



La absorción intestinal de calcio (Ca) es, como la de todos los nutrientes esenciales, una función que debe estar perfectamente conservada dado que es fundamental para el desarrollo normal de la masa ósea durante la niñez y la adolescencia. Alteraciones en su absorción de Ca no sólo tienen relevancia en enfermedades como la osteoporosis, sino que también se asocian a desórdenes de la conducción nerviosa, de la contracción muscular, de los mecanismos de transducción de señales, etc. El Ca se absorbe a nivel intestinal por dos mecanismos principales: 1) Transcelular: activo, de importancia principalmente en duodeno, saturable y de alta eficacia a bajas concentraciones de Ca luminal, 2) Paracelular: pasivo, de importancia a lo largo de todo el intestino, no saturable y efectivo en yeyunoíleon por la longitud de este segmento [Bronner F 2003]. Está demostrado que no es suficiente el incremento de la cantidad de Ca en la dieta para lograr una mayor absorción. Superando 1 g de Ca/día en la dieta, la absorción normalmente no supera los 600 mg/día y se incrementa simultáneamente el Ca fecal [Favus MJ 2006]. El intestino parecería defenderse de las ingestas masivas de Ca mediante disminución de la fracción de absorción del catión. La fosfatasa alcalina intestinal (FAi) es una enzima de membrana del enterocito que aún no tiene un rol fisiológico definido. Su localización principalmente duodenal y el hecho de que su expresión esté regulada por la vitamina D al igual que las proteínas que participan en la absorción transcelular de Ca, hacen sospechar un rol en el metabolismo mineral y en especial con el mecanismo de absorción de Ca. Trabajos realizados en nuestro laboratorio demostraron interacción FAi-Ca con modificación de la actividad y estructura de la FAi. Se halló que la FAi fija 8 iones Ca por molécula de proteína en sitios independientes y de igual afinidad [Brun LR 2006]. Estudios histoquímicos con diferentes concentraciones de Ca in vivo, es decir con la enzima anclada a membrana, han demostrado un efecto estimulante del Ca sobre la enzima [Brun LR 2010 - Abstract]. Experimentos con sacos intestinales evertidos en presencia de diferentes concentraciones de Ca luminal han demostrado cambios en el pH del contenido intestinal dependientes de la concentración de Ca luminal [Brun LR 2010 - Abstract]. Dado que el canal TRPV6 es regulado por el pH [Peng J 2003], se plantea la hipótesis que la FAi podría estar actuando como sensor de la concentración de Ca luminal y regulador del ingreso masivo de Ca por modificación de la actividad del TRPV6. Empleando dietas conteniendo diferente concentración de Ca se encontró un incremento del porcentaje de absorción de Ca cuando la enzima fue inhibida con L-fenilalanina 16 mM en el agua de bebida [Brun LR 2010 - Abstract]. Esto último indicaría participación de la FAi en la absorción de Ca, lo cual justifica la profundización en este campo de estudio.

#### Hipótesis de Trabajo

Alta ingesta de calcio (Ca) en una situación donde la dieta fuera baja en Ca por varios días produciría la entrada de Ca al enterocito con potenciales efectos tóxicos. Por lo tanto es lógico suponer la presencia de un mecanismo de regulación de la entrada de Ca en la membrana apical independiente de la vitamina D, que frene el ingreso de Ca masivo desde el lumen intestinal.

Esta función podría estar a cargo de la FAi a través de modificación de su actividad por la concentración de Ca luminal. La hidrólisis de ésteres fosfóricos por la enzima produce ácido fosfórico y reduce la secreción de bicarbonato por los enterocitos [Akiba Y 2007, Mizumori M 2009] y por ende regula el pH. La actividad del canal TRPV6 y FAi podrían estar relacionadas a través del pH de la superficie duodenal ya que se sabe que el canal TRPV6 se inhibe por la disminución en el pH [Hoenderop JG 1999, Vennekens R 2001].

#### Objetivo General

Investigar la regulación de la absorción intestinal de Ca ante la exposición a cantidades masivas del catión y la participación de la fosfatasa alcalina intestinal (FAi) en dicho mecanismo regulatorio.

#### Objetivos Específicos

1. Investigar la relación funcional entre FAi y la absorción de calcio en la línea celular Caco-2.
2. Investigar la absorción de calcio in vivo en ratones knock out del gen Akp3 que codifica a la FAi en comparación con ratones wild type.