamente a gran parte de las pacientes en base al modelo generado de glicemia alterada. No obstante, para enfrentar el problema de la normalidad de los datos, otros tipos de algoritmos de diversa complejidad podrían ser utilizados en futuros análisis, considerando que la variabilidad biológica es alta y que muchas variables clínicas o bioquímicas no presentan distribución normal.

Finalmente, las fortalezas y validez clínica de este estudio se respaldan en que, la problemática a resolver, los objetivos planteados y la metodología para su realización se encontraban definidos apropiadamente. Las variables por evaluar fueron correctamente determinadas y expresadas según correspondiera a su tipo y distribución de los datos. Todos los resultados obtenidos contaron con un riguroso, explícito y adecuado análisis estadístico que dio cuenta de la significancia y la magnitud de estos.

10 CONCLUSIÓN

El presente, corresponde al primer estudio que evalúa la prevalencia de glicemia alterada durante el embarazo y que la considera como una condición que puede generar complicaciones materno-fetales, de manera independiente al diagnóstico de DMG. También este estudio es vanguardista en la generación de un modelo de pesquisa temprana de dicha condición mediante información clínica relevante (asociada con alteraciones de la glicemia), perfil glicémico y tiroideo en etapas tempranas del embarazo y, de manera relevante, un componente genético compuesto por variantes genéticas que se asociaron con: 1) disminución de la secreción de insulina desde células beta-pancreáticas; 2) aumento en la resistencia a la insulina en el tejido adiposo; y 3) disminución de los niveles de hormonas tiroideas intracelulares, principalmente en el músculo esquelético, favoreciendo la resistencia a la insulina en dicho tejido. La suma de todos estos factores permitió generar dos modelos genéticos, el primero para la clasificación de glicemia alterada en el embarazo, y el segundo para la predicción de niveles de glicemia a las 2 horas postcarga.

Estos modelos dan cuenta de que cada vez es más viable pensar en un modelo predictivo temprano para esta condición de glicemia alterada en el embarazo, lo cual ahorraría costos y más importantemente aún, disminuiría las complicaciones asociadas a la dicha condición, en la gestante, el feto y el posterior desarrollo de ambos.

11 BIBLIOGRAFÍA

- Acharya, S., Al-Elq, A., Al-Nafaie, A., Muzaheed, M., & Al-Ali, A. (2015). Type 2 diabetes mellitus susceptibility gene TCF7L2 is strongly associated with hyperglycemia in the Saudi Arabia Population of the eastern province of Saudi Arabia. *European review for medical and pharmacological sciences*, 19(16), 3100–3106.
- Agarwal, M. M., Dhatt, G. S., Punnose, J., Bishawi, B., & Zayed, R. (2006). Thyroid function abnormalities and antithyroid antibody prevalence in pregnant women at high risk for gestational diabetes mellitus. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 22(5), 261–266. <https://doi.org/10.1080/09513590600630470>
- Anghebem-Oliveira, M. I., Martins, B. R., Alberton, D., Ramos, E., Picheth, G., and Rego, F. (2017). Type 2 Diabetes-Associated Genetic Variants of FTO, LEPR, PPAR γ , and TCF7L2 in Gestational Diabetes in a Brazilian Population. *Arch. Endocrinol. Metab.* 61 (3), 238–248. doi:10.1590/2359- 3997000000258
- Araya, J., Rodriguez, A., Lagos-SanMartin, K., Mennickent, D., Gutiérrez-Vega, S., Ortega-Contreras, B., Valderrama-Gutiérrez, B., Gonzalez, M., Farías-Jofré, M., & Guzmán-Gutiérrez, E. (2021). Maternal thyroid profile in first and second trimester of pregnancy is correlated with gestational diabetes mellitus through machine learning. *Placenta*, 103, 82–85. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.10.015>
- Asadi, M., Sadeghi, A., Rezvanfar, M. R., Talaie, A. and Rafiei, F. (2016). The Genetics Study of Gestational Diabetes in Iranian Women and DIO2 gene. *Mol. Med. J.* 2 (1), 43-47.

Barabash, A., Valerio, J. D., Garcia de la Torre, N., Jimenez, I., Del Valle, L., Melero, V., Assaf-Balut, C., Fuentes, M., Bordiu, E., Durán, A., Herraiz, M. A., Izquierdo, N., Torrejón, M. J., de Miguel, P., Runkle, I., Rubio, M. A., & Calle-Pascual, A. L. (2020). TCF7L2 rs7903146 polymorphism modulates the association between adherence to a Mediterranean diet and the risk of gestational diabetes mellitus. *Metabolism open*, 8, 100069. <https://doi.org/10.1016/j.metop.2020.100069>

Bartosovic, M., Molares, H. C., Gregorova, P., Hrossova, D., Kudla, G., and Vanacova, S. (2017). N6-methyladenosine Demethylase FTO Targets PremRNAs and Regulates Alternative Splicing and 3'-end Processing. *Nucleic Acids Res.* 45 (19), 11356–11370. doi:10.1093/nar/gkx778

Baz, B., Riveline, J. y Gautier, J. (2016). Gestational Diabetes Mellitus: Definition, Aetiological and Clinical Aspects. *Eur. J. Endocrinol.*, 174(2), R43-R51.

Ben-Haim, M. S., Moshitch-Moshkovitz, S., and Rechavi, G. (2015). FTO: Linking m6 A Demethylation to Adipogenesis. *Cell. Res.* 25 (1), 3–4. doi:10.1038/cr.2014.162

Berulava, T. y Horsthemke, B. (2010). The Obesity-Associated SNPs in Intron 1 of the FTO Gene Affect Primary Transcript Levels. *Eur. J. Hum. Genet.* 18 (9), 1054–1056. doi:10.1038/ejhg.2010.71

Beysel, S., Eyerci, N., Ulubay, M., Caliskan, M., Kizilgul, M., Hafizoğlu, M. y Cakal, E. (2019a). Maternal genetic contribution to pre-pregnancy obesity, gestational weight gain, and gestational diabetes mellitus. *Diabetol. Metab. Syndr.*, 11(1), 37.

Beysel, S., Pinarli, F. A., Eyerci, N., Kizilgul, M., Hepsen, S., Alhan, A., Kan, S., Caliskan, M., Bozkurt, E. y Cakal, E. (2019b). HNF1A gene p.I27L is associated with co-existing preeclampsia in gestational diabetes mellitus. *Gynaecol. Endocrinol.*, 1–5.

Bomer, N., den Hollander, W., Ramos, Y. F., Bos, S. D., van der Breggen, R., Lakenberg, N., Pepers, B. A., van Eeden, A. E., Darvishan, A., Tobi, E. W., Duijnisveld, B. J.,

- van den Akker, E. B., Heijmans, B. T., van Roon-Mom, W. M., Verbeek, F. J., van Osch, G. J., Nelissen, R. G., Slagboom, P. E., & Meulenbelt, I. (2015). Underlying molecular mechanisms of DIO2 susceptibility in symptomatic osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 74(8), 1571–1579. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204739>
- Brelje, T. C., Scharp, D. W., Lacy, P. E., Ogren, L., Talamantes, F., Robertson, M., Friesen, H. G. y Sorenson, R. L. (1993). Effect of homologous placental lactogens, prolactins, and growth hormones on islet B-cell division and insulin secretion in rat, mouse, and human islets: implication for placental lactogen regulation of islet function during pregnancy. *Endocrinology*, 132(2), 879–887.
- Bride, L., Naslavsky, M., Lopes Yamamoto, G., Scliar, M., Pimassoni, L. H., Sossai Aguiar, P., de Paula, F., Wang, J., Duarte, Y., Passos-Bueno, M. R., Zatz, M., & Imbroisi Valle Errera, F. (2021). TCF7L2 rs7903146 polymorphism association with diabetes and obesity in an elderly cohort from Brazil. *PeerJ*, 9, e11349. <https://doi.org/10.7717/peerj.11349>
- Brozaitiene, J., Skiriute, D., Burkauskas, J., Podlipskyte, A., Jankauskiene, E., Serretti, A., & Mickuviene, N. (2018). Deiodinases, Organic Anion Transporter Polypeptide Polymorphisms, and Thyroid Hormones in Patients with Myocardial Infarction. Genetic testing and molecular biomarkers, 22(4), 270–278. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2017.0283>
- Canani, L. H., Capp, C., Dora, J. M., Meyer, E. L., Wagner, M. S., Harney, J. W., Larsen, P. R., Gross, J. L., Bianco, A. C., & Maia, A. L. (2005). The type 2 deiodinase A/G (Thr92Ala) polymorphism is associated with decreased enzyme velocity and increased insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(6), 3472–3478. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1977>
- Catalano, P. M., Huston, L., Amini, S. B., y Kalhan, S. C. (1999). Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 180, 903–916.

- Chang, S., Wang, Z., Wu, L., Lu, X., Shangguan, S., Xin, Y., Li, L., & Wang, L. (2017). Association between TCF7L2 polymorphisms and gestational diabetes mellitus: A meta-analysis. *Journal of diabetes investigation*, 8(4), 560–570. <https://doi.org/10.1111/jdi.12612>
- Chaudhuri, P., Das, M., Lodh, I., & Goswami, R. (2021). Role of Metabolic Risk Factors, Family History, and Genetic Polymorphisms (PPAR γ and TCF7L2) on Type 2 Diabetes Mellitus Risk in an Asian Indian Population. *Public health genomics*, 24(3-4), 131–138. <https://doi.org/10.1159/000514506>
- Chiefari, E., Arcidiacono, B., Foti, D., & Brunetti, A. (2017). Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *Journal of endocrinological investigation*, 40(9), 899–909. <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0607-5>
- Coppotelli, G., Summers, A., Chidakel, A., Ross, J. M., & Celi, F. S. (2006). Functional characterization of the 258 A/G (D2-ORFa-Gly3Asp) human type-2 deiodinase polymorphism: a naturally occurring variant increases the enzymatic activity by removing a putative repressor site in the 5' UTR of the gene. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*, 16(7), 625–632. <https://doi.org/10.1089/thy.2006.16.625>
- da Silva Xavier, G., Loder, M. K., McDonald, A., Tarasov, A. I., Carzaniga, R., Kronenberger, K., Barg, S., & Rutter, G. A. (2009). TCF7L2 regulates late events in insulin secretion from pancreatic islet beta-cells. *Diabetes*, 58(4), 894–905. <https://doi.org/10.2337/db08-1187>
- Dahlgren, A., Zethelius, B., Jensevik, K., Syvänen, A. C., & Berne, C. (2007). Variants of the TCF7L2 gene are associated with beta cell dysfunction and confer an increased risk of type 2 diabetes mellitus in the ULSAM cohort of Swedish elderly men. *Diabetologia*, 50(9), 1852. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0746-5>
- De Leo, S. y Pearce, E. N. (2018). Autoimmune thyroid disease during pregnancy. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 6(7), 575–586. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30402-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30402-3)
- de Melo, S. F., Frigeri, H. R., dos Santos-Weiss, I. C. R., Rea, R. R., de Souza, E. M., Alberton, D., et al. (2015). Polymorphisms in FTO and TCF7L2 Genes of

EuroBrazilian Women with Gestational Diabetes. *Clin. Biochem.* 48 (16-17), 1064–1067. doi:10.1016/j.clinbiochem.2015.06.013

Di Cianni, G., Miccoli, R., Volpe, L., Lencioni, C. y Del Prato, S. (2003). Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metab. Res.*, 19(4), 259–270.

Dora, J. M., Machado, W. E., Rheinheimer, J., Crispim, D., & Maia, A. L. (2010). Association of the type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism with type 2 diabetes: case-control study and meta-analysis. *European journal of endocrinology*, 163(3), 427–434. <https://doi.org/10.1530/EJE-10-0419>

Dutra, L. A., Costa, P. G., Velasco, L. F., Amato, A. A., & Barra, G. B. (2008). Allele-specific PCR assay to genotype SNP rs7903146 in TCF7L2 gene for rapid screening of diabetes susceptibility. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*, 52(8), 1362–1366. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302008000800026>

Dwivedi, O. P., Tabassum, R., Chauhan, G., Ghosh, S., Marwaha, R. K., Tandon, N., & Bharadwaj, D. (2012). Common variants of FTO are associated with childhood obesity in a cross-sectional study of 3,126 urban Indian children. *PloS one*, 7(10), e47772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047772>

Dziedziejko, V., Safranow, K., Tarnowski, M., & Pawlik, A. (2019). Common Type 2 Diabetes Genetic Risk Variants Improve the Prediction of Gestational Diabetes. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, 51(10), 655–660. <https://doi.org/10.1055/a-0945-0328>

Estivalet, A. A., Leiria, L. B., Dora, J. M., Rheinheimer, J., Bouças, A. P., Maia, A. L., & Crispim, D. (2011). D2 Thr92Ala and PPARγ2 Pro12Ala polymorphisms interact in the modulation of insulin resistance in type 2 diabetic patients. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19(4), 825–832. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.231>

Ferrara, A. (2007). Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes care*, 30(Suppl. 2), S141-S146.

- Franzago, M., Fraticelli, F., Marchioni, M., Di Nicola, M., Di Sebastiano, F., Liberati, M., Stuppia, L., & Vitacolonna, E. (2021). Fat mass and obesity-associated (FTO) gene epigenetic modifications in gestational diabetes: new insights and possible pathophysiological connections. *Acta diabetologica*, 58(8), 997–1007. <https://doi.org/10.1007/s00592-020-01668-5>
- Frayling, T. M., Timpson, N. J., Weedon, M. N., Zeggini, E., Freathy, R. M., Lindgren, C. M., et al. (2007). A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science* 316 (5826), 889–894. doi:10.1126/science.1141634
- Galton, V. A., de Waard, E., Parlow, A. F., St Germain, D. L., & Hernandez, A. (2014). Life without the iodothyronine deiodinases. *Endocrinology*, 155(10), 4081–4087. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1184>
- Garmendia, M. L., Mondschein S., Montiel, B. y Kusanovic, J. P. (2020). Trends and predictors of gestational diabetes mellitus in Chile. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 148(2), 210-218.
- Gaulton, K. J., Nammo, T., Pasquali, L., Simon, J. M., Giresi, P. G., Fogarty, M. P., Panhuis, T. M., Mieczkowski, P., Secchi, A., Bosco, D., Berney, T., Montanya, E., Mohlke, K. L., Lieb, J. D., & Ferrer, J. (2010). A map of open chromatin in human pancreatic islets. *Nature genetics*, 42(3), 255–259. <https://doi.org/10.1038/ng.530>
- Gjesing, A. P., Kjems, L. L., Vestmar, M. A., Grarup, N., Linneberg, A., Deacon, C. F., Holst, J. J., Pedersen, O., & Hansen, T. (2011). Carriers of the TCF7L2 rs7903146 TT genotype have elevated levels of plasma glucose, serum proinsulin and plasma gastric inhibitory polypeptide (GIP) during a meal test. *Diabetologia*, 54(1), 103–110. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1940-4>
- Goecks, J., Jalili, V., Heiser, L. M. and Gray, J. W. (2020). How Machine Learning Will Transform Biomedicine. *Cell*. 181 92–101.

- Gong, L. L., Liu, H., y Liu, L. H. (2016). Relationship between hypothyroidism and the incidence of gestational diabetes: A meta-analysis. *Taiwan. J. Obstet. Gyne.*, 55(2), 171-175.
- HAPO Study Cooperative Research Group et al (2008) Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Eng J Med.* doi:10.1056/NEJMoa0707943
- HAPO Study Cooperative Research Group. (2002). The hyperglycemia and adverse pregnancy outcome (HAPO) study. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 78(1), 69-77.
- He, H., Cao, W., Zeng, Y., Huang, Z., Du, W., Guan, N., et al. (2018). Lack of Associations between the FTO Polymorphisms and Gestational Diabetes: A Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis. *Gene* 677, 169–175. doi:10.1016/j. Gene.2018.07.064
- Hollowell, J.G., Staehling, N.W., Flanders, W.D., et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 489–99.
- Homko, C., Sivan, E., Chen, X., Reece, E. A., y Boden, G. (2001). Insulin secretion during and after pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 86(2), 568-573.
- Hornnes, P. J., Rasmussen, N., Hegedüs, L., Kühl, C., & Bottazzo, G. F. (1991). Glucose tolerance and incidence of pancreatic islet cell antibodies in pregnancy in women with thyroid autoantibodies. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*, 23(3), 122–125. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1003630>
- Hotta, K., Nakata, Y., Matsuo, T., Kamohara, S., Kotani, K., Komatsu, R., et al. (2008). Variations in the FTO Gene Are Associated with Severe Obesity in the Japanese. *J. Hum. Genet.* 53 (6), 546–553. doi:10.1007/s10038-008-0283-1

- Huang, K., Xu, Y., Yan, S., Li, T., Xu, Y., Zhu, P., & Tao, F. (2019). Isolated effect of maternal thyroid-stimulating hormone, free thyroxine and antithyroid peroxidase antibodies in early pregnancy on gestational diabetes mellitus: a birth cohort study in China. *Endocrine journal*, 66(3), 223–231. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0340>
- Huopio, H., Cederberg, H., Vangipurapu, J., Hakkarainen, H., Pääkkönen, M., Kuulasmaa, T., Heinonen, S. y Laakso, M. (2013). Association of risk variants for type 2 diabetes and hyperglycemia with gestational diabetes. *Eur. J. Endocrinol.*, 169(3), 291-297.
- Ip, W., Chiang, Y. T., & Jin, T. (2012). The involvement of the wnt signaling pathway and TCF7L2 in diabetes mellitus: The current understanding, dispute, and perspective. *Cell & bioscience*, 2(1), 28. <https://doi.org/10.1186/2045-3701-2-28>
- Kim, S. ., Tull, E. ., Talbott, E. ., Vogt, M. ., & Kuller, L. . (2002). A hypothesis of synergism: the interrelationship of T3 and insulin to disturbances in metabolic homeostasis. *Medical Hypotheses*, 59(6), 660–666. doi:10.1016/s0306-9877(02)00211-6
- Krishnan, M., Murphy, R., Okesene-Gafa, K.A.M. *et al.* The Pacific-specific CREBRF rs373863828 allele protects against gestational diabetes mellitus in Māori and Pacific women with obesity. *Diabetologia* 63, 2169–2176 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05202-8>
- Kroll, C., Farias, D. R., Carrilho, T. R. B., Kac, G., & Mastroeni, M. F. (2022). Association of ADIPOQ-rs2241766 and FTO-rs9939609 genetic variants with body mass index trajectory in women of reproductive age over 6 years of follow-up: the PREDI study. *European journal of clinical nutrition*, 76(1), 159–172. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00911-8>
- Labayen, I., Margareto, J., Maldonado-Martin, S., Gorostegi, I., Illera, M., Medrano, M., Barrenechea, L., & Larrarte, E. (2015). Independent and combined influence of the FTO rs9939609 and MC4Rs17782313 polymorphisms on hypocaloric diet induced changes in body mass and composition and energy metabolism in non-morbid obese premenopausal women. *Nutricion hospitalaria*, 31(5), 2025–2032. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.5.8666>

Lain, K. Y. y Catalano, P. M. (2007). Metabolic changes in pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 50(4), 938-948.

Lawlor, D. A., Fraser, A., Macdonald-Wallis, C., Nelson, S. M., Palmer, T. M., Davey Smith, G., et al. (2011). Maternal and Offspring Adiposity-Related Genetic Variants and Gestational Weight Gain. *Am. J. Clin. Nutr.* 94 (1), 149–155. doi:10.3945/ajcn.110.010751

Lin, P. C., Lin, W. T., Yeh, Y. H., & Wung, S. F. (2016). Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) rs7903146 Polymorphism as a Risk Factor for Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. *PloS one*, 11(4), e0153044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153044>

Lin, Z., Wang, Y., Zhang, B., and Jin, Z. (2018). Association of Type 2 Diabetes Susceptible Genes GCKR, SLC30A8, and FTO Polymorphisms with Gestational Diabetes Mellitus Risk: a Meta-Analysis. *Endocrine* 62 (1), 34–45. doi:10.1007/s12020-018-1651-z

Liu, X. H., Xie, C. G., An, Y., Zhang, X. X., & Wu, W. B. (2015). Meta-analysis of the association between the rs7903146 polymorphism at the TCF7L2 locus and type 2 diabetes mellitus susceptibility. *Genetics and molecular research : GMR*, 14(4), 16856–16862. <https://doi.org/10.4238/2015.December.14.12>

Lockitch, G. y Gamer, P. R. (1997) Clinical Biochemistry of Pregnancy. *Crit. Rev. Cl. Lab. Sci.*, 34(1), 67-139.

Loubière, L. S., Vasilopoulou, E., Bulmer, J. N., Taylor, P. M., Stieger, B., Verrey, F., McCabe, C. J., Franklyn, J. A., Kilby, M. D., & Chan, S. Y. (2010). Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction. *Placenta*, 31(4), 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.01.013>

Lowe, W. L., Lowe, L. P., Kuang, A., Catalano, P. M., Nodzenski, M., Talbot, O., Tam, W-H., Sacks, D. A., McCance, D., Linder, B., Lebenthal, Y., Lawrence, J. M., Lashley,

- M., Josefson, J. L., Hamilton, J., Deerochanawong, C., Clayton, P., Brickman, W. J., Dyer, A. R., Scholtens, D. M. y Metzger, B. E., HAPO Follow-up Study Cooperative Research Group (2019). Maternal glucose levels during pregnancy and childhood adiposity in the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Follow-up Study. *Diabetologia*, 62(4), 598-610.
- Lyssenko, V., Lupi, R., Marchetti, P., Del Guerra, S., Orho-Melander, M., Almgren, P., Sjögren, M., Ling, C., Eriksson, K. F., Lethagen, A. L., Mancarella, R., Berglund, G., Tuomi, T., Nilsson, P., Del Prato, S., & Groop, L. (2007). Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation*, 117(8), 2155–2163. <https://doi.org/10.1172/JCI30706>
- Martins, M. C., Trujillo, J., Farias, D. R., Struchiner, C. J., and Kac, G. (2016). Association of the FTO (Rs9939609) and MC4R (Rs17782313) Gene Polymorphisms with Maternal Body Weight during Pregnancy. *Nutrition* 32 (11-12), 1223–1230. doi:10.1016/j.nut.2016.04.009
- Mennickent, D., Ortega-Contreras, B., Gutiérrez-Vega, S., Castro, E., Rodríguez, A., Araya, J., & Guzmán-Gutiérrez, E. (2023). Evaluation of first and second trimester maternal thyroid profile on the prediction of gestational diabetes mellitus and post load glycemia. *PloS one*, 18(1), e0280513. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280513>
- Mennickent, D., Rodríguez, A., Farías-Jofré, M., Araya, J., & Guzmán-Gutiérrez, E. (2022). Machine learning-based models for gestational diabetes mellitus prediction before 24–28 weeks of pregnancy: a review. *Artificial Intelligence in Medicine*, 102378.
- Merkestein, M., Laber, S., McMurray, F., Andrew, D., Sachse, G., Sanderson, J., et al. (2015). FTO Influences Adipogenesis by Regulating Mitotic Clonal Expansion. *Nat. Commun.* 6, 6792. doi:10.1038/ncomms7792
- Mwanri, A. W., Kinabo, J., Ramaiya, K. y Feskens, E. J. M. (2015). Gestational diabetes mellitus in sub-Saharan Africa: systematic review and metaregression on prevalence and risk factors. *Trop. Med. Int. Health*, 20(8), 983–1002.

- Nasrat, A. A., Augensen, K., Abushal, M., & Shalhoub, J. T. (1994). The outcome of pregnancy following untreated impaired glucose tolerance. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 47(1), 1–6. doi:10.1016/0020-7292(94)90453-7
- Orozco-Saborío, L., & Moya-Moya, F. (2007). Glucemia postcarga en diabetes gestacional. *Acta Médica Costarricense*, 49(1), 42-46.
- Pagán, A., Sabater-Molina, M., Olza, J., Prieto-Sánchez, M. T., Blanco-Carnero, J. E., Parrilla, J. J., Gil, A. y Larqué, E. (2014). A gene variant in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) is associated with an increased risk of gestational diabetes mellitus. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 180, 77-82.
- Petermann-Rocha, Fanny, Lasserre-Laso, Nicole, Villagrán, Marcelo, Mardones, Lorena, Martínez, María Adela, Leiva, Ana María, Ulloa, Natalia, & Celis-Morales, Carlos. (2019). Association of the TCF7L2 (RS7903146) genotype with adiposity and metabolic markers in the Chilean adult population. *Revista médica de Chile*, 147(8), 965-976. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872019000800965>
- Popova, P. V., Klyushina, A. A., Vasilyeva, L. B., Tkachuk, A. S., Vasukova, E. A., Anopova, A. D., Pustozarov, E. A., Gorelova, I. V., Kravchuk, E. N., Li, O., Pervunina, T. M., Kostareva, A. A., & Grineva, E. N. (2021). Association of Common Genetic Risk Variants With Gestational Diabetes Mellitus and Their Role in GDM Prediction. *Frontiers in endocrinology*, 12, 628582. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.628582>
- Procopciuc, L. M., Caracostea, G., Hazi, G., Nemeti, G., & Stamatian, F. (2017). D2-Thr92Ala, thyroid hormone levels and biochemical hypothyroidism in preeclampsia. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 33(2), 136–140. <https://doi.org/10.1080/09513590.2016.1240774>
- Retnakaran, R. (2006). Impaired Glucose Tolerance of Pregnancy Is a Heterogeneous Metabolic Disorder as Defined by the Glycemic Response to the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care*, 29(1), 57–62. doi:10.2337/diacare.29.1.57
- Reyes-López, R., Perez-Luque, E., & Malacara, J. M. (2019). Relationship of lactation, BMI, and rs12255372 TCF7L2 polymorphism on the conversion to type 2 diabetes

mellitus in women with previous gestational diabetes. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 35(5), 412–416. <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1531984>

Riskin-Mashiah, S., Danti, A., Younes, G., & Auslander, R. (2011). Normal fasting plasma glucose levels during pregnancy: a hospital-based study. *Journal of perinatal medicine*, 39(2), 209–211. <https://doi.org/10.1515/jpm.2010.142>

Rochford, J. J., Semple, R. K., Laudes, M., Boyle, K. B., Christodoulides, C., Mulligan, C., et al. (2004). ETO/MTG8 Is an Inhibitor of C/EBP β Activity and a Regulator of Early Adipogenesis. *Mol. Cell. Biol.* 24 (22), 9863–9872. doi:10.1128/MCB.24.22.9863-9872.2004

Ryan, E. A. y Enns, L. (1988). Role of Gestational Hormones in the Induction of Insulin Resistance. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 67(2), 341–347.

Saber-Ayad, M., Manzoor, S., El Serafi, A., Mahmoud, I., Hammoudeh, S., Rani, A., et al. (2019). The FTO Rs9939609 “A” Allele Is Associated with Impaired Fasting Glucose and Insulin Resistance in Emirati Population. *Gene* 681, 93–98. doi:10.1016/j.gene.2018.09.053

Santos, K. D., Rosado, E. L., da Fonseca, A. C. P., Belfort, G. P., da Silva, L. B. G., Ribeiro-Alves, M., Zembrzuski, V. M., Martínez, J. A., & Saunders, C. (2022). FTO and ADRB2 Genetic Polymorphisms Are Risk Factors for Earlier Excessive Gestational Weight Gain in Pregnant Women with Pregestational Diabetes Mellitus: Results of a Randomized Nutrigenetic Trial. *Nutrients*, 14(5), 1050. <https://doi.org/10.3390/nu14051050>

Santos, S., Voerman, E., Amiano, P., Barros, H., Beilin, L. J., Bergström, A., Charles, M. A., Chatzi, L., Chevrier, C., Chrousos, G. P., Corpeleijn, E., Costa, O., Costet, N., Crozier, S., Devereux, G., Doyon, M., Eggesbø, M., Fantini, M. P., Farchi, S., Forastiere, F., ... Jaddoe, V. (2019). Impact of maternal body mass index and gestational weight gain on pregnancy complications: an individual participant data meta-analysis of European, North American and Australian cohorts. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 126(8), 984–995. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15661>

- Saucedo, R., Valencia, J., Gutierrez, C., Basurto, L., Hernandez, M., Puello, E., et al. (2017). Gene Variants in the FTO Gene Are Associated with Adiponectin and TNF-Alpha Levels in Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetol. Metab. Syndr.* 9 (1), 1–7. doi:10.1186/s13098-017-0234-0
- Savic, D., Ye, H., Aneas, I., Park, S. Y., Bell, G. I., & Nobrega, M. A. (2011). Alterations in TCF7L2 expression define its role as a key regulator of glucose metabolism. *Genome research*, 21(9), 1417–1425. <https://doi.org/10.1101/gr.123745.111>
- Saxena, R., Gianniny, L., Burt, N. P., Lyssenko, V., Giuducci, C., Sjögren, M., Florez, J. C., Almgren, P., Isomaa, B., Orho-Melander, M., Lindblad, U., Daly, M. J., Tuomi, T., Hirschhorn, J. N., Ardlie, K. G., Groop, L. C., & Altshuler, D. (2006). Common single nucleotide polymorphisms in TCF7L2 are reproducibly associated with type 2 diabetes and reduce the insulin response to glucose in nondiabetic individuals. *Diabetes*, 55(10), 2890–2895. <https://doi.org/10.2337/db06-0381>
- Schinner, S., Ulgen, F., Papewalis, C., Schott, M., Woelk, A., Vidal-Puig, A., & Scherbaum, W. A. (2008). Regulation of insulin secretion, glucokinase gene transcription and beta cell proliferation by adipocyte-derived Wnt signalling molecules. *Diabetologia*, 51(1), 147–154. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0848-0>
- Sesnilo, G., Meler, E., Perea, V., Rodríguez, I., Rodríguez-Melcón, A., Guerrero, M., & Serra, B. (2017). Maternal fasting glycemia and adverse pregnancy outcomes in a Mediterranean population. *Acta diabetologica*, 54(3), 293–299. <https://doi.org/10.1007/s00592-016-0952-z>
- Shaat, N., Lernmark, A., Karlsson, E., Ivarsson, S., Parikh, H., Berntorp, K., & Groop, L. (2007). A variant in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene is associated with an increased risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*, 50(5), 972–979. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0623-2>
- Shahida, B., Planck, T., Åsman, P., & Lantz, M. (2018). Study of Deiodinase Type 2 Polymorphisms in Graves' Disease and Ophthalmopathy in a Swedish Population. *European thyroid journal*, 7(6), 289–293. <https://doi.org/10.1159/000490892>

- Shalabi, T. A., Amr, K. S., & Shaker, M. M. (2021). Are single nucleotide polymorphisms rs7903146 and rs12255372 in transcription factor 7-like 2 gene associated with an increased risk for gestational diabetes mellitus in Egyptian women?. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 19(1), 169. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00272-6>
- Shanmugam, S., Dhiman, P., Rajendiran, S., Nimesh, A., & Maurya, D. K. (2018). Gestational impaired glucose tolerance (GIGT)-induced suppression of fetal thyroid secretion: effect on fetal outcome. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 1–5. doi:10.1080/14767058.2017.1422716
- Shu, L., Sauter, N. S., Schulthess, F. T., Matveyenko, A. V., Oberholzer, J., & Maedler, K. (2008). Transcription factor 7-like 2 regulates beta-cell survival and function in human pancreatic islets. *Diabetes*, 57(3), 645–653. <https://doi.org/10.2337/db07-0847> (Retraction published *Diabetes*. 2017 Jun;66(6):1729-1730)
- Sonagra, A. D., Biradar, S. M., Dattatreya, K., y DS, J. M. (2014). Normal pregnancy - a state of insulin resistance. *J. Clin. Diagn. Res.*, 8(11), CC01.
- Sotak, S., Felsoci, M., Lazurova, I., & Habalova, V. (2018). Type II deiodinase polymorphism: A potential risk factor of type 2 diabetes mellitus. *Bratislavske lekarske listy*, 119(12), 790–792. https://doi.org/10.4149/BLL_2018_144
- Speakman, J. R. (2015). The 'Fat Mass and Obesity Related' (FTO) Gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. *Curr. Obes. Rep.* 4 (1), 73–91. doi:10.1007/s13679-015-0143-1
- Stratigopoulos, G., Padilla, S. L., LeDuc, C. A., Watson, E., Hattersley, A. T., McCarthy, M. I., et al. (2008). Regulation of Fto/Ftm Gene Expression in Mice and Humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 294 (4), R1185–R1196. doi:10.1152/ajpregu.00839.2007
- Sweeting, A. N., Wong, J., Appelblom, H., Ross, G. P., Kouru, H., Williams, P. F., Sairanen, M., & Hyett, J. A. (2019). A Novel Early Pregnancy Risk Prediction

Model for Gestational Diabetes Mellitus. Fetal diagnosis and therapy, 45(2), 76–84. <https://doi.org/10.1159/000486853>

Tarnowski, M., Bujak, J., Kopytko, P., Majcher, S., Ustianowski, P., Dzieziejko, V., et al. (2018). Effect of FTO and IGF2BP2 Gene Polymorphisms on Duration of Pregnancy and Apgar Scores in Women with Gestational Diabetes. *J. Obstet. Gynaecol.* 39 (2), 1–6. doi:10.1080/01443615.2018.1502263

Taşkin, E., & Eroğlu, S. (2021). rs7903146 mutation of Type 2 diabetes mellitus-related gene TCF7L2 is not associated with polycystic ovary syndrome in a cohort of Turkey. *Revista da Associação Médica Brasileira (1992)*, 67(8), 1130–1136. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20210509>

Teede, H. J., Harrison, C. L., Teh, W. T., Paul, E. and Allan, C. A. (2011). Gestational diabetes: Development of an early risk prediction tool to facilitate opportunities for prevention. *Aust. New Zeal. J. Obstet. Gynaecol.* 51 499–504.

Tuffnell, D. J., West, J., & Walkinshaw, S. A. (2003). Treatments for gestational diabetes and impaired glucose tolerance in pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. doi:10.1002/14651858.cd003395

Wang, B., & Xue, X. (2020). Investigations of Associations between Seven Gene Polymorphisms and Gestational Diabetes Mellitus: Evidence From a Meta-Analysis. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 1–8. doi:10.1159/000505453

Wang, L., Yi, Q., Yao, H., He, L., Fang, B., Xu, W., Su, Y., Liu, J., & Ma, Q. (2021). Correlations between FTO Gene Polymorphisms and TSH Level in Uyghur Chinese Patients with Type 2 Diabetes. *BioMed research international*, 2021, 6646750. <https://doi.org/10.1155/2021/6646750>

Wang, X., Yang, T., Miao, J., Liu, H., Wu, K., Guo, J., Chen, J. y Li, T. (2018). Correlation Between Maternal and Fetal Insulin Resistance in Pregnant Women with Gestational Diabetes Mellitus. *Clin. Lab.*, 64(6), 945-953.

- Wu, L., Cui, L., Tam, W. H., Ma, R. C., & Wang, C. C. (2016). Genetic variants associated with gestational diabetes mellitus: a meta-analysis and subgroup analysis. *Scientific reports*, 6, 30539. <https://doi.org/10.1038/srep30539>
- Yang, S., Shi, F. T., Leung, P. C., Huang, H. F., & Fan, J. (2016). Low Thyroid Hormone in Early Pregnancy Is Associated With an Increased Risk of Gestational Diabetes Mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 101(11), 4237–4243. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1506>
- Zhang, C., Bao, W., Rong, Y., Yang, H., Bowers, K., Yeung, E., & Kiely, M. (2013). Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Human reproduction update*, 19(4), 376–390. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmt013>
- Zhang, C., Rawal, S. y Chong, Y. S. (2016). Risk factors for gestational diabetes: is prevention possible?. *Diabetologia*, 59(7), 1385-1390.
- Zhang, M., Zhang, Y., Ma, J., Guo, F., Cao, Q., Zhang, Y., et al. (2015). The Demethylase Activity of FTO (Fat Mass and Obesity Associated Protein) Is Required for Preadipocyte Differentiation. *PLoS One* 10 (7), e0133788. doi:10. 1371/journal.pone.0133788
- Zhang, X., Sun, J., Han, W., Jiang, Y., Peng, S., Shan, Z., & Teng, W. (2016). The Type 2 Deiodinase Thr92Ala Polymorphism Is Associated with Worse Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of diabetes research*, 2016, 5928726. <https://doi.org/10.1155/2016/5928726>
- Zhao, X., Yang, Y., Sun, B. F., Shi, Y., Yang, X., Xiao, W., et al. (2014a). FTO-dependent Demethylation of N6-Methyladenosine Regulates mRNA Splicing and Is Required for Adipogenesis. *Cel. Res.* 24 (12), 1403–1419. doi:10.1038/cr.2014.151

- Zhao, X., Yang, Y., Sun, B. F., Zhao, Y. L., and Yang, Y. G. (2014b). FTO and Obesity: Mechanisms of Association. *Curr. Diab. Rep.* 14 (5), 486. doi:10.1007/s11892-014-0486-0
- Zheng, T., Ye, W., Wang, X., Li, X., Zhang, J., Little, J., Zhou, L. and Zhang, L. (2019). A simple model to predict risk of gestational diabetes mellitus from 8 to 20 weeks of gestation in Chinese women. *BMC Pregnancy Childb.* 19 1–10.
- Zhou, Y., Park, S. Y., Su, J., Bailey, K., Ottosson-Laakso, E., Shcherbina, L., Oskolkov, N., Zhang, E., Thevenin, T., Fadista, J., Bennet, H., Vikman, P., Wierup, N., Fex, M., Rung, J., Wollheim, C., Nobrega, M., Renström, E., Groop, L., & Hansson, O. (2014). TCF7L2 is a master regulator of insulin production and processing. *Human molecular genetics*, 23(24), 6419–6431. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu359>

12 ANEXOS

12.1 Anexo N°1: Ficha clínica Proyecto FONDECYT 11170710

I. Datos Personales de la paciente

Nombre completo:		Edad:
RUT:	Fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa):	
Semanas de gestación al ingreso:	Pertenece a alguna etnia: SI__ NO__ ¿Cuál? a- Aymara b- Quechua c- Atacameño d- Colla e- Diaguita f- Rapanui g- Mapuche h- Yagán i- Kawésqar j- Otro: _____	
Fecha de ingreso al proyecto:	Nacionalidad:	
CESFAM donde se atiende:	Estado civil:	
Correo electrónico:		Fono:
Probable Establecimiento de salud para el trabajo de Parto:		
ID:		

Historial obstétrico:

Estatura (mts):	Peso al ingreso (Kg):		
Presión arterial (mmHg): /	¿Es su primer embarazo? SI__ NO__		
¿Cuántos embarazos ha tenido?			
¿Consume algún suplemento vitamínico (Por ej: Hierro, Calcio, Vitamina D, Vitamina B12, etc) durante el embarazo? SI__ NO__			
¿Cuál?			
¿Está recibiendo algún medicamento para el tratamiento de alguna patología tiroidea? SI__ NO__			
¿Cuál?	1er trimestre	2do trimestre	3er trimestre
a- Levotiroxina	a-	a-	a-
b- Thyrozol	b-	b-	b-
c- Otro: _____	c-	c-	c-
¿Ha padecido usted de hiperémesis (vómitos excesivos durante el embarazo)?			
1er trimestre	SI__		NO__
2do trimestre	SI__		NO__
3er trimestre	SI__		NO__
Sangrado vaginal:			
1er trimestre	SI__		NO__
2do trimestre	SI__		NO__
3er trimestre	SI__		NO__
Uso de cigarrillo:	SI__		NO__
*Frecuencia:			
Consumo de alcohol:	SI__		NO__
*Frecuencia:			
Otras drogas (ej: marihuana/cocaína/crack/OTROS):			
Especificar:			
*Frecuencia:			
<i>*Indicar la frecuencia para cada uno.</i>			

Diagnóstico de Diabetes Mellitus Gestacional:		
- 2do trimestre	SI__	NO__
Tipo de terapia: _____		
- 3er trimestre	SI__	NO__
Tipo de terapia: _____		

II. Previo al embarazo:

Uso de cigarrillo: *Frecuencia:	SI__	NO__
Consumo de alcohol: *Frecuencia:	SI__	NO__
Otras drogas (ej: marihuana/cocaína/crack/OTROS): Especificar: *Frecuencia:	SI__	NO__

III.a. Si tuvo embarazos previos:

¿Sufrió alguna complicación en el embarazo?	SI__	NO__	*Si responde "SI", especificar
a- Hipertensión			
b- Preeclampsia			
c- Eclampsia			
d- HELLP			
e- Rotura temprana de membrana			
f- Diabetes gestacional			
g- Restricción de crecimiento intrauterino			
h- Colestasia/Colestasis intrahepática del embarazo			
i- Otro:			_____

¿Tuvo alguna vez usted un embarazo no viable? SI__ NO__ *Si responde

“SI”, especificar

Indique la posible causa:

- a- Hipertensión
- b- Preeclampsia
- c- Eclampsia
- d- HELLP
- e- Placenta abrupta
- f- Diabetes gestacional no tratada
- g- Malformación congénita
- h- Síndrome de Down

i- Otro:

II.b. Historial de fertilidad:

¿Tuvo o tiene usted problemas de fertilidad? SI__ NO__

**Se entiende por problemas de fertilidad, cuando la paciente lleva más de 12 meses intentando quedar embarazada pero no sucede.*

¿Padece o padeció de Síndrome de ovario poliquístico? Sí__
No__

Edad aproximada de diagnóstico: _____

II.c. Historial Ginecológico:

Edad aproximada en que tuvo su primera menstruación:

Fecha de la Última Regla (FUR):

III. Antecedentes Mórbidos

III.a. Historial personal:

¿Padece alguna enfermedad? (encierre en un círculo la(s) alternativa(s) que corresponda(n))

- a- Hipertensión
- b- Enfermedad renal
- c- Anemia
- d- Diabetes Mellitus tipo 1
- e- Diabetes Mellitus tipo 2
- f- Lupus
- g- Hipotiroidismo
- h- Hipertiroidismo
- i- Artritis reumatoide
- j- Asma
- k- Otra

(especifique cual):

III.b. Historial familiar:

¿Algún familiar directo (padre, madre, hermanos), padece de alguna enfermedad crónica?

SI__ NO__

Marcar más de una alternativa si es necesario.

- a- Hipertensión
- b- Infarto al miocardio
- c- Infarto cerebrovascular
- d- Trombosis
- e- Diabetes mellitus tipo 1
- f- Diabetes mellitus tipo 2
- g- Hipotiroidismo
- h- Hipertiroidismo
- i- Lupus

j- Otra:

12.2 Anexo N°2: Consentimiento informado.



INFORMACION AL PARTICIPANTE Y CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACION

CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL TIROIDEO DURANTE EL EMBARAZO: ASOCIACIÓN CON DIABETES GESTACIONAL, ALTERACIÓN DEL METABOLISMO TIROIDEO EN LA PLACENTA Y PERFIL TIROIDEO NEONATAL

INVESTIGADOR RESPONSABLE: Dr. Enrique Guzmán Gutiérrez

CENTRO DE INVESTIGACION: Centro de Salud Familiar Víctor Manuel Fernández
Centro de Salud Familiar Santa Sabina
Centro de Salud Familiar Juan Soto Fernández
Centro de Salud Familiar O'Higgins
Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Guillermo Grant Benavente, Concepción

TELÉFONO DE CONTACTO DEL DR. ENRIQUE GUZMAN 24 HORAS: +56 951203525

PATROCINADOR: Universidad de Concepción con un cofinanciamiento del Fondo para el Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) código 11170710.

Estimada participante:

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar, o no, en una investigación a la cual se le invita. En esta investigación se va a evaluar el efecto de las hormonas tiroideas durante el embarazo y si estos se relacionan con la aparición de diabetes gestacional, debido a que es una de las principales patologías del embarazo que afectan a nivel nacional. En particular, nuestro país tiene una de las tasas de incidencia más altas, afectando alrededor de un 15% de los embarazos.

FUNDAMENTO Y RAZÓN POR LA QUE SE INVITA A LA PERSONA PARTICIPAR.

El promotor del estudio corresponde a la Universidad de Concepción. El trabajo de investigación plantea estudiar los niveles de las hormonas tiroideas, que se encargan de controlar la energía (o el metabolismo) en nuestro cuerpo, durante el embarazo y asociar esta información con (1) la aparición de Diabetes Gestacional, enfermedad metabólica que aparece desde el segundo trimestre del embarazo que afecta a la madre como al feto en crecimiento, (2) cambios en la expresión de proteínas de la placenta que regulan los niveles de las hormonas tiroideas, y (3) cambios en los niveles de hormonas tiroideas en sangre de cordón umbilical.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO VOLUNTARIO

Su participación en esta investigación es completamente libre y voluntaria. Usted tiene el derecho a retirar su consentimiento, y por tanto retirarse de esta investigación, en el momento que lo estime conveniente. Al hacerlo, usted no pierde ningún derecho como participante de esta institución y la calidad de la atención médica que se merece, no se verá afectada. Si usted retira su consentimiento, las muestras de sangre tanto suyas como las del cordón umbilical, y la placenta serán eliminadas, y la información obtenida no será utilizada.

Universidad de Concepción

Versión 2

Fecha: 09-08-2018



DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO:

Para poder participar de esta investigación usted deberá ser atendida en alguno de los siguientes Centros de Salud Familiar (CESFAM) de la comuna de Concepción: O'Higgins, Juan Soto Fernandez, Santa Sabina o Víctor Manuel Fernandez.

Si usted acepta participar en este proyecto de investigación se le realizará lo siguiente:

En primer lugar, durante el primer, segundo y tercer trimestre del embarazo, es decir en 3 oportunidades, se procederá a tomar una muestra de sangre (3 ml, un volumen similar a una cucharita de té) en la unidad de toma de muestra de su CESFAM de procedencia, el cual será utilizado para determinar su perfil tiroideo completo (niveles de TSH, T3 y T4 libre, T3 y T4 total, y TBG), además de obtener otros antecedentes como edad, presión arterial, peso, talla, y glicemia. La finalidad de esta etapa es determinar si usted posee alguna patología tiroidea y si esta se asocia con la aparición de diabetes gestacional.

Al finalizar el embarazo, y posterior al parto, se obtendrá su placenta (quien cumple la labor de entregar los nutrientes y eliminar los desechos del feto durante el embarazo, pero que es eliminado posterior al parto), que será utilizada para obtener las células que permitieron el intercambio de nutrientes y hormonas, entre su sangre y el de su hijo(a) (células trofoblásticas humanas). De tal manera de permitir estudiar pequeñas moléculas que controlan el paso de las hormonas tiroideas (denominadas deiodinasas y transportadores de hormonas tiroideas). Este procedimiento es muy importante para determinar si su placenta se adaptó a los cambios hormonales generados durante su embarazo.

Finalmente, después del parto y desde el cordón umbilical, que corresponde a la porción de la placenta que permite llevar la sangre desde la placenta al feto y viceversa, se obtendrán 3ml de sangre para determinar el perfil tiroideo de su hijo. Finalmente, desde su ficha clínica obtendremos los últimos antecedentes relevantes tanto suyos como de su bebé (Altura/peso al nacer, sexo, edad gestacional). De esta manera, será posible determinar si los cambios hormonales que se generaron durante su embarazo generaron cambios en su hijo(a).

Las placentas serán guardadas en el laboratorio de Fisiología Vasculard de la Universidad de Concepción de forma anónima y bajo la responsabilidad del Dr. Enrique Guzmán (investigador responsable) y el Dr. Marcelo González (Colaborador). Para su tranquilidad, las muestras de sangre, tanto suyas como las de su hijo, y su placenta serán desechadas siguiendo la normativa de la Universidad de Concepción.

NÚMERO DE SUJETOS

La selección de los participantes se realizará de manera aleatoria. Considerando la prevalencia actual reportada para la diabetes gestacional (15%), y según las características de las embarazadas en la comuna de Concepción, se estima un total de 140 embarazadas.

DURACIÓN ESPERADA del estudio y de la participación del voluntario.

El estudio tiene una duración de 3 años. Su participación en esta investigación será de 9 meses, en los cuales se va a llevar a cabo una charla explicativa de la investigación, la posterior toma de muestras de las participantes del estudio, la toma de muestra no durará más de 5 minutos y se llevará a cabo durante su control de rutina. La muestra de sangre de cordón umbilical como la placenta serán recolectadas posterior al parto.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACION

El estudio no ofrece beneficios monetarios directos para usted si participa en el estudio, sin embargo, los resultados obtenidos de sus muestras de sangre y de su hijo, le serán entregados en dos copias, una a usted, y otra a su médico tratante, en su CESFAM respectivo. Además, obtendrá como beneficio directo, el estudio de su perfil tiroideo completo. Pero además, los resultados de este estudio contribuirán al conocimiento científico y a la realización de futuros estudios.

Riesgos: La punción venosa en su brazo, podría en algunos casos generar enrojecimiento de la piel o hematoma (color morado de la piel), pero que se recupera normalmente entre 5 a 7 días después de la punción. Además, la utilización de su placenta y cordón umbilical no involucra ningún riesgo para su hijo(a) o

Universidad de Concepción

Versión 2

Fecha: 09-08-2018



para usted, ya que el cordón umbilical y la placenta son tejidos que normalmente se desechan después del parto.

Su participación no tiene ningún costo económico para usted. Todos los costos de la investigación serán asumidos por el investigador, esto es: Procedimiento de toma de muestra, 3 Perfiles tiroideos maternos durante el embarazo; y 1 perfil tiroideo de su hijo(a) desde sangre de cordón. Sin embargo, los costos asociados a los controles de embarazo y al parto son de su responsabilidad, y de su seguro de salud.

CONFIDENCIALIDAD

Los datos personales obtenidos de cada participante, estarán resguardados bajo un código interno, para así evitar cualquier difusión de su información personal.

COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de laboratorio obtenidos serán informados a usted y a su médico tratante exclusivamente. El resto de la información obtenida se mantendrá en forma confidencial. Es posible que los resultados obtenidos sean presentados en revistas y conferencias médicas, sin embargo, sus datos personales (nombres, información de contacto, etc.) o familiares no serán en ningún caso divulgados.

Se informarán todos los hallazgos nuevos e importantes que salgan a la luz durante la realización de la investigación que puedan afectar su voluntad de seguir participando en el estudio.

Los datos obtenidos solo se utilizarán para este estudio. En caso de modificaciones importantes del diseño de estudio que la afecten o requerir los datos para otro estudio se le solicitará un nuevo consentimiento.

Si tiene preguntas acerca de esta investigación médica puede contactar o llamar al Dr. Enrique Guzmán G., Investigador Responsable del estudio, al teléfono +56 951203525, o al correo: enrique.guzman@uss.cl. Si tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en una investigación médica, usted puede llamar a la Dra. María Antonia Bidegain S., Presidente del Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción, Ubicado en San Martín 1436, Concepción, al teléfono 41- 2722745; o también al Comité de Ética, Bioética y Bioseguridad de la Dirección de Investigación y Creación Artística de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo de la Universidad de Concepción, a través de su presidente, Dr. Ronald Mennickent C., cuyo teléfono es 41-2204302.

Universidad de Concepción
Versión 2
Fecha: 09-08-2018





HOJA DE FIRMAS DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL TIROIDEO DURANTE EL EMBARAZO: ASOCIACIÓN CON DIABETES GESTACIONAL, ALTERACIÓN DEL METABOLISMO TIROIDEO EN LA PLACENTA Y PERFIL TIROIDEO NEONATAL

ANTES DE FIRMAR CONFIRMO QUE:

- Mis preguntas han sido respondidas a mi entera satisfacción y considero que comprendo toda la información proporcionada acerca del estudio.
- He sido informado en forma previa a la intervención, que los procedimientos que se realicen, no implican un costo que yo deba asumir. Junto a ello he recibido una explicación satisfactoria sobre el propósito de la actividad.
- Acepto que mi información médica de la ficha clínica y de mis muestras sea recopilada, utilizada y divulgada conforme a lo descrito en esta información escrita para mí y formulario de consentimiento informado.
- Estoy en pleno conocimiento que la información obtenida con la actividad en la cual participaré, será absolutamente confidencial, y que no aparecerá mi nombre ni mis datos personales en libros, revistas y otros medios de difusión derivadas de la investigación ya descrita.
- He decidido libre y voluntariamente participar en el estudio de investigación y que entiendo que puedo retirarme en cualquier momento sin sanción alguna
- Sé que recibiré una copia firmada y fechada de este documento.
- Sé que, al firmar este documento, no renuncio a ninguno de mis derechos legales.

Nombre del participante en letra imprenta	Firma del participante	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
---	------------------------	--------------------------------

Yo, el que suscribe, investigador, confirmo que he entregado verbalmente la información necesaria acerca del estudio, que he contestado toda duda adicional y que no ejercí presión alguna para que el participante ingrese al estudio.

Declaro que procedí en completo acuerdo con los principios éticos descritos en las Directrices de GCP (Buenas Prácticas Clínicas) y otras leyes nacionales e internacionales vigentes.

Se le proporcionará a la participante una copia de esta información escrita para el participante y formulario de consentimiento firmado.

Nombre de la persona que solicita el consentimiento informado en letra imprenta	Firma de la persona que solicita el consentimiento informado	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
---	--	--------------------------------

Nombre del director de la institución (o delegado de la institución, si corresponde)	Firma del Director o Delegado de la institución, si corresponde	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
--	---	--------------------------------

Universidad de Concepción
Versión 2
Fecha: 09-08-2018

