

[Volver al Convenio](#) |
 [Firma de Convenio](#) |
 [Firmas del Convenio](#)

le Convenio

0017

000000000177624

[Personalizar](#) |
 [Buscar](#) |
 [Primero](#) |
 1-6

<u>Solicitud</u>	<u>Descripción</u>	<u>Código de Responsable</u>	<u>Firma</u>	<u>Fecha/Hora de firma</u>	<u>R</u>
000000000177624	RAYGOZA RENDÓN, KARLA	S. Admin.	<input type="checkbox"/>	05/12/2012 14:05:53	<input type="checkbox"/>
000000000177624	FABILA CASTILLO, LUIS HUMBERTO	S. Tecnic.	<input type="checkbox"/>	03/12/2012 11:35:44	<input type="checkbox"/>
000000000177624	MORIMOTO MARTINEZ, LIDYA SUMIKO	R. Técnico	<input type="checkbox"/>	21/11/2012 13:06:15	<input type="checkbox"/>
000000000177624	KERSHENOBICH STALNIKOWITZ, DAVI	R. Legal	<input type="checkbox"/>	30/11/2012 12:48:53	<input type="checkbox"/>
000000000177624	ARREDONDO URZUA, MARTHA	R. Admvo.	<input type="checkbox"/>	21/11/2012 11:17:00	<input type="checkbox"/>
000000000177624	ALMAZÁN AGUILERA, SUSANA	RC	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

[Volver a Buscar](#) |
 [+1 Siguiente en Lista](#) |
 [-1 Anterior en Lista](#) |
 [Notificar](#)

[Volver al Convenio](#) |
 [Firma de Convenio](#) |
 [Firmas del Convenio](#) |
 [Anexo y/o modificatorios](#)

Observaciones al Convenio

Firma de Convenio

Firmas del Convenio 

Observaciones al Convenio

Fondo 10017
Solicitud 000000000177624
Status 001 Envió de Comentario

[Mostrar Convenio](#)[Enviar Observaciones](#)[Visto Bueno](#)[Imprimir en Papel](#)

CONVENIO DE ASIGNACIÓN DE RECURSOS

I010/176/2012

MOD.ORD.27/2012

CB-2012-01
000000000177624

CONVENIO DE ASIGNACIÓN DE RECURSOS QUE CELEBRAN POR UNA PARTE NACIONAL FINANCIERA, S.N.C., FIDUCIARIA DEL FIDEICOMISO DENOMINADO "FONDO SECTORIAL DE INVESTIGACIÓN PARA LA EDUCACIÓN", AL QUE EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARÁ EL "FONDO", REPRESENTADO EN ESTE ACTO POR LA LIC. KARLA RAYGOZA RENDÓN, QUIEN ES TAMBIÉN SECRETARIA ADMINISTRATIVA DEL COMITÉ TÉCNICO Y DE ADMINISTRACIÓN DEL "FONDO", ASISTIDA EN ESTE ACTO POR EL DR. LUIS HUMBERTO FABILA CASTILLO, EN SU CARÁCTER DE SECRETARIO TÉCNICO DEL COMITÉ TÉCNICO Y DE ADMINISTRACIÓN DEL "FONDO"; Y POR OTRA PARTE EL/LA INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN, A QUIÉN EN LO SUCESIVO SE LE DENOMINARÁ EL "SUJETO DE APOYO", REPRESENTADO EN ESTE ACTO POR EL/LA DR. DAVID KERSHENOBICH STALNIKOWITZ EN SU CALIDAD DE REPRESENTANTE LEGAL, INSTRUMENTO QUE SUJETAN AL TENOR DE LOS ANTECEDENTES, DECLARACIONES Y CLÁUSULAS SIGUIENTES:

ANTECEDENTES

1. Uno de los objetos primordiales de la Ley de Ciencia y Tecnología (LCyT), contenido en su artículo 1º, consiste en regular los apoyos que el Gobierno Federal se encuentra obligado a otorgar, para impulsar, fortalecer y desarrollar la investigación científica y tecnológica en el país, así como para determinar los instrumentos jurídicos, financieros y administrativos, mediante los cuales cumplirá con esta obligación de apoyo.
2. La Ley Orgánica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología dispone, en su artículo 13 que la canalización de recursos por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, en adelante el "CONACYT", a programas, proyectos, estudios, investigaciones específicas, otorgamiento de becas en sus diferentes modalidades y cualquier otro apoyo o ayuda de carácter económico que convenga o proporcione, estará siempre sujeta a la celebración de un contrato o convenio, según

sea el caso.

3. El "**CONACYT**" con base en las atribuciones legales de que dispone y de conformidad con los lineamientos establecidos en el Plan Nacional de Desarrollo (PND) y en el Programa Especial de Ciencia, Tecnología e Innovación (PECITI), cuyas líneas estratégicas establecen el apoyo a la Ciencia, la Tecnología y la Innovación como elementos de desarrollo del país y el bienestar de la sociedad en su conjunto, tuvo a bien expedir las Reglas de Operación de los Programas del "**CONACYT**", dentro de las cuales se incluyen las relativas a los Programas de Fomento a la Investigación Científica y de Fomento a la Innovación y al Desarrollo Tecnológico, así como el subprograma de Ciencia Básica aprobado por la Junta de Gobierno del "**CONACYT**" en su XIII Sesión Ordinaria celebrada en el mes de julio de 2005, el cual contempla dentro de sus objetivos el brindar apoyo al desarrollo de proyectos de investigación básica que contribuyan a incrementar el conocimiento científico en general, ampliar las fronteras del conocimiento, mejorar la calidad de la educación en ciencia y tecnología, fortalecer los postgrados y ampliar la infraestructura científica y tecnológica nacional.
4. Con fecha 4 de diciembre de 2002, la Secretaría de Educación Pública y el "**CONACYT**", con fundamento en los artículos 15, fracción II, 17 y 18 de la Ley para el Fomento de la Investigación Científica y Tecnológica, actualmente 23, fracción II, 25 y 26 de la LCyT, celebraron un Convenio para establecer el "**FONDO**".
5. El Convenio de Colaboración celebrado entre la Secretaría de Educación Pública y el "**CONACYT**" para establecer el "**FONDO**" fue modificado con fecha 21 de septiembre de 2009, con el objeto de ampliar la vigencia de dicho instrumento y actualizarlo para continuar la operación del "**FONDO**".
6. El "**FONDO**" en términos del artículo 25, fracción II de la LCyT, considera como sujetos de apoyo a las Universidades e Instituciones de Educación Superior, públicas y particulares, centros, laboratorios, empresas públicas y privadas y demás personas que se inscriban en el **Registro Nacional de Instituciones y Empresas Científicas y Tecnológicas (RENIECYT)**, los cuales son elegidos mediante concurso y bajo las modalidades que expresamente determine el **Comité Técnico y de Administración** con apego a las Reglas de Operación del Fideicomiso y según la Convocatoria de Investigación Científica Básica 2012.
7. Con el fin de ajustar la operación y administración del "**FONDO**", el Comité Técnico y de Administración en su Décimo Octava Reunión Ordinaria, de fecha 15 de diciembre del 2011, mediante acuerdo número **06-SORD18-11** aprobó modificaciones a las Reglas de Operación del "**FONDO**", lo que hace necesario ajustar el "**CONTRATO**".
8. En razón de lo anterior, el 15 de junio de 2012, se firmó el Segundo Convenio Modificatorio al Contrato del Fideicomiso del "**FONDO**" celebrado por el "**CONACYT**", en su calidad de Fideicomitente; y por otra parte, como la Institución Fiduciaria, Nacional Financiera, S.N.C., el cual tiene por objeto la modificación de las Cláusulas Sexta, Séptima, Octava, Novena, Décima, Décima Primera y Décima Segunda, Décima Cuarta, Décima Séptima y Vigésima Segunda del "**CONTRATO**".
9. El **Comité Técnico y de Administración**, previo proceso de evaluación a que se refieren las Reglas de Operación del "**FONDO**", en su Sesión Ordinaria número 19 de fecha 26 de junio de 2012, mediante Acuerdo número **16-SORD19-12**, autorizó la canalización de recursos a favor del "**SUJETO DE APOYO**", por un monto de \$1,971,000.00 (**UN MILLON NOVECIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS 00/100 MN**), para el desarrollo del proyecto denominado ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA SECRECIÓN DE INSULINA ESTIMULADA POR GLUCOSA EN CRÍAS DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA BAJA EN PROTEÍNAS DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: POSIBLES MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS., en lo sucesivo el "**PROYECTO**".

DECLARACIONES

I. El "FONDO" a través de su representante declara que:

- A. Con fecha 27 de diciembre del 2002, el "CONACYT" en su calidad de Fideicomitente, celebró con Nacional Financiera, S.N.C., en su calidad de Institución Fiduciaria, el Contrato de Fideicomiso del "FONDO", en lo sucesivo el "CONTRATO", cuya finalidad fundamental es la canalización de recursos para la realización de investigaciones científicas o tecnológicas, innovación y desarrollos tecnológicos, formación de recursos humanos especializados, becas, divulgación científica y tecnológica, creación y fortalecimiento de grupos o cuerpos académicos de investigación y desarrollo tecnológico y de la infraestructura de investigación y desarrollo que requiera el sector. Lo anterior, en el marco de los programas que el **Comité Técnico y de Administración** apruebe.
- B. El Contrato de Fideicomiso del "FONDO" celebrado entre el "CONACYT" y Nacional Financiera, S.N.C., fue modificado el 21 de septiembre de 2009, para ampliar la vigencia de dicho instrumento y actualizarlo con el fin de continuar con la operación del "FONDO".
- C. La Secretaría de Educación Pública, con fecha 1° de noviembre de 2010, designó a la Lic. Karla Raygoza Rendón como **Secretaria Administrativa** del "FONDO" con los derechos y obligaciones contenidos en el "CONTRATO" y en sus Reglas de Operación.
- D. El **Comité Técnico y de Administración** del "FONDO", en su sesión número 16 de fecha 17 de diciembre de 2010, instruyó a la Fiduciaria el otorgamiento del poder por virtud del cual comparece a la celebración del presente Convenio.
- E. Nacional Financiera S.N.C., en su calidad de Institución Fiduciaria y en cumplimiento a lo dispuesto en el inciso que antecede, le otorgó a la Lic. Karla Raygoza Rendón, poder general para pleitos y cobranzas, actos de administración y para cubrir y manejar cuentas bancarias, mismo que se hizo constar en el testimonio de la escritura pública número 119209 de fecha 27 enero de 2011, otorgada ante la fe del Lic. José Ángel Villalobos Magaña, Notario Público número 9 del Distrito Federal.
- F. Tiene establecido su domicilio en Avenida Insurgentes Sur número 1971, Torre IV, piso 6, Colonia Guadalupe Inn, Delegación Álvaro Obregón, México, Distrito Federal, C.P. 01020, mismo que señala para los fines y efectos legales de este Convenio.

II. El "SUJETO DE APOYO" a través de su representante declara que:

- A. Es un organismo público descentralizado, con personalidad jurídica y patrimonio propios, de conformidad con lo dispuesto en los artículos 3, 9 y 45 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 2, 14 y 15 de la Ley Federal de las Entidades Paraestatales; 1, 5 fracción III; 9 fracción III de la Ley de los Institutos Nacionales de Salud, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26 de mayo de 2000; 3 fracciones I, II, XIV; 34 fracción I del Estatuto Orgánico del Instituto, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 20 de Octubre de 2009.
- B. El (la) DR. DAVID KERSHENOBICH STALNIKOWITZ cuenta con las facultades para suscribir el presente Convenio, tal y como se desprende de la escritura pública número 137232, de fecha 21 de junio de 2012, pasada ante la fe del LIC. IGNACIO SOTO BORJA, Notario Público número 129, del DISTRITO FEDERAL, MÉXICO, D. F.; manifestando que a la fecha de firma del presente instrumento, sus facultades no le han sido revocadas ni modificadas en forma alguna

- C. El Registro Federal de Contribuyentes inscrito en la Secretaría de Hacienda y Crédito Público es INC710101RH7.
- D. En atención a la Convocatoria 2012, presentó a concurso la propuesta denominada: "ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA SECRECIÓN DE INSULINA ESTIMULADA POR GLUCOSA EN CRÍAS DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA BAJA EN PROTEÍNAS DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: POSIBLES MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS.", con clave número 000000000177624, de la que se derivó el "PROYECTO", mismo que se relaciona en el Antecedente 9, que forma parte del objeto del presente Convenio.
- E. Tiene establecido su domicilio en VASCO DE QUIROGA EXT/INT 15, SECCIÓN XVI, TLALPAN, C.P. 14000, MÉXICO, DISTRITO FEDERAL, mismo que señala para los fines y efectos legales de este Convenio.
- F. En cumplimiento a lo dispuesto por los artículos 16, 17 y 25, fracción II de la LCyT, se encuentra inscrito en el Registro Nacional de Instituciones y Empresas Científicas y Tecnológicas (RENIECYT) a cargo del "CONACYT", tal y como se acredita con la constancia de inscripción número 006.

III. Declaración Conjunta:

ÚNICA. Las partes expresamente manifiestan su conocimiento al contenido de lo dispuesto por el artículo 12, fracción II de la LCyT que a la letra dice: "Los resultados de las actividades de investigación, desarrollo tecnológico e innovación que sean objeto de apoyos en términos de esta Ley serán invariablemente evaluados y se tomarán en cuenta para el otorgamiento de apoyos posteriores".

Expuesto lo anterior, las partes se obligan de acuerdo con las siguientes:

CLÁUSULAS

PRIMERA. OBJETO

El objeto del presente Convenio consiste en canalizar los recursos asignados por el "FONDO" en favor del "SUJETO DE APOYO", para la realización del "PROYECTO" aprobado, denominado ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA SECRECIÓN DE INSULINA ESTIMULADA POR GLUCOSA EN CRÍAS DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA BAJA EN PROTEÍNAS DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: POSIBLES MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS., cuya responsabilidad de ejecución y correcta aplicación de los recursos, queda, desde este momento, plenamente asumida por el "SUJETO DE APOYO".

El objetivo del "PROYECTO" es Estudiar la expresión de los genes involucrados en la señalización de la secreción de insulina en respuesta a glucosa y sus posibles modificaciones epigenéticas (patrón de metilación y acetilación de histonas) en el páncreas de las crías de ratas con restricción proteínica dietaria durante la gestación y/o la lactancia.

Dado que el proceso de secreción de insulina en respuesta a glucosa es un proceso complejo que involucra desde el transporte de la glucosa y los cambios metabólicos que inducen cambios en la actividad eléctrica de las células beta y que resulta finalmente en la secreción de insulina, los genes propuestos a ser estudiados y que consideran las diferentes etapas del citado proceso son:

1. Que intervienen en el censado de glucosa en la célula beta: Glut 2 y glucocinasa

2.Los factores de transcripción clave para el funcionamiento de la célula beta madura:

Pdx1, MafA

3.El propio gen de la insulina

4.Las proteínas que forman el canal de potasio dependiente de ATP (K ATP) Kir 6.2 y Sur1

5.Otros factores que regulan la respuesta metabólica en función de cambios en la disponibilidad de nutrientes: Sirt1, SREBP-1c y UCP2.

El **"FONDO"** con cargo a su patrimonio, y en cumplimiento de los acuerdos tomados por el **Comité Técnico y de Administración**, y con sujeción a lo establecido en el presente Convenio, canaliza al **"SUJETO DE APOYO"** la cantidad total de **\$1,971,000.00 (UN MILLON NOVECIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS 00/100 MN)**.

SEGUNDA. ANEXOS

Los Anexos que forman parte integral del presente Convenio se componen por lo siguiente:

1. El **Anexo Uno** contiene el Desglose Financiero del **"PROYECTO"**.
2. El **Anexo Dos** contiene los objetivos, metas, actividades, entregables y plazos con los que se aprobó el **"PROYECTO"**.

Los Anexos sólo podrán ser modificados si para ello concurre la voluntad de las partes, mediante acuerdo por escrito.

TERCERA. OBLIGACIONES DEL "FONDO"

a) Canalizar al **"SUJETO DE APOYO"** los recursos económicos a que se refiere la Cláusula Primera de este instrumento, mismos que serán entregados en términos de lo presentado en la propuesta contenida en el **Anexo Uno**, a través de las ministraciones correspondientes a cada una de las etapas que conforman en su conjunto el **"PROYECTO"**.

b) Vigilar por conducto del **Secretario Técnico** la debida aplicación y adecuado aprovechamiento de los recursos económicos, efectivamente canalizados al **"SUJETO DE APOYO"**.

c) El **"FONDO"**, a través de los medios que considere pertinentes, podrá en cualquier momento realizar auditorías y/o practicar visitas de supervisión, con el propósito de constatar el grado de avance en el desarrollo de los trabajos y la correcta aplicación de los recursos canalizados al **"SUJETO DE APOYO"**.

CUARTA. OBLIGACIONES DEL "SUJETO DE APOYO"

a) El **"SUJETO DE APOYO"** se obliga a destinar bajo su más estricta responsabilidad los recursos económicos ministrados por el **"FONDO"**, exclusivamente a la realización del **"PROYECTO"**, de conformidad con lo dispuesto en el presente Convenio y los Anexos que forman parte integral del mismo.

b) El **"SUJETO DE APOYO"** queda expresamente obligado a proporcionar las facilidades necesarias para permitir el acceso a sus instalaciones, así como para mostrar la información técnica y financiera que le sea solicitada por el **"FONDO"**.

c)Rendir los informes a que hace referencia la Cláusula Quinta de este Convenio.

QUINTA. INFORMES

El "SUJETO DE APOYO" deberá presentar los informes respecto del avance del "PROYECTO", de conformidad con lo siguiente:

1. Informe Técnico al cierre de cada etapa conforme a las actividades establecidas en el Anexo Dos del "PROYECTO".
2. Informe Financiero acorde al Desglose establecido en el Anexo Uno del "PROYECTO".

Los Informes mencionados deberán contener los entregables comprometidos para esa etapa, la información de la aplicación de los recursos canalizados, y una valoración razonable sobre la viabilidad de alcanzar el objetivo del "PROYECTO" por parte del "SUJETO DE APOYO".

La recepción de los Informes como soporte, no implica la aceptación definitiva de los resultados, ya que serán debidamente evaluados tanto por el **Secretario Técnico** (Informe Técnico), como por la **Secretaria Administrativa** (Informe Financiero) respectivamente, para proceder a la entrega de la ministración correspondiente. En caso de que la evaluación sea positiva le será ministrada la siguiente etapa y de ser negativa los Secretarios antes mencionados procederán a requerir sea subsanada la irregularidad o en su caso, se suspenda o se cancele el apoyo.

Al término del "PROYECTO", el "SUJETO DE APOYO" deberá presentar al Secretario correspondiente un Informe Final Técnico y uno Financiero dentro de los 30 (treinta) días naturales contados a partir de la fecha de conclusión del "PROYECTO", en el Informe Final Financiero se incluirá la solicitud expresa del finiquito de los recursos económicos otorgados, considerando el debido cumplimiento del "PROYECTO" y que los recursos canalizados fueron utilizados única y exclusivamente para su desarrollo.

Para la expedición del Finiquito será indispensable que al término del "PROYECTO", el "SUJETO DE APOYO" reembolse al "FONDO" el remanente de los recursos económicos que no haya aplicado al desarrollo del "PROYECTO", en la cuenta que se determine para tal efecto.

De proceder los Informes Finales Técnico, Financiero y el Finiquito, el "FONDO" por conducto del **Secretario Técnico** y de la **Secretaria Administrativa** emitirán un dictamen respectivamente, en el que se contendrá la resolución de cierre del "PROYECTO", conforme a los criterios y procedimientos establecidos por el "FONDO".

El "SUJETO DE APOYO" deberá de guardar toda aquella información técnica-financiera que se genere y que estime relevante para realizar futuras evaluaciones sobre el "PROYECTO", durante un periodo de 5 (cinco) años posteriores a la conclusión de los apoyos otorgados por el "FONDO".

SEXTA. CANALIZACIÓN DE RECURSOS

El "FONDO" por conducto de la **Secretaria Administrativa**, canalizará los recursos al "SUJETO DE APOYO" en los términos establecidos en el Anexo Uno.

El "SUJETO DE APOYO" deberá presentar recibo institucional o factura según corresponda por cada una de las ministraciones.

Una vez liberada la primera ministración y a la conclusión de la primera etapa del

"PROYECTO", el "SUJETO DE APOYO" presentará el Informe Técnico y el Informe Financiero, a efecto de que se realice la ministración correspondiente al período siguiente y así sucesivamente, hasta la conclusión del "PROYECTO".

Dicha ministración se realizará siempre y cuando ambas evaluaciones sean favorables.

SÉPTIMA. ÁREAS DE COORDINACIÓN

La **Secretaría Administrativa** realizará el seguimiento financiero y administrativo del uso de los recursos del "FONDO" por el "SUJETO DE APOYO" en el "PROYECTO" aprobado.

El **Secretario Técnico** coordinará el seguimiento técnico del "PROYECTO" apoyado con los recursos del "FONDO" así como la evaluación de resultados del mismo.

El "SUJETO DE APOYO" designa a **DRA. LIDYA SUMIKO MORIMOTO MARTINEZ**, como Responsable Técnico del "PROYECTO", quien será el enlace con el **Secretario Técnico** del "FONDO" para los asuntos técnicos, teniendo como obligación principal la de coordinar el desarrollo del "PROYECTO", presentar el informe de cierre, y en general supervisar el fiel cumplimiento del presente Convenio.

En caso de ausencia temporal mayor a 90 (noventa) días naturales o definitiva del Responsable Técnico, el "SUJETO DE APOYO" deberá designar al sustituto, notificando de ello al **Secretario Técnico** del "FONDO", en un plazo que no excederá de 15 (quince) días naturales posteriores a que éste se ausente.

El "SUJETO DE APOYO" designa a **C.P. MARTHA ARREDONDO URZUA**, como Responsable Administrativo del "PROYECTO", quien auxiliará al Responsable Técnico en su función de enlace con la **Secretaría Administrativa** y tendrá como obligación directa el manejo de los recursos del apoyo económico canalizado al "SUJETO DE APOYO", así como los asuntos contables y administrativos del "PROYECTO".

En caso de ausencia temporal mayor a 90 (noventa) días naturales o definitiva del Responsable Administrativo, el "SUJETO DE APOYO" deberá designar al sustituto, notificando de ello a la **Secretaría Administrativa** del "FONDO", en un plazo que no excederá de 15 (quince) días naturales posteriores a que éste se ausente.

OCTAVA. CUENTA BANCARIA

El "SUJETO DE APOYO" deberá disponer de una cuenta de cheques, a través de la cual se le canalizarán las ministraciones correspondientes a cada etapa, misma que deberá ser notificada a la **Secretaría Administrativa** del "FONDO", debiendo estar a nombre del "SUJETO DE APOYO", la cual será operada mancomunadamente por el Responsable Técnico y el Responsable Administrativo a que se refiere la Cláusula anterior, únicamente para administrar los recursos canalizados al "PROYECTO", por lo que será necesario que la misma se encuentre acreditada ante el "FONDO", previamente a la entrega de la primera ministración.

En caso de que el "SUJETO DE APOYO" maneje cuentas concentradoras, deberá asignar una cuenta específica para el "PROYECTO" notificando de ello a la **Secretaría Administrativa**, a fin de que se acredite la misma.

En caso de que las cuentas de cheques o concentradoras generen rendimientos, estos deberán ser reintegrados al "FONDO" al término del "PROYECTO", a través de la cuenta que se determine para tal efecto.

Los recursos asignados al "PROYECTO" deberán permanecer en la cuenta específica del

mismo, hasta en tanto no sean ejercidos en términos de lo aprobado por el Comité Técnico y de Administración. Los recursos depositados en la cuenta no podrán transferirse a otras cuentas que no estén relacionadas con el objeto del proyecto.

Las ministraciones que se otorguen para la realización de los proyectos no formarán parte del patrimonio del "SUJETO DE APOYO", ni de su presupuesto.

Es obligación del Responsable Administrativo del "PROYECTO" cumplir con todos los requisitos administrativos y contables derivados del presente Convenio.

Asimismo, las aportaciones líquidas, concurrentes y/o complementarias se deberán depositar en la misma cuenta bancaria, para aplicarse en los rubros comprometidos de conformidad con las cantidades y conceptos aprobados que se detallan en el **Anexo Uno**, el cual forma parte integral del presente Convenio.

Las aportaciones líquidas, concurrentes y/o complementarias realizadas para el desarrollo del "PROYECTO" por el "SUJETO DE APOYO", previas a la formalización del presente instrumento, no se contabilizarán como aportaciones líquidas, concurrentes y/o complementarias del "SUJETO DE APOYO" para el desarrollo del mismo.

El "SUJETO DE APOYO" deberá abrir un sistema de registro contable de los movimientos financieros relativos al "PROYECTO", así como contar con un expediente específico para la documentación del mismo.

NOVENA. PROPIEDAD INDUSTRIAL Y/O DERECHOS DE AUTOR

Las partes convienen en que los Derechos de Propiedad Industrial y/o los Derechos de Autor que se generen como resultado del desarrollo del "PROYECTO", serán propiedad de la persona física o moral, a quien conforme a Derecho le correspondan, en el entendido de que el "FONDO" no tendrá interés jurídico sobre esos derechos.

El "SUJETO DE APOYO" estará obligado a informar por escrito al **Secretario Técnico** del "FONDO" sobre el estado que guarden los citados derechos y sobre las posibles implicaciones que ello represente para la viabilidad del "PROYECTO".

En las publicaciones o presentaciones que se realicen, derivadas o relacionadas con el resultado del "PROYECTO", el "SUJETO DE APOYO" deberá dar, invariablemente, el crédito correspondiente al "FONDO".

El "FONDO" se reserva el uso de los derechos de propiedad intelectual derivados del "PROYECTO" en aquellos casos en que exista un interés de Estado debidamente justificado, sujetándose a los términos y condiciones que se estipulen en el convenio correspondiente.

DÉCIMA. INFORMACIÓN RESERVADA

Las partes se comprometen a tratar como reservada toda la información intercambiada o acordada con motivo del presente instrumento y la necesaria para el desarrollo del "PROYECTO", excepto aquella que deba considerarse pública en términos de lo dispuesto en la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública Gubernamental, su Reglamento y demás disposiciones jurídicas aplicables.

DÉCIMA PRIMERA. ACCESO A LA INFORMACIÓN

El "SUJETO DE APOYO" se compromete a proporcionar la información del "PROYECTO" requerida por el **Sistema Integrado de Información sobre Investigación Científica y Tecnológica (SIICYT)** que opera el "CONACYT". Dicha información será publicada en su página de Internet, dando con ello cumplimiento a las disposiciones de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública Gubernamental.

Al término del "PROYECTO", el Responsable Técnico deberá entregar al **Secretario Técnico** los productos obtenidos con el desarrollo del mismo y se compromete a apoyar en el proceso de transferencia de tecnología, adopción, adaptación, asimilación, entre otros.

El "SUJETO DE APOYO" se compromete a reportar al **Secretario Técnico**, el impacto Científico y/o Tecnológico derivado del "PROYECTO" desarrollado.

DÉCIMA SEGUNDA. RESCISIÓN

El "FONDO" podrá rescindir el presente Convenio al "SUJETO DE APOYO", sin necesidad de declaración judicial previa ni de dar aviso por escrito, cuando éste incurra en alguno de los supuestos de incumplimiento que de manera enunciativa más no limitativa, a continuación se señalan:

a) Aplique los recursos canalizados por el "FONDO" con finalidades distintas a la realización directa del "PROYECTO".

b) No presente los Informes Técnicos y Financieros al cierre de cada etapa o no atienda las observaciones emitidas por las instancias de evaluación y seguimiento.

c) No presente los Informes Técnico y Financiero finales o no lo haga satisfactoriamente.

d) No brinde las facilidades de acceso a la información, o a las instalaciones donde se administra y desarrolla el "PROYECTO".

e) El estado del "PROYECTO" no guarde congruencia con los informes hasta ese momento presentados.

f) Por identificación de desviaciones no reportadas en la etapa de desarrollo correspondiente, por parte de los Responsables Técnico y/o Administrativo.

g) No compruebe la debida aplicación de los recursos canalizados para el "PROYECTO" cuando le sea expresamente requerido por el "FONDO".

h) Proporcione información o documentación falsa.

i) Retirar los recursos de la cuenta específica del "PROYECTO" para transferirlos a otras cuentas no relacionadas con el objeto del mismo.

j) Incurra en algún otro incumplimiento a este Convenio y a sus Anexos.

Cuando el "FONDO", ejercite el derecho contenido en la presente Cláusula, el "SUJETO DE APOYO" reembolsará el remanente de los recursos que le fueron canalizados en un plazo no mayor de 30 (treinta) días naturales, contados a partir del requerimiento escrito que se le formule para tales efectos, con independencia de que se haga acreedor a la sanción a que se refiere la Cláusula siguiente.

DÉCIMA TERCERA. INCUMPLIMIENTO

En aquellos casos en que el incumplimiento por parte del "SUJETO DE APOYO", a través de su Responsable Técnico, a las obligaciones que asume por virtud del presente Convenio, sea tan grave que impida continuar con el desarrollo del "PROYECTO" y el "SUJETO DE APOYO", a través de su Responsable Técnico, no subsane el incumplimiento, el "FONDO" procederá a cancelar el apoyo, y el Responsable Técnico del "PROYECTO" dejará de ser beneficiario de los apoyos que otorga el Gobierno Federal en esta materia, pudiendo tomarse en cuenta este incumplimiento para la participación futura de apoyos de los programas del "CONACYT", incluyendo los diversos Fondos regulados en la LCyT.

DÉCIMA CUARTA. CASO FORTUITO Y/O FUERZA MAYOR

En el supuesto de que por causas de fuerza mayor no pueda terminarse el "PROYECTO", el "SUJETO DE APOYO" deberá notificar al "FONDO" las causas por las que no se puede concluir, debiendo reembolsar en la cuenta que para tal efecto se determine, el remanente de los recursos económicos, que en su caso no hayan aplicado "PROYECTO", en un plazo no mayor a 15 (quince) días naturales contados a partir de la notificación correspondiente.

DÉCIMA QUINTA. TERMINACIÓN ANTICIPADA

El "FONDO" podrá dar por terminado de manera anticipada el presente Convenio, cuando a su juicio existan circunstancias que impidan continuar con el desarrollo del "PROYECTO", previa notificación por escrito que se haga al "SUJETO DE APOYO" con una anticipación mínima de 5 (cinco) días naturales.

En el supuesto de terminación anticipada del presente Convenio, el "SUJETO DE APOYO" reembolsará en depósito al "FONDO", a la cuenta que se determine para tal efecto, el remanente de los recursos de apoyo económico que, en su caso, no haya aplicado al "PROYECTO", en un plazo no mayor a 15 (quince) días naturales contados a partir de la fecha de conclusión del mismo.

En cualquier caso de devolución de recursos económicos del "PROYECTO", el Responsable Administrativo del "PROYECTO" tiene la obligación de dar aviso de inmediato a la **Secretaría Administrativa** de la devolución de los recursos al "FONDO", y comprobar dicha devolución mediante la entrega de la copia de la ficha de depósito o de la transferencia bancaria, para que el recurso devuelto sea identificado inmediatamente.

DÉCIMA SEXTA. RELACIÓN LABORAL

El "FONDO" no establecerá ninguna relación de carácter laboral con el personal que el "SUJETO DE APOYO" llegase a ocupar para la realización del "PROYECTO", en consecuencia, las partes acuerdan que el personal designado, contratado o comisionado para la realización del "PROYECTO", estará bajo la dependencia directa del "SUJETO DE APOYO"; y por lo tanto, en ningún momento se considerará al "FONDO" como patrón solidario o sustituto, ni tampoco al "SUJETO DE APOYO" como intermediario, por lo que el "FONDO" no asumen ninguna responsabilidad que pudiera presentarse en materia de trabajo y seguridad social, por virtud del presente Convenio.

DÉCIMA SÉPTIMA. RESPONSABILIDAD CIVIL

Queda expresamente pactado que las partes no tendrán responsabilidad civil por los daños y perjuicios que pudieran causarse como consecuencia de caso fortuito o fuerza mayor, particularmente por el paro de labores académicas o administrativas, en la inteligencia de

que una vez superados estos eventos, se reanudarán las actividades en la forma y términos que dictaminen las partes.

DÉCIMA OCTAVA. PREVISIONES ÉTICAS, ECOLÓGICAS Y DE SEGURIDAD

El "SUJETO DE APOYO" se obliga a cumplir y hacer cumplir durante el desarrollo del "PROYECTO" y hasta su conclusión la legislación aplicable especialmente en materia ecológica, de protección a la bioseguridad y la biodiversidad, así como a respetar las convenciones y protocolos en materia ética aplicada a la investigación, la legislación aplicable y la normatividad institucional en materia de seguridad.

DÉCIMA NOVENA. ACTUALIZACIÓN DE DATOS EN EL RENIECYT

El "SUJETO DE APOYO" tendrá la obligación de informar a la **Secretaría Administrativa**, entre otros cambios los de su situación económica, cambio de domicilio legal, razón o denominación social o representante legal. Asimismo, el "SUJETO DE APOYO" se obliga a mantener actualizada su inscripción e información en el RENIECYT.

VIGÉSIMA. VIGENCIA

El presente Convenio tendrá una vigencia de **36 meses**, contados a partir de la fecha de la primera ministración, entendiéndose como formalizado al momento en que se cuente con la firma de todas y cada una de las partes que intervienen en el mismo.

No obstante, la vigencia al Convenio podrá prorrogarse siempre que se cuente con el consentimiento de las partes y el Acuerdo que al respecto emita el Comité Técnico y de Administración del "FONDO", mismo que formará parte integral del presente instrumento.

Las obligaciones a cargo del "SUJETO DE APOYO" concluyen hasta que el "FONDO" expida el oficio de **Acta Finiquito**.

VIGÉSIMA PRIMERA. ASUNTOS NO PREVISTOS

Los asuntos relacionados con el objeto de este Convenio y que no queden expresamente previstos en sus Cláusulas, ni en sus Anéxos, serán interpretados y resueltos de común acuerdo por las partes, apelando a su buena fe y consecución de mismos propósitos, haciendo constar sus decisiones por escrito.

VIGÉSIMA SEGUNDA. CONSENTIMIENTO ELECTRÓNICO

En términos del artículo 1803, fracción I del Código Civil Federal, las partes acuerdan que es su voluntad aceptar íntegramente el contenido obligacional de este Convenio a través de su suscripción mediante el Sistema de People Soft, por lo que reconocen que dicho medio, constituye el consentimiento expreso del presente acuerdo de voluntades.

VIGÉSIMA TERCERA. AUSENCIA DE VICIOS DE VOLUNTAD

Las partes manifiestan que en la celebración del presente convenio no ha mediado

circunstancia alguna que induzca a error, dolo, mala fe u otra circunstancia que afecte o vicie la plena voluntad con que celebran el presente instrumento, por lo que el mismo es válido para todos los efectos legales conducentes.

VIGÉSIMA CUARTA. JURISDICCIÓN

Para la solución a toda controversia que se pudiera suscitar con motivo de la interpretación, ejecución y cumplimiento del presente Convenio y sus Anexos, y que no se resuelva de común acuerdo por las partes, éstas se someterán a las Leyes Federales vigentes y Tribunales Federales competentes de la Ciudad de México, Distrito Federal, renunciando desde ahora a cualquier otro fuero que les pudiera corresponder en razón de sus respectivos domicilios presentes o futuros.

PREVIA LECTURA Y CON PLENO CONOCIMIENTO DE SU CONTENIDO, LAS PARTES EXPRESAN SU CONSENTIMIENTO ELECTRÓNICO AL PRESENTE INSTRUMENTO QUE A CONTINUACIÓN SE INSERTA PARA CADA UNA DE ELLAS.

POR EL "FONDO"

POR EL "SUJETO DE APOYO"

LIC. KARLA RAYGOZA RENDÓN
REPRESENTANTE LEGAL DEL "FONDO"
Y SECRETARIA ADMINISTRATIVA

DR. DAVID KERSHENOBICH
STALNIKOWITZ
REPRESENTANTE LEGAL

DR. LUIS HUMBERTO FABILA CASTILLO
SECRETARIO TÉCNICO

DRA. LIDYA SUMIKO MORIMOTO
MARTINEZ
RESPONSABLE TÉCNICO

C.P. MARTHA ARREDONDO URZUA
RESPONSABLE ADMINISTRATIVO

LAS FIRMAS QUE ANTECEDEN, CORRESPONDEN AL CONVENIO DE ASIGNACIÓN DE RECURSOS QUE CELEBRAN NACIONAL FINANCIERA, S.N.C., EN SU CARÁCTER DE FIDUCIARIA DEL FIDEICOMISO PÚBLICO DE ADMINISTRACIÓN E INVERSIÓN DENOMINADO "FONDO SECTORIAL DE INVESTIGACIÓN PARA LA EDUCACIÓN", EL "FONDO" Y INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN, EL "SUJETO DE APOYO", MEDIANTE EL CUAL ESTABLECEN LAS CONDICIONES PARA OTORGAR EL APOYO PARA LLEVAR A CABO EL "PROYECTO" DENOMINADO ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA SECRECIÓN DE INSULINA ESTIMULADA POR GLUCOSA EN CRÍAS DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA BAJA EN PROTEÍNAS DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: POSIBLES MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS..

Anexo 1: Desglose Financiero

Total de etapas: \$1971000

Etapas: 001

Tipo de Recurso	Categoría del recurso	Subcategoría del recurso	Descripción de Subcategoría	Importe del recurso
FONDO	GCORR	336	Viáticos	7500
FONDO	GINVE	402	Equipo de laboratorio	673000
FONDO	GCORR	332	Seres vivos	100000
FONDO	GCORR	305	Apoyo formación Rec. Humanos	126000
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	100000
FONDO	GCORR	310	Cuotas de inscripción	8000
FONDO	GCORR	336	Viáticos	7500
FONDO	GCORR	332	Seres vivos	100000
FONDO	GCORR	310	Cuotas de inscripción	8000
FONDO	GCORR	328	Pasajes	10000
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	50000
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	50000
FONDO	GCORR	328	Pasajes	10000

Total de etapa: \$1250000

Etapas: 002

Tipo de Recurso	Categoría del recurso	Subcategoría del recurso	Descripción de Subcategoría	Importe del recurso
FONDO	GCORR	310	Cuotas de inscripción	16000
FONDO	GCORR	328	Pasajes	20000
FONDO	GCORR	329	Public ediciones e impresiones	20000
FONDO	GCORR	336	Viáticos	15000
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	100000

FONDO	GINVE	402	Equipo de laboratorio	0
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	175000
FONDO	GCORR	335	Software Especializado	15000

Total de etapa: \$361000

Etapa: 003


Tipo de Recurso	Categoría del recurso	Subcategoría del recurso	Descripción de Subcategoría	Importe del recurso
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	100000
FONDO	GCORR	336	Viáticos	15000
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	100000
FONDO	GCORR	328	Pasajes	20000
FONDO	GCORR	329	Public ediciones e impresiones	9000
FONDO	GCORR	326	Materiales de uso directo	100000
FONDO	GCORR	310	Cuotas de inscripción	16000

Total de etapa: \$360000

Anexo 2: Cronograma de actividades por etapa

Etapa #	Descripción De La Etapa	Descripción De La Meta	Actividades	Productos	Fecha inicial DD-MM-AAAA	Fecha de termino DD-MM-AAAA	Fecha informe avance y final DD-MM-AAAA
	Se trabajará con un modelo de restricción proteínica materna en la rata. Se realizarán los experimentos para evaluar la tolerancia a la glucosa en sangre y la funcionalidad del islote pancreático en crías de ratas con restricción proteínica materna durante		Para el establecimiento del modelo de ratas con restricción proteínica en la dieta, se realizarán los apareamientos correspondientes, las ratas preñadas se asignarán al azar en dos grupos de acuerdo con la dieta con la que se alimentarán durante la gèstación (control, C y restringida al 50% de proteínas, R), al nacimiento de las crías, las madres con sus crías se asignarán al azar en cuatro grupos de acuerdo con la dieta que recibirán: CC, RR, CR, RC (la primera letra indica	Publicación de un artículo en una revista científica			


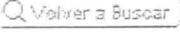



001	<p>la gestación y/o la lactancia. Las ratas serán apareadas y una vez que nazcan las crías se separarán de acuerdo con los grupos a estudiar, CC, RR, CR y RC, donde la primera letra indica la dieta que recibirán durante la gestación y la segunda durante la lactancia (C, dieta control; R, dieta restringida). Se realizarán los registros del peso y talla de los animales. Se tomarán ratas de tres edades: 36, 110 y 450 días, para abarcar etapas juveniles, adultos y viejos del ciclo de vida de la rata. Se realizarán las cuantificaciones de glucosa e insulina en sangre. Se realizarán experimentos con cultivos de islotes pancreáticos, en donde se estudiará la secreción estática y dinámica de la insulina.</p>	<p>Conocer las modificaciones en la tolerancia a la glucosa en sangre y la función y capacidad de secreción basal y en respuesta a glucosa de los islotes pancreáticos de crías de madres que fueron alimentadas con dieta restringida en proteínas durante la gestación y/o la lactancia.</p>	<p>la dieta durante la gestación, segunda letra dieta durante la lactancia). Para conocer la metabolización de la glucosa in vivo, se seleccionarán diferentes crías por cada grupo, y se realizarán pruebas de tolerancia a la glucosa, y se cuantificarán las concentraciones de la glucosa y la insulina en sangre. Para el estudio de la secreción de insulina, se obtendrán los islotes del páncreas, de diferentes sujetos de cada grupo de estudio, se cultivarán y se estimularán con baja y alta glucosa para cuantificar la insulina basal y en respuesta a glucosa. De esta manera se conocerán las modificaciones en la función secretora de las células beta pancreáticas en el páncreas de crías de madres con restricción proteínica durante la gestación y/o la lactancia. Además se realizarán estudios de la morfología de los islotes (inmunohistoquímica de insulina y glucagon) que proporcionarán datos sobre si existe modificación de la disposición de las células beta con respecto a las alfa.</p>	<p>nacional o internacional de impacto en el campo de la endocrinología y la fisiología. Se publicarán al menos una tesis de maestría y una de licenciatura. Se graduará a una alumna de Maestría que previamente habrá iniciado la parte práctica de la tesis. Se graduará de licenciatura una alumna que actualmente está realizando el servicio social con nuestro grupo de trabajo. Se presentarán los datos obtenidos hasta ese momento en un congreso nacional o internacional.</p>	20/11/2012	19/11/2013	19/12/2013
	<p>Se realizarán los experimentos correspondientes al estudio de la expresión de los genes</p>		<p>Dado que el proceso de secreción de insulina en respuesta a glucosa es un proceso complejo que involucra desde el</p>				

<p>002</p>	<p>propuestos, aquellos productos génicos que participan en la secreción de insulina inducida por glucosa por el islote pancreático (insulina, glucocinasa, Glut2), y de los factores de transcripción propuestos (Pdx-1 y MafA) además de otros factores importantes para el proceso de secreción de insulina estimulada por glucosa (Sirt1, SREBP-1c y UCP2), en crías de madres con restricción proteínica en la dieta durante el gestación y/o la lactancia y se compararán con la expresión de los mismos genes en el páncreas de animales control.</p>	<p>Conocer las modificaciones en la expresión de los genes que participan en la señalización de la secreción de insulina en respuesta a glucosa en islotes pancreáticos de crías de ratas alimentadas con una dieta restringida en proteínas durante la gestación y/o la lactancia.</p>	<p>transporte de la glucosa, los cambios metabólicos que inducen cambios en la actividad eléctrica de las células beta y que resulta finalmente en la secreción de insulina, los genes propuestos a ser estudiados y que consideran las diferentes etapas del citado proceso son: 1. Que intervienen en el censado de glucosa en la célula beta: Glut 2 y glucocinasa 2. Los factores de transcripción clave para el funcionamiento de la célula beta madura: Pdx1, MafA 3. El propio gen de la insulina 4. Las proteínas que forman el canal de potasio dependiente de ATP (KATP) Kir 6.2 y Sur1 5. Otros factores que regulan la respuesta metabólica en función de cambios en la disponibilidad de nutrientes: Sirt1, SREBP-1c y UCP2</p>	<p>Un artículo científico en una revista internacional de alto impacto en nuestra área de estudio. Se presentarán los resultados en un congreso nacional y/o internacional. Se habrá titulado una segunda alumna de Licenciatura, se tendrá la tesis correspondiente. La segunda alumna de maestría habrá finalizado su trabajo experimental.</p>	<p>20/11/2013</p>	<p>19/11/2014</p>	<p>19/12/2014</p>
	<p>Se realizarán los experimentos para estudiar la modificación epigenética de los genes propuestos, en crías de ratas alimentadas con una dieta baja en proteínas durante el embarazo y/o la lactancia. Se</p>	<p>Conocer si existen modificaciones epigenéticas que lleven a la modificación de la expresión de genes de la ruta de secreción de insulina en respuesta a glucosa en los</p>	<p>Sabiendo que los eventos ambientales desfavorables in útero producen marcas epigenéticas que inducen cambios en la expresión génica y dado que en estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo se encontró que la malnutrición por baja ingesta de proteínas provoca una alteración en la secreción de insulina en respuesta a glucosa, en esta etapa del estudio, se estudiarán los</p>	<p>Un artículo científico enviado para su publicación en una revista de alto impacto en el área de estudio. Una</p>			

003	<p>realizarán experimentos en los que se buscará la metilación diferencial de estos genes. Se realizarán estudios de remodelación de la cromatina, para detectar la acetilación de histonas (H3 y H4) asociadas a promotores de los genes propuestos.</p>	<p>islotes pancreáticos de crías de ratas expuestas a una restricción proteínica de la dieta, durante periodos críticos de desarrollo: gestación y lactancia con respecto al páncreas normal.</p>	<p>patrones de metilación de los genes propuestos, utilizando la técnica de secuenciación después del tratamiento con bisulfito de sodio, a partir del DNA total de los islotes pancreáticos de las crías de madres alimentadas con dietas control y restringida durante la gestación y/o la lactancia. Además se realizarán estudios de inmunoprecipitación de la cromatina e identificación de la acetilación de las histonas H3 y H4 asociadas a los promotores de los genes propuestos.</p>	<p>alumna titulada de la Maestría con su tesis correspondiente. Se presentarán los resultados obtenidos hasta el momento en un congreso nacional y/o internacional.</p>	20/11/2014	19/11/2015	19/12/2015
-----	---	---	---	---	------------	------------	------------

Este contrato tiene como última Fecha de Firma

Observaciones		Buscar Ver Todo	Primero	1 de 1	Último
ARREDONDO URZUA, MARTHA		Status			
Título					
Observaciones					

 Guardar  Volver a Buscar  Siguiendo en Lista  Anterior en Lista  Notificar

[Observaciones al Convenio](#) | [Firma de Convenio](#) | [Firmas del Convenio](#) | [Anexo y/o modificatorios](#)



(0137)



Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Salvador Zubirán

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN

SALVADOR ZUBIRAN

Dirección de Investigación

FORMA ÚNICA PARA REGISTRO DE PROYECTOS

FECHA DE RECEPCIÓN: 18/10/2012

CLAVE: BRE-783-13/16-1

TÍTULO: Estudio de la expresión de genes involucrados en la secreción de insulina estimulada por glucosa en crías de ratas alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y la lactancia: posibles modificaciones epigenéticas.

INVESTIGADOR RESPONSABLE: Morimoto Martinez Lidya Sumiko

DEPARTAMENTO O SERVICIO: DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Investigación Experimental

PATROCINADORES:

Patrocinador	Cantidad
CONACYT	\$ 1,971,000.00

VIGENCIA DEL PROYECTO: Del 11/01/2013 al 10/01/2016

	Trimestre 1	Trimestre 2	Trimestre 3	Trimestre 4
Primer año	\$ 1,250,000.00	\$ 0.00	\$ 0.00	\$ 0.00
Segundo año	\$ 361,000.00	\$ 0.00	\$ 0.00	\$ 0.00
Tercer año	\$ 360,000.00	\$ 0.00	\$ 0.00	\$ 0.00

COSTO TOTALES DE LA INVESTIGACIÓN		INSTITUCIONES PARTICIPANTES	
Personal	\$ 126,000.00	<p style="text-align: center;">FIRMAS</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> Investigador responsable </div> <div style="text-align: center;"> Jefe de Departamento </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;"> Comité de Investigación en Humanos Director de Investigación </div> <div style="text-align: center;"> Comité de Investigación en Animales Director General </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">Fecha de resolución 14-03-13</p>	
(sueldos y sobresueldos al personal)			
Equipos	\$ 673,000.00		
(de laboratorio, cómputo, transporte, etc.)			
Materiales	\$ 775,000.00		
(reactivos, consumibles, desechables, etc.)			
Animales	\$ 200,000.00		
(adquisición, cuidado, procedimientos, etc.)			
Estudios	\$ 0.00		
(de laboratorio, gabinete, especiales, etc.)			
Viaticos	\$ 105,000.00		
(reuniones científicas y trabajo de campo)			
Publicaciones	\$ 29,000.00		

costo directos de publicación, sobregiro)		
Suscripciones	\$ 63,000.00	
libros, revistas, software, periódicos, etc)		
Varios	\$ 0.00	
(teléfono, fax, fotocopias, mensajería, etc)		
Fondo de apoyo	\$ 0.00	
(15% de la cantidad total de proyecto)		
Admon. Gastos pacientes	\$ 0.00	
Total :	\$ 1,971,000.00	



Instituto Nacional de Ciencias
Médicas y Nutrición
Salvador Zubirán

COMITÉ INSTITUCIONAL DE
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN
HUMANOS

**FORMATO DE
EVALUACIÓN DE
PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN**

No. de registro CIIBH: BRE-783-12/12-1

1. Título del proyecto

Estudio de la expresión de genes involucrados en la secreción de insulina estimulada por glucosa en crías de ratas alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y la lactancia: posibles modificaciones epigenéticas.

2. Investigadores

2a. Identificación

INVESTIGADOR	Posición institucional	Posición en el proyecto	Teléfono (ext.)	Correo-E
MORIMOTO MARTINEZ LIDYA SUMIKO	INVESTIGADOR EN CIENCIAS MED D	Investigador responsable		sumimor@yahoo.com
ZAMBRANO GONZALEZ ELENA	INVESTIGADOR EN CIENCIAS MED E	Investigador asociado		zamgon@laneta.apc.org

2b. Pertinencia del grupo de investigadores con respecto del proyecto

3. Instituciones participantes

4. Patrocinio

4a. Organismos patrocinadores

- CONACYT

4b. Especificar si los investigadores reciben pago (monetario o en especie) por su participación específica en la investigación.

5. Marco teórico

ANTECEDENTES:

Programación del desarrollo

El desarrollo de un individuo depende de manera directa, de las condiciones nutricionales durante la gestación y periodo postnatal ya que la baja o deficiente calidad de la dieta en etapas críticas del desarrollo, puede provocar alteraciones tanto en la organización como en la función de diversos órganos, que pueden persistir hasta la edad adulta.

El concepto de "programación del desarrollo" propone que los cambios durante la gestación y la vida neonatal generan respuestas fisiológicas persistentes en la cría, y asocia las enfermedades en el adulto como: diabetes, dislipidemias, hipertensión y obesidad, con condiciones intrauterinas adversas (1).

Diferentes órganos y sistemas son blanco de la programación y han sido estudiados en modelos animales (ratas, cobayos, ovejas) expuestos a alguna condición adversa durante el desarrollo intrauterino (2), algunos efectos observados son:

- Sistema cardiovascular: Hipertensión, incremento en la reactividad vascular y disminución de la vasodilatación endotelial.
- Hígado: Disminución en la fosforilación oxidativa, incremento en la gluconeogénesis, alteración en la oxidación de los ácidos grasos, resistencia a la insulina.
- Músculo: Disminución del ATP, glucógeno, captación de glucosa, masa muscular e incremento en los niveles de triglicéridos.
- Adipocitos: Disminución del efecto inhibitorio de la insulina sobre la lipólisis, alto contenido de lípidos e hiperleptinemia.
- Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal: Incremento en los niveles de corticosterona, des-regulación del eje, afinidad incrementada del receptor de glucocorticoides.
- Sistema reproductor: retardo en la maduración sexual y envejecimiento prematuro de la función reproductiva (3,4).
- Desarrollo del páncreas: Disminución de la masa de células beta, disminución de la proliferación, número de islotes y tamaño, contenido de insulina, disminución de la secreción de insulina en respuesta a glucosa (5) y amino ácidos.

Función del páncreas: secreción de insulina

El páncreas tiene dos funciones principales, la producción de enzimas digestivas que son secretadas por el tejido acinar y la regulación de los niveles de glucosa en sangre, proceso que es llevado a cabo por las células del islote de Langerhans. Después de la ingesta de alimentos, cuando los niveles de glucosa son elevados, la secreción de insulina se incrementa y estimula la utilización de glucosa en el músculo, hígado y tejido adiposo. Durante el ayuno, cuando los niveles de glucosa son bajos, la secreción de insulina se regula negativamente, esto ayuda a mantener los niveles mínimos de glucosa en sangre.

La secreción de insulina por las células beta pancreáticas es regulada por la concentración de glucosa, además de otros nutrientes como los ácidos grasos libres y los aminoácidos. Estas células poseen un transportador de glucosa, el Glut2, quien capta a la glucosa y la internaliza, una vez dentro de la célula, la glucosa es fosforilada por la enzima glucocinasa, que es la etapa limitante para su utilización por la célula beta (6). Posteriormente la glucosa es metabolizada generando ATP, un incremento en la relación ATP/ADP provoca el cierre de los canales de potasio dependientes de ATP (KATP) que llevan a la despolarización de la membrana y a la apertura de canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje. El influjo de calcio a través de estos canales incrementa el Ca^{2+} intracelular disparando así la exocitosis de los gránulos que contienen insulina (7).

Programación de la función del páncreas y el metabolismo de carbohidratos por bajo aporte de proteínas de la dieta

Experimentos realizados en modelos animales, han demostrado que la malnutrición materna durante el embarazo conduce a enfermedades metabólicas en la descendencia adulta.

En la rata, una dieta baja en proteínas durante la gestación y la lactancia, produce en las crías un retardo moderado en el crecimiento intrauterino y una alteración en el desarrollo del páncreas y tejidos sensibles a la acción de la insulina (8-10). En este proceso, los cambios morfológicos en el páncreas son irreversibles. En etapas tempranas de vida posnatal, los animales sometidos a restricción proteínica dietaria, muestran una mejor tolerancia a la glucosa comparados con ratas alimentadas con dieta control,

con una mayor utilización de glucosa estimulada por insulina en el músculo y tejido adiposo (11,12). Sin embargo en la edad adulta, muestran una disminución en la tolerancia a la glucosa, particularmente las crías hembra (13) mientras que los machos muestran una resistencia a la insulina moderada con hiperinsulinemia compensatoria (14). Además se ha encontrado que las alteraciones en el metabolismo de la glucosa y la insulina producidos en el páncreas de las crías (F1) de madres (F0) con restricción proteínica en la dieta, se transmiten a la siguiente generación (F2), observando una resistencia a la insulina en ambos sexos (15,16). La administración de una dieta hipercalórica con reducción al 8% en la proteína (donde el control contiene 20%) durante la gestación, resulta en una reducción del peso del páncreas de las crías al nacimiento, y dado que el desarrollo de las células beta es particularmente sensible a las alteraciones en el ambiente intrauterino, se observa una reducción en la cantidad de estas células dentro del islote, a expensas de una disminución en la replicación y un incremento en la apoptosis (17-19), aunado a una disminución del tamaño de los islotes y de la vascularización pancreática (18,20). Cuando la restricción nutricional se detiene al nacimiento, la función del páncreas (3) y su morfología se recupera parcialmente, pero cuando se prolonga hasta el destete, los efectos son irreversibles (19). Los islotes obtenidos de fetos antes del término de la gestación, provenientes de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas, mostraron una disminución en la secreción de insulina basal y en respuesta a glucosa y otros secretagogos (21). A nivel celular, una dieta baja en proteínas, produce un incremento en la longitud del ciclo celular de las células beta pancreáticas, a expensas de la prolongación de la fase G1 (17). Respecto al mecanismo por el que se modifica la morfología y la función del páncreas en las crías de madres expuestas a una dieta baja en proteínas, se ha relacionado la baja expresión del RNA y la proteína de PDX-1 (pancreatic and duodenal homeobox factor-1) con la disminución de la masa de células beta en los islotes pancreáticos de ratas recién nacidas (22).

Genes involucrados en el funcionamiento de las células beta pancreáticas

Los factores de transcripción controlan diferentes procesos biológicos como la diferenciación, proliferación y apoptosis. En el páncreas el factor mejor caracterizado es el PDX-1. Este factor es de vital importancia en la determinación del linaje de las células beta, además de que transactiva a los genes de insulina, Glut2 y glucocinasa (22, 23) y ha llegado a considerarse como el regulador maestro del desarrollo y la función del páncreas (24). Estudios en humanos y modelos animales han demostrado que una reducción de la expresión de este factor causa el desarrollo de diabetes tipo 2 (25, 26). En un modelo de rata con retardo en el crecimiento intrauterino, se encontró que los niveles del RNAm del PDX-1 disminuyeron más del 50% en los fetos de madres con ligadura de la arteria uterina (27).

Otro de los factores de transcripción importantes es MafA (musculoaponeuritic fibrosarcoma oncogene homologue A) quien además de participar en la diferenciación de las células beta durante el desarrollo del páncreas y de ser activador de la transcripción del gen de la insulina, es un regulador maestro de muchos genes implicados en el mantenimiento del fenotipo de las células beta, el acoplamiento entre el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina y el procesamiento de la proinsulina (23,28,29).

Además de los factores de transcripción antes mencionados existen otras proteínas y factores que pueden constituir blanco de regulación en el proceso de secreción de insulina estimulada por glucosa.

SRBP-1c (sterol regulatory element-binding protein 1c), es un factor sensible a nutrientes, convencionalmente es considerado como un regulador de enzimas lipogénicas en el hígado aunque recientemente se ha reportado que la activación de este factor en células beta pancreáticas está involucrada en trastornos de la secreción de insulina *in vitro* y la intolerancia a la glucosa *in vivo* (30).

Sirt1 (Silent information regulator) es un miembro de la familia de desacetilasas dependientes del NAD, regula el envejecimiento y la longevidad además de que participa en la secreción de insulina en respuesta a la disponibilidad de nutrientes (31). Sirt1 está relacionado con la proteína desacoplante 2 (UCP2) otra proteína que regula cambios metabólicos en respuesta a disponibilidad de nutrientes (32). El efecto de Sirt1 es inhibir a UCP2, esta proteína interviene inhibiendo la producción de ATP, en el proceso de secreción por la célula beta se situaría antes de la secreción de insulina (33).

Modificaciones epigenéticas por estrés nutricional

Un ambiente intrauterino anormal, produce en el feto una modificación permanente de la expresión de genes de células susceptibles. Una expresión génica alterada que persiste después del nacimiento sugiere que un mecanismo epigenético puede ser responsable de los cambios en la transcripción (34).

La transcripción génica es el resultado de interacciones entre los factores de transcripción y la cromatina en una serie de elementos reguladores que incluyen a los promotores, aumentadores y silenciadores, la accesibilidad a estos sitios es mediada por modificaciones epigenéticas de las histonas y el DNA (35).

Estudios experimentales han proporcionado evidencia de que las “marcas” epigenéticas sirven como memoria de la exposición a ambientes inapropiados durante etapas tempranas de la vida y que esas “marcas” inducen cambios en la expresión de genes, que potencialmente, llevan a enfermedades en la vida adulta (36,37).

Muchas rutas de señalización en la célula, son sensibles a factores nutricionales, y comunican condiciones del ambiente extracelular al núcleo, lo que puede alterar la estructura de la cromatina. El estrés nutricional en etapas tempranas de la gestación o el desarrollo, puede afectar la metilación del DNA y la estructura de las histonas, lo que subsecuentemente reprogramará la respuesta de las células a señales extracelulares (38).

Ejemplo de lo anterior, son los datos que señalan que el retardo en el crecimiento intrauterino provocado por bajo aporte calórico, causan hipometilación e hiperacetilación del DNA genómico de cerebro e hígado en la rata (39). Otro ejemplo es la restricción proteínica en la dieta de ratas preñadas, que induce hipometilación de los genes del receptor de glucocorticoides (RG) y del factor de transcripción activado por ligando, PPARgama (peroxisome proliferator-activated receptor gama) en el hígado de las crías (40,41).

Resultados preliminares

En estudios recientes, realizados por nuestro grupo de trabajo hemos encontrado que la restricción de las proteínas de la dieta materna durante la gestación y/o la lactancia, produce en las crías una modificación en la secreción de insulina en respuesta a glucosa, encontramos que el periodo más crítico para la función del islote pancreático en término de secreción de insulina resultó ser la gestación pues cuando la cría se ve expuesta al mismo estímulo nocivo durante la gestación y la lactancia, el organismo ajusta sus funciones y termina por responder mejor que cuando la restricción se limita a una de las dos etapas consideradas (5).

Es interés del presente proyecto estudiar la expresión de factores involucrados en la regulación de moléculas clave en la secreción de insulina estimulada por glucosa y el metabolismo de los carbohidratos bajo una condición de estrés intrauterino por bajo aporte de proteínas de la dieta materna durante la gestación y/o la lactancia.

Lo que se busca es observar si existe algún cambio en la expresión de genes importantes para la función de la células beta pancreáticas, así como factores que proponemos podrían estar involucrados en la respuesta del páncreas de las crías que fueron expuestas a bajo aporte de proteínas de la dieta durante dos etapas críticas del desarrollo.

Dado que el proceso de secreción de insulina en respuesta a glucosa es un proceso complejo que involucra desde el transporte de la glucosa y los cambios metabólicos que inducen cambios en la actividad eléctrica de las células beta y que resulta finalmente en la secreción de insulina, los genes propuestos a ser estudiados y que consideran las diferentes etapas del citado proceso son:

1. Los que intervienen en el censado de glucosa en la célula beta: Glut 2 y glucocinasa
2. Los factores de transcripción clave para el funcionamiento de la célula beta madura: Pdx1, MafA
3. El propio gen de la insulina
4. Las proteínas que forman el canal de potasio dependiente de ATP (KATP) Kir 6.2 y Sur1
5. Otros factores que regulan la respuesta metabólica en función de cambios en la disponibilidad de nutrientes: Sirt1, SREBP-1c y UCP2

DEFINICION DE PROBLEMAS :

El desarrollo de un individuo depende de manera directa, de las condiciones nutricionales durante la gestación y periodo postnatal ya que la baja o deficiente calidad de la dieta en etapas críticas del desarrollo, puede provocar alteraciones tanto en la organización como en la función de diversos órganos. El concepto de “programación del desarrollo” propone que una condición o estímulo adverso durante la gestación y la vida neonatal, generan respuestas fisiológicas persistentes en la cría, y se asocia con enfermedades en el adulto como: diabetes y obesidad. Un ejemplo de esto son las ratas alimentadas con una dieta hipoproteínica, quienes producen crías con alteraciones del desarrollo del páncreas y tejidos sensibles a la acción de la insulina. Nuestro grupo de trabajo recientemente ha reportado en un modelo de restricción de proteínas de la dieta, que las crías provenientes de madres alimentadas con una dieta restringida en proteínas (al 50%) durante la gestación y/o la lactancia, presentan una alteración de la secreción de insulina en respuesta a glucosa y que a largo plazo se presenta resistencia a la insulina que puede desencadenar la diabetes tipo II. El presente estudio pretende estudiar la expresión de los genes involucrados en la secreción de insulina en respuesta a glucosa y estudiar sus posibles modificaciones epigenéticas.

JUSTIFICACION :

Dado que la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes son problemas de salud pública con una alta prevalencia en nuestro país y sabiendo que la alimentación materna mal balanceada impacta en la descendencia aumentando la prevalencia de estas patologías, este estudio pretende estudiar los efectos de una alimentación materna con baja ingesta de proteínas sobre los procesos que participan en el metabolismo de los carbohidratos, en especial la regulación de genes importantes en el proceso de secreción de insulina que posteriormente puedan derivar en la aparición de diabetes tipo II en las crías. El conocimiento de procesos fisiológicos afectados por una mala alimentación en modelos animales, pueden posteriormente ofrecer soluciones aplicables a la población humana.

6a. Hipótesis

Habiendo observado en nuestros estudios previos que la malnutrición por baja ingesta de proteínas provoca una alteración en la secreción de insulina en respuesta a glucosa y sabiendo que los eventos ambientales desfavorables *in utero* producen marcas epigenéticas que inducen cambios en la expresión génica, podemos esperar que uno o más de los genes involucrados en el proceso de secreción de insulina estimulada por glucosa, propuestos en este estudio, muestren una expresión alterada y que pudieran observarse modificaciones en el patrón de metilación o acetilación de las histonas (H3 y H4).

6b. Objetivos.

Estudiar la expresión de los genes involucrados en la señalización de la secreción de insulina en respuesta a glucosa y sus posibles modificaciones epigenéticas (patrón de metilación y acetilación de histonas) en el páncreas de las crías de ratas con restricción proteínica dietaria durante la gestación y/o la lactancia.

7. Metodología: Diseño general.

Sujetos de estudio

Se utilizarán *50 ratas hembra de la cepa Wistar de 10-12 semanas de edad, con un peso de 220 ± 20 g, que se mantendrán bajo condiciones controladas de luz y temperatura. Las hembras se pondrán a aparear durante la noche del proestro, con machos de fertilidad comprobada, y por medio de frotis vaginales se determinará el día de la concepción o día 0. Las ratas que queden preñadas, se transferirán a jaulas individuales y se asignarán al azar, en dos grupos, las que se alimentarán con dieta control (20% de caseína como fuente de proteína) y las que se alimentarán con la dieta restringida (dieta isocalórica con 10% de caseína), ver Zambrano, 2005 (3) para composición de la dieta. La comida y el agua estarán disponibles ad libitum para todas las ratas. En el día 20 de la gestación, las ratas se colocarán individualmente, en cajas de policarbonato con piso de aserrín para proveerlas de las condiciones óptimas para el parto.

*El tamaño de muestra fue determinado con base en estudios previos que establecieron el modelo de restricción proteínica materna que se utilizará en el presente estudio (3). Además como **documento anexo** se incluyen cálculos de tamaño de muestra de acuerdo con 3 variables diferentes.

Mediciones fisiológicas

Las ratas preñadas se pesarán diariamente hasta el momento del parto. Las crías también serán pesadas y medidas, además se registrará la distancia ano-genital para determinar el sexo.

Después del nacimiento de las crías, cada camada se ajustará a 10 crías, tratando de tener igual número de hembras y machos. Posteriormente se formarán cuatro grupos de madres con sus crías. De acuerdo con la dieta que recibirán, las ratas alimentadas con la dieta control durante la gestación y la lactancia se identificarán como CC. Las ratas alimentadas con una dieta restringida en proteínas del 50 % (R) durante embarazo y la lactancia se identificarán como RR. Finalmente para completar 4 grupos, se formarán los grupos identificados como CR y RC. Donde la primera letra indica la dieta durante la gestación y la segunda indica la dieta durante la lactancia. Se considerarán 3 edades de las crías, 36, 110 y 450 días de nacidas para abarcar la mayor parte del ciclo de vida de la rata. Se tomarán una $n=5$ hembras y $n=5$ machos de diferentes madres cada una, de los diferentes grupos y para los diferentes estudios a realizar.

Curva de tolerancia a la glucosa

Las crías de cada grupo serán puestas en ayuno durante la noche. Se administrará a cada una de ellas, un gramo de D-glucosa por kilogramo de peso, por vía oral (a través de una sonda esofágica) a las 09.00 a.m. Las muestras de sangre se tomarán realizando una pequeña incisión en la parte terminal de la cola de la rata, en diferentes tiempos: 0, 30, 60 y 120 minutos. La gota de sangre se colocará directamente en la tira colectora del glucometro Accu-check (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany).

Obtención de islotes pancreáticos

Se utilizará la técnica de digestión con colagenasa previamente descrita (42). La rata será anestesiada con 50 mg / kg de peso de pentobarbital sódico (43), se realizará una incisión a lo largo de la línea media abdominal, se localizará el páncreas que será insuflado con 10 ml de colagenasa P en solución de Hank's. Una vez insuflado, el páncreas se obtendrá por escisión quirúrgica y se fragmentará en piezas de 5 mm aproximadamente. Posteriormente el tejido será digerido con colagenasa P durante 15 minutos en un baño con agitación a 37°C. La preparación de tejido digerido se someterá a un gradiente de Ficol (27, 20 y 11%) de donde se obtendrán los islotes que serán visualizados utilizando un microscopio estereoscópico y se colectarán para su posterior cultivo y tratamiento.

Incubaciones estáticas y dinámicas de islotes pancreáticos para la secreción de insulina

Para el estudio de la secreción de insulina por los islotes pancreáticos, se realizarán pruebas estáticas y dinámicas de la secreción de insulina. Las pruebas estáticas, se realizarán incubando islotes pancreáticos en cajas multipozo (entre 10 islotes por pozo) con solución salina para aislamiento de islotes (44) ante un estímulo con diferentes concentraciones de glucosa 2.5, 5, 11 y 16 mM en grupos de islotes preparados para tal fin. Así mismo se realizarán incubaciones dinámicas de los islotes pancreáticos en condiciones de baja (2.5mM) y alta glucosa (16mM). La incubación dinámica consistirá en la perfusión de solución de

¿cuánto tiempo después?

cuánto tiempo justificación?

estirpe
¿cuáles?
gestantes
¿cómo determinar proestro?
material de come vivita de madre

aislamiento de islotes, a un flujo de 1ml/min, los islotes (en número de 10 a 30) serán estimulados con glucosa, en periodos de diez minutos. Las fracciones serán colectadas para la posterior cuantificación de insulina. La concentración de insulina en el medio, producto de las incubaciones, se cuantificará por RIA y será normalizada por concentración del DNA total de los islotes.

Inmunohistoquímica para la detección de insulina y glucagon

Para estudiar la morfología del islote, y observar si existe un cambio en la disposición de las células beta y alfa, por efecto de la restricción de proteínas de la dieta, se realizará la inclusión en parafina de tejido pancreático por métodos histológicos convencionales. Se empleará la técnica de inmunohistoquímica para la detección de insulina y glucagon, por el método previamente descrito (45).

Extracción de RNA

El RNA total será aislado de los islotes pancreáticos, utilizando el estuche RNeasy lipid tissue de Qiagen y será cuantificado en un Luminometro Biotek Synergy HT a una longitud de onda de 260 y 280 nm. 20 µg del RNA total serán separados por electroforesis en un gel de agarosa-formaldehído al 1.2 % y se observará a la luz ultravioleta para corroborar su integridad.

Estudio de la expresión de los genes de interés por PCR en tiempo real

Debido a que en el proceso de secreción de insulina en respuesta a glucosa participan las proteínas, Glut2, glucocinasa, Pdx-1, MafA y por estudios previos de nuestro grupo se encontró una secreción de insulina alterada por efecto de la dieta restringida en proteínas, los genes antes mencionados se plantean como primeros candidatos para estudiar su expresión.

El estudio de la expresión del RNA, se realizará utilizando la técnica de PCR en tiempo real, en el equipo LightCycler 2.0 (Roche), según el protocolo siguiente: activación de la Taq DNA polimerasa y desnaturalización del DNA a 95 °C durante 10 minutos, 45 ciclos de amplificación que consistirán en 10 segundos (s) a 95° C, 30 s a 60° C, y 1 s a 72°C. (45). El diseño de los oligonucleótidos iniciadores y las sondas que se emplearán en los estudios de expresión por PCR en tiempo real se diseñarán utilizando, el programa de Roche Applied Science.: Roche Universal Probe Library Assay Design Center (<https://qpcr2.probefinder.com/organism.jsp>).

Estudio de la metilación del DNA

Para investigar el estatus de metilación de los genes propuestos, se utilizará el método reportado por Clark y colaboradores (46), que consiste inicialmente en el tratamiento de la muestra de DNA genómico con bisulfito de sodio, lo que resultará en que los residuos de citocinas no metilados se conviertan a uracilos por acción de bisulfito de sodio, entonces al ser secuenciadas se leerán como timidinas mientras que los residuos de citocina metilados no cambiarán.

Se obtendrá DNA genómico a partir de islotes pancreáticos, por métodos convencionales. De 1 a 2 µg de DNA será tratado con 200 µl de metabisulfito de sodio 2.5 M (pH 5) por µg de DNA y se incubará a 50° por 16 horas. Los promotores de los genes de interés serán amplificados a partir del DNA modificado con metabisulfito por PCR. La secuencia de los “ primers” se diseñarán con el programa “MethPrimer” (47). Las condiciones de PCR serán las siguientes: 94°C por 4 min seguidos por cinco ciclos de 94°C por 1 min, 56°C por 2min, 72°C por 3 min, posteriormente 35 ciclos de 94°C por 30 s, 56°C por 2min, 72°C por 1.5 min, and finalizando con una extensión final de 72°C por 6 min. Los productos de PCR resultantes para cada gen serán clonados con el kit pGEM-T-Easy cloning (Promega) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de purificarlo, el DNA será secuenciado y el estatus individual de metilación se determinará por comparación de la secuencia obtenida con las secuencias conocidas de los promotores de los genes de interés.

Inmunoprecipitación de la cromatina

Para determinar si las histonas asociadas a los genes de interés tienen modificaciones en su estructura, que afecten su expresión se utilizará el ensayo ChIP (chromatin immunoprecipitation) de acuerdo con el método descrito previamente (48). Brevemente consiste en tomar aproximadamente 100 islotes que serán fijados en formaldehído al 1% por 15 minutos, para favorecer el “cross-link” entre las proteínas y el

DNA, posteriormente se sonicarán para obtener fragmentos de DNA de 800 a 2000 pares de bases (pb) y se someterá a inmunoprecipitación de la cromatina utilizando anticuerpos contra las histonas H3 y H4 acetiladas y H3 dimetil lisina. Los complejos cromatina-anticuerpo, serán eluidos y separados con 5 M NaCl a 65°C durante 4 h. Posteriormente las muestras serán tratadas con proteinasa K y el DNA genómico será recuperado utilizando extracciones con fenol/cloroformo y precipitación con etanol. Se cuantificará por espectrofotometría. Las muestras serán cuantificadas por PCR en tiempo real utilizando sondas y "primers" Taqman (Applied biosystems).

8. Metodología: Criterios de selección

Criterios de selección

shirpa
Ratas hembra de la ~~cepa~~ Wistar albinas no gestantes, no lactantes con una edad de 120 días y un peso de 200 a 220g, que se mantendrán bajo condiciones controladas de luz y temperatura, alimentadas con dieta control proporcionada por el bioterio.

Criterios de exclusión

shirpa
Ratas hembras de la ~~cepa~~ Wistar intervenidas nutricionalmente, diagnosticadas con alguna enfermedad o malformación.

9. Metodología: Desenlaces y variables

A) Las variables principales a medir serán:

- 1) La expresión de los genes involucrados en la ruta de secreción de insulina estimulada por glucosa, en las crías provenientes de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y/o la lactancia.
- 2) El grado de metilación de los genes con una expresión alterada en en las crías provenientes de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y/o la lactancia
- 3) El grado de acetilación de las proteínas asociadas a los promotores de los genes de la ruta de secreción de insulina estimulada por glucosa, que muestren una expresión alterada, en las crías provenientes de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y/o la lactancia.

B) Variables secundarias

- 1) Los niveles circulantes de insulina y glucosa en las crías provenientes de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y/o la lactancia.
- 2) El índice de resistencia a la insulina en las crías provenientes de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas durante la gestación y/o la lactancia,
- 3) La secreción de insulina en respuesta a glucosa por los islotes pancreáticos de las crías provenientes de