

PREECLAMPSIA, MIGRACION CELULAR Y CANALES IONICOS

SILVANA M. DEL MONACO, GABRIELA MARINO, YANINA ASSEF, BASILIO A. KOTSIAS

Laboratorio de Neurofisiología, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Universidad de Buenos Aires

Resumen En la placenta humana, el sincitiotrofoblasto es la barrera que regula el transporte de nutrientes, solutos y agua entre la sangre materna y fetal. Dentro de este movimiento transepitelial se encuentra el del Na^+ , su contribución a la presión osmótica es fundamental en la regulación del volumen de líquido extracelular. El canal epitelial de sodio sensible al amiloride (ENaC) media el transporte de Na^+ desde el lumen hacia el interior celular en numerosos epitelios absortivos. Está regulado por la aldosterona, vasopresina, catecolaminas, estrógenos y progesterona. Es bloqueado por el amiloride y sus análogos. Para su activación, diversas proteasas lo escinden en la membrana plasmática y esto a su vez es regulado por la aldosterona. El ENaC está expresado también en la placenta humana y aunque su función no es conocida, podría participar en la homeostasis de agua y electrolitos. El ENaC también es influenciado por el estado de las proteínas del citoesqueleto y los cambios en el volumen celular alteran a su vez a éste. De esta manera existe una relación entre el ENaC y el citoesqueleto. Además, las corrientes de Na^+ por el ENaC y otros canales de sodio participan en la migración celular en células normales y cancerosas. Aquí presentamos evidencias que avalan la hipótesis que el ENaC es necesario para la migración celular en células BeWo, derivadas del trofoblasto humano, que sintetizan hormonas y expresan el ENaC. Las células BeWo han sido utilizadas como modelo experimental para estudiar el transporte en células de placenta.

Palabras claves: ENaC, preeclampsia, BeWo, migración celular, aldosterona, cicatrización de heridas

Abstract *Preeclampsia, cellular migration and ion channels.* The syncytiotrophoblast acts in human placenta as a transporting barrier regulating the transference of nutrients, solutes and water between maternal and fetal blood. This transepithelial transport involves movement of Na^+ and its contribution to the osmotic pressure is an important determinant of the extracellular fluid volume. ENaC is a channel that mediates entry of Na^+ from the luminal fluid into the cells in many reabsorbing epithelia; it is aldosterone, vasopressin, insulin and catecholamine-inducible, modulated by estrogens and progesterone and blocked by amiloride and its analogs. Multiple proteases are involved in the proteolytic processing and activation of ENaC subunits and aldosterone alters the protease-protease inhibitors balance. ENaC is also expressed in human placenta; although its function is not well known, the Na^+ conductive properties may participate in electrolyte and extracellular volume homeostasis. The activity of ENaC channels and other ion channels and transporters is regulated by the state of actin filaments; on the other hand, changes in volume influence the actin cytoskeleton. Thus, there is an interaction between ENaC and components of the apical membrane cytoskeleton. In addition to their role in cellular homeostasis and electrical properties, Na^+ currents through ENaC and other sodium channels are involved in cell migration, well documented in normal and cancer cells. In this work we presented evidences supporting the hypothesis that ENaC channels are required for the migration of BeWo cells, a human hormone-synthesizing trophoblastic cell line that express the three subunits of the ENaC channels. BeWo cell line has also been used as a model to investigate the placental transport mechanisms.

Key words: ENaC, preeclampsia, BeWo, cellular migration, aldosterone, wound healing

En la placenta humana, de tipo hemocorial, la sangre de la madre contacta en forma directa con el corion y está separada de la sangre del feto por las membranas del sincitiotrofoblasto (SCT) y el endotelio de los vasos sanguíneos fetales¹. Las células que forman el SCT es-

tán polarizadas en su función y contenido de canales iónicos y transportadores, con una cara con las microvellosidades orientada hacia el lado materno y la otra hacia el feto, equivalentes a las membranas apical y basal de los epitelios. El SCT que recubre las vellosidades coriónicas regula el pasaje transcelular de solutos y agua, mantiene el crecimiento fetal normal con numerosos sistemas de transporte controlados por mecanismos homeostáticos¹⁻⁴. El movimiento del Na^+ es de particular importancia, es el más abundante catión extracelular y su contribución a la osmolaridad plasmática un factor clave en la regulación del líquido extracelular. La mayor parte

Recibido: 1-IV-2008

Aceptado: 2-VI-2008

Dirección postal: Dr. Basilio A. Kotsias, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, C. de Malvinas 3150, 1427 Buenos Aires, Argentina

e-mail: kotsias@mail.retina.ar

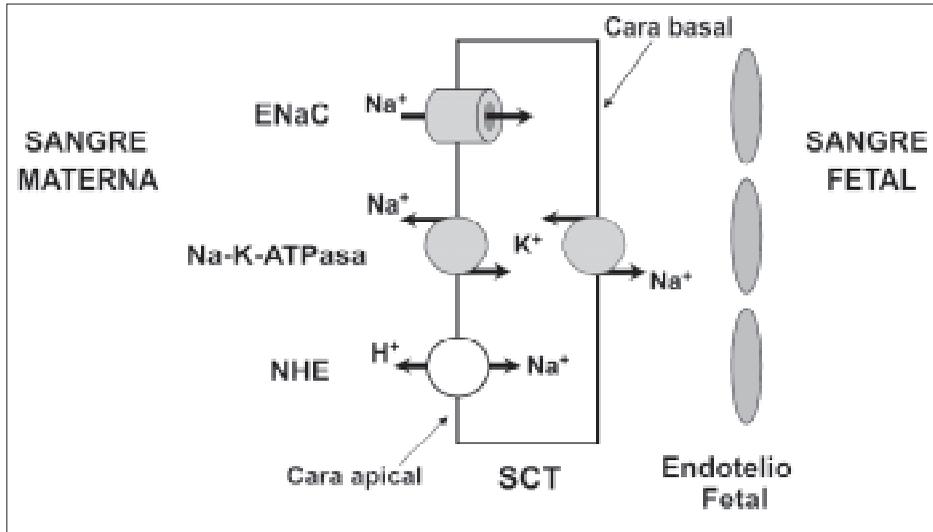


Fig. 1.— Esquema general de los sistemas de transporte presentes en el sincitiotrofoblasto humano. ENaC: canal epitelial de sodio sensible al amiloride; NHE: intercambiador Na-H; SCT: sincitiotrofoblasto.

del Na^+ entra al sistema placentario desde la cara apical por medio de transportadores y canales iónicos como el canal epitelial de sodio sensible al amiloride (ENaC) y el intercambiador Na-H (NHE), y la mayor parte del Na^+ (y agua) que se mueve hacia el lado fetal para los requerimientos metabólicos retorna al lado materno facilitado por la presencia de la Na-K-ATPasa en las dos caras del SCT⁵ (Fig. 1). En este artículo se relacionarán la actividad de los canales iónicos con la migración celular y su posible participación en la preeclampsia.

El canal epitelial de sodio sensible al amiloride

El canal epitelial de sodio sensible al amiloride (ENaC) está compuesto por tres subunidades homólogas α , β , γ que forman un trímero alrededor del poro por el cual se mueven los iones⁶. En el riñón contribuye con el 5-8% del transporte de Na^+ pero debido a su localización en la nefrona distal es el paso limitante para la reabsorción del Na^+ al igual que en el epitelio de las vías aéreas⁷. En la placenta humana se expresa en la cara apical de las membranas del SCT⁸. El mal funcionamiento del ENaC es importante en enfermedades humanas como el pseudohipoaldosteronismo tipo I, síndrome de Liddle⁹ y la fibrosis quística¹⁰.

Regulación del ENaC

La regulación del ENaC es compleja, activado por la aldosterona y la vasopresina es sensible al amiloride y sus

análogos¹¹ que se unen en forma simultánea a las tres subunidades del ENaC bloqueando el poro iónico¹². Tanto la aldosterona como los estrógenos y la progesterona regulan la expresión de las diferentes subunidades^{13, 14}. La estimulación por aldosterona ocurre en varias fases con cambios en su expresión en la cara apical de las células, en el tráfico de las unidades hacia la membrana celular y en la probabilidad de apertura del canal. En la fase tardía aumenta la expresión de canales en la membrana celular¹⁵. También está regulado por varias proteasas que escinden al ENaC y lo activan¹⁶. Por otro lado, el ENaC está regulado por el citoesqueleto y en esto nos detendremos para una breve explicación.

Las células eucariotas contienen tres tipos de filamentos que se clasifican de acuerdo a su diámetro y estructura en microfilamentos, filamentos intermedios y microtúbulos. Los microfilamentos de 7 nm de diámetro están formados por cadenas de actina. Los filamentos intermedios se componen de proteínas como vimentina, laminina y queratina, y los microtúbulos (15 nm de diámetro) son polímeros de alfa y beta tubulina. La actina es una proteína globular con un sitio de unión al ATP y en presencia de ATP, Mg^{2+} y K^+ , el monómero de actina (G-actina) se polimeriza para formar la forma fibrosa, F-actina, componente de los filamentos de actina. La citocalasina D, un metabolito proveniente de hongos (*Zygosporium mansonii*) se une a uno de los extremos de la F-actina y previene el agregado de más moléculas de G-actina, impidiendo su polimerización y la elongación del filamento. Por el contrario, la faloidina, metabolito proveniente de los hongos del género *Amanita* impide que el filamento de actina se despolimerice. Estas sustancias, en ex-

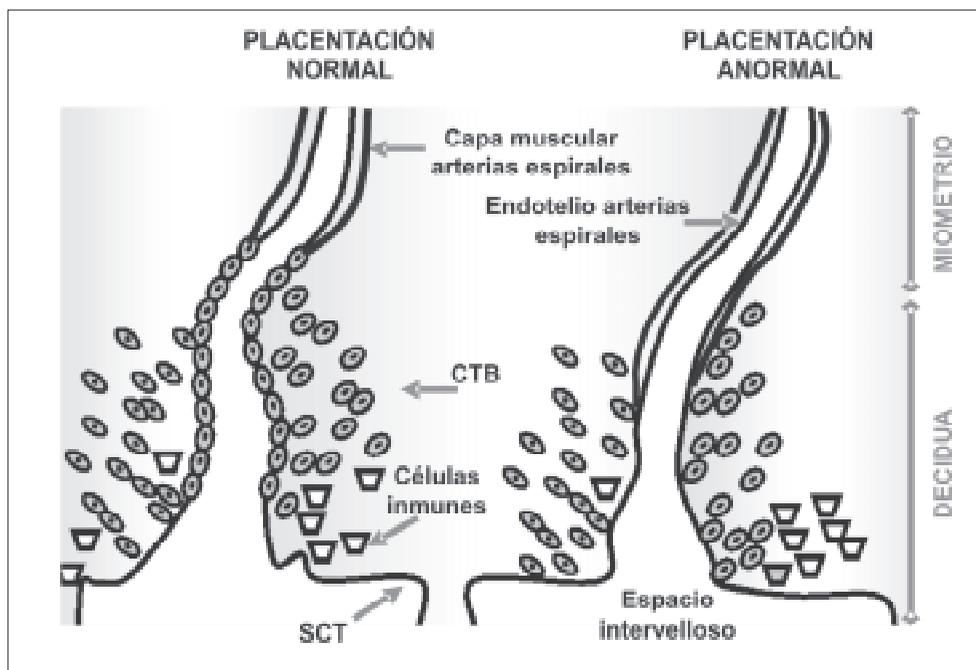


Fig. 2.— Esquema de las arterias espiraladas del útero en que se muestra el reemplazo del endotelio arterial por células del trofoblasto y la falta de este fenómeno en la placentación anormal, una de las causas de la preeclampsia. CTB: citotrofoblasto. SCT: sincitiotrofoblasto. Modificado de Redman et al.³¹

perimentos de electrofisiología, han demostrado que la citocalasina D activa las corrientes iónicas a través de los canales ENaC y el regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR)¹⁷. Estos datos son reforzados por la demostración que el extremo carboxilo de la subunidad α del ENaC se une de manera directa a la forma fibrosa de la actina (F-actina), base estructural para la relación funcional entre las dos moléculas¹⁸.

Preeclampsia

La preeclampsia es un síndrome hipertensivo agudo de la gestación caracterizado por hipertensión y proteinuria. La hipertensión arterial complica el 5% de los embarazos, cifra que alcanza el 11% si se cuentan sólo los primeros embarazos, y casi la mitad son cuadros asociados a la preeclampsia. Puede agravarse por edema masivo, coagulación intravascular diseminada, hemorragias, compromiso neurológico con infarto cerebral y convulsiones (eclampsia). Se ha estimado que 40 000 mujeres mueren por año en los países en desarrollo debido a estas complicaciones¹⁹. El 80% de los casos de preeclampsia se manifiesta después de la semana 34 del embarazo con escasa repercusión en el feto, sin alteraciones en el flujo sanguíneo umbilical y pocas anomalías en el desarrollo de las arterias espiraladas. Está asociada a una mayor masa placentaria por diabetes, embarazos

múltiples, anemia y vivir en grandes alturas. El 20% restante se manifiesta antes de la semana 34 con cambios en el flujo sanguíneo intrauterino y en el flujo umbilical y signos de menor crecimiento fetal, manifestaciones que se confunden con el cuadro de restricción de crecimiento intrauterino²⁰. Numerosas investigaciones analizan el valor de proteínas plasmáticas como las endoglinas y la PP13 como marcadores para la detección temprana de la preeclampsia²⁰. El síndrome HELLP (*hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet*)^{21, 23} se encuentra en cerca del 20% de los casos de preeclampsia grave aunque los mecanismos fisiopatogénicos entre los dos síndromes son diferentes²⁴.

La preeclampsia ocurre sólo en presencia de la placenta; la remoción de la misma normaliza la sintomatología en la mayoría de los casos, la placenta es primordial en su desarrollo. No se conoce la causa del síndrome; existen varias hipótesis, todas ellas con una profusa literatura que las apoya: insuficiencia placentaria, reacción autoinmune, el estrés oxidativo, liberación de fragmentos de trofoblasto apoptóticos, disminución en la síntesis de aldosterona, sustancias anti-angiogénicas y una inadecuada invasión de las arterias espiraladas del trofoblasto que alterarían el desarrollo de la vasculatura materno fetal y, por consecuencia, un defecto en la implantación fetal. Sobre esta hipótesis nos detendremos aquí en su posible relación con una anomalía en la invasión del trofoblasto. Se pueden consultar las recientes

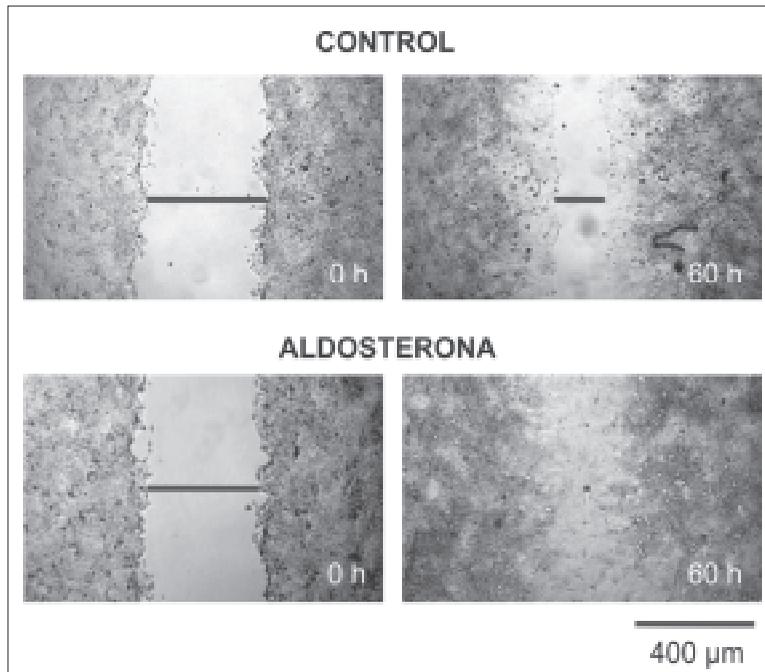


Fig. 3.— Reparación de la herida en un cultivo de células BeWo. Se observa la brecha de la herida a tiempo 0 y 60 horas en condiciones experimentales control y en cultivos en presencia de aldosterona que acelera el proceso de relleno de la herida.

revisiones para una discusión de los mecanismos fisiopatológicos y tratamiento de los cuadros²⁵⁻³⁰.

De la arteria uterina principal y luego de varias divisiones se originan las arterias espirales que se introducen en el endometrio y lo nutren. Durante el embarazo normal las células del trofoblasto invaden la pared uterina y las arterias espirales, reemplazando su endotelio. Esto lleva a un remodelado de la arteria que pierde la capa muscular con una disminución en la resistencia del árbol vascular y la consiguiente dilatación y aumento del flujo sanguíneo (Fig. 2). Una de las hipótesis sobre las causas de la preeclampsia es que este remodelamiento arterial podría estar alterado llevando a una disminución en el flujo sanguíneo y sus efectos sobre el desarrollo del feto (Fig. 2; detalles en las referencias^{20, 31, 32}).

Migración celular y actividad de canales iónicos

La migración celular es crucial en la defensa inmunológica, la morfogénesis embrionaria, la reparación de heridas y la regeneración de los tejidos. Es un fenómeno complejo que requiere de la integración de señales mecánicas y químicas que llevan a la represión en la expresión de moléculas de adhesión por una regulación epigenética de las mismas y a cambios en el volumen y en el citoesqueleto celular³³. La regulación aberrante de

este proceso permite el progreso de enfermedades, como ocurre en la invasión de los tumores malignos y el origen de la preeclampsia. Vila-Carriles et al.³⁴ han demostrado que parte del mecanismo por el cual los gliomas invaden los tejidos normales es por una corriente de Na^+ mediada por un canal de la familia de las degenerinas, a los que pertenece también el ENaC⁶. La expresión de estos canales es menor o inexistente en los astrocitos normales o gliomas de bajo grado de malignidad. La mayor expresión de canales en las células de los gliomas muy invasores representaría una adaptación de las células tumorales que facilitan su progresión. La inhibición específica de este canal podría ser una estrategia terapéutica que aún no ha sido probada.

La migración es iniciada por la protrusión de la membrana celular en el frente de avance por medio de una estructura, el lamelipodio, que se adhiere al sustrato generando la fuerza necesaria para el desplazamiento celular³⁵. Esto ocurre cuando se polimerizan los filamentos de actina del lamelipodio en respuesta a numerosos factores, entre ellos los cambios en el volumen. Existe una dependencia mutua entre el citoesqueleto y el volumen celular, porque la habilidad de la célula para modificar su volumen ante los cambios de tonicidad ambiente es regulada por los filamentos de actina y es abolida cuando no se permite la polimerización de los filamentos de actina con citocalasina D; a su vez, los cambios en el volumen influyen en el estado de los filamentos de actina³⁶. Aun-

que los mecanismos son más complejos que el presentado, sirve esto para tener una idea de la forma en que se mueven y migran las células. En síntesis, el transporte iónico crea el medio óptimo para el estado de los filamentos de actina y el resto de las proteínas del citoesqueleto que intervienen en la migración celular^{35, 36}. Reforzando esta idea, Klein et al.³⁸ han demostrado que las células renales que expresan un menor número de intercambiadores NHE migran en forma más lenta que las normales.

Migración celular, reparación de las heridas y placentación

Tanto la migración celular como la proliferación celular son responsables en parte de los mecanismos de reparación de una herida. Por esto estudiamos el efecto del canal ENaC en la migración celular de células BeWo, derivadas del trofoblasto humano³⁹. El procedimiento consiste en provocar una herida en un cultivo celular y estudiar la reparación de la misma por el relleno de la herida en función del tiempo^{40, 41}. Para disminuir al máximo la proliferación celular, las células se mantienen en una baja concentración de suero fetal bovino y la proliferación celular se mide por ensayo colorimétrico específico con el agente MTT ((3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) que permiten obtener el % de viabilidad. Los resultados sugieren que el ENaC intervendría en la cicatrización de los cultivos de células BeWo. Así, la aplicación de aldosterona aumenta la velocidad de reparación y por el contrario, el bloqueo del ENaC con amiloride resulta en una menor velocidad de la reparación de la herida (Fig. 3). Ninguno de estos tratamientos modifica la proliferación celular como ocurre en el músculo cardíaco tratado con aldosterona⁴², por lo que la migración celular sería en principio la responsable principal en nuestros resultados. De nuestros experimentos podemos sugerir que el efecto del ENaC sobre la reparación de la herida se debe a una estimulación de su síntesis en forma independiente a su ubicación de membrana³. Aunque estos resultados fueron obtenidos en estudios *in vitro*, es interesante mencionar en relación al mecanismo de la preeclampsia que los niveles plasmáticos de aldosterona son menores en las mujeres con preeclampsia^{29, 43} y que esta hormona penetra en la placenta⁴⁴.

¿Cuál sería el mecanismo por el cual el ENaC interviene en la reparación de las heridas? Hernández et al.⁴⁵ proponen que la despolarización celular debido a influjo de iones Na⁺ por canales ENaC es mayor en los bordes de la herida y desde allí se propagaría hacia las zonas más alejadas con cambios en el citoesqueleto, paso necesario para la migración celular y reparación de las heridas. Como se comentó más arriba, la migración celular requiere de la integración de múltiples señales, entre ellas

los estímulos mecánicos. El ENaC pertenece a las degenerinas, una superfamilia que codifica proteínas que intervienen en procesos biológicos como la nocicepción, sentido del gusto salado y táctil, homeostasis del Na⁺ y mecanotransducción⁴⁶. Cambios en la presión hidrostática y estiramiento regulan el ENaC^{40, 47} y por su relación con el citoesqueleto podría ser el nexo entre determinados estímulos mecánicos y la migración celular. Estos fenómenos descritos en cultivos de células BeWo derivadas del trofoblasto humano podrían aplicarse a la placentación humana. La anormal invasión de las arterias espirales por el citotrofoblasto podría ser relevante en la fisiopatología de algunos tipos de preeclampsia.

Agradecimientos: S.M. del Mónaco es becaria del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), G. Marino es becaria de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 38181). Y. Assef y B.A. Kotsias son miembros de la Carrera del Investigador del CONICET. Este trabajo ha sido realizado con subsidios de la Universidad de Buenos Aires (MO44) y de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 38181).

Conflictos de interés. Ninguno.

Bibliografía

1. Stulc J. Placental transfer of inorganic ions and water. *Physiol Rev* 1997; 77: 805-6.
2. Bernucci L, Henríquez M, Díaz P, Riquelme G. Diverse calcium channel types are present in the human placental syncytiotrophoblast basal membrane. *Placenta* 2006; 27: 1082-95.
3. Sibley CP, Glazier JD, Greenwood SL, et al. Regulation of placental transfer: the Na⁽⁺⁾/H⁽⁺⁾ exchanger. A review. *Placenta* 2002; 23 Suppl A: S39-46.
4. Belkacemi L, Bédard I, Simoneau L, Lafond J. Calcium channels, transporters and exchangers in placenta: a review. *Cell Calcium* 2005; 37: 1-8.
5. Johansson M, Jansson T, Powell TL. Na⁽⁺⁾-K⁽⁺⁾-ATPase is distributed to microvillous and basal membrane of the syncytiotrophoblast in human placenta. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R287-94.
6. Jasti J, Furukawa H; Gonzales EB, Goaux E. Structure of acid-sensing ion channel 1 at the 1.9 Å resolution and low pH. *Nature* 2007; 449: 316-23.
7. Donaldson SH, Hirsh A, Li DC, Holloway G, Chao J, Boucher RC, Gabriel SE. Regulation of the epithelial sodium channel by serine proteases in human airways. *J Biol Chem* 2002; 277: 8338-45.
8. Del Mónaco S, Assef Y, Damiano A, Zotta E, Ibarra C, Kotsias BA. Characterization of the epithelial sodium channel in human pre-eclampsia syncytiotrophoblast. *Medicina (Buenos Aires)* 2006; 66: 31-5.
9. Lifton RP, Gharavi AG, David S, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell* 2001; 104: 545-56.
10. Donaldson SH, Boucher RC. Sodium channels and cystic fibrosis. *Chest* 2007; 132: 1631-6.
11. Gormley K, Dong Y, Sagnella GA. Regulation of the epithelial sodium channel by accessory proteins. *Biochem J* 2003; 371: 1-14.
12. Kashlan OB, Sheng S, Kleyman TR. On the interaction between amiloride and its putative alpha-subunit epithelial

- lial Na⁺ channel binding site. *J Biol Chem* 2005; 280: 26206-15.
13. Gambling L, Dunford S, Wilson CA, McArdle HJ, Baines DL. Estrogen and progesterone regulate α , β , and γ ENaC subunit mRNA levels in female rat kidney. *Kidney Int* 2004; 65: 1774-81.
 14. Edinger RS, Yospin J, Perry C, Kleyman TR, Johnson JP. Regulation of epithelial Na⁺ channels (ENaC) by methylation: a novel methyltransferase stimulates ENaC activity. *J Biol Chem* 2006; 281: 9110-7.
 15. Kellenberger S, Schild L. Epithelial sodium channel/degnerin family of ion channels: a variety of functions for a shared structure. *Physiol Rev* 2002; 82: 735-67.
 16. Wakida N, Kitamura K, Tuyen DG, et al. Inhibition of prostatic-induced ENaC activities by PN-1 and regulation of PN-1 expression by TGF-beta1 and aldosterone. *Kidney Int* 2006; 70: 1432-8.
 17. Cantiello HF. Role of the actin cytoskeleton in the regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Exp Physiol* 1996; 81: 505-14.
 18. Mazzochi C, Bubien JK, Smith PR, Benos DJ. The carboxyl terminus of the alpha-subunit of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel binds to F-actin. *J Biol Chem* 2006; 281: 6528-38.
 19. Villar J, Saya L, Shennan B, et al. Methodological and technical issues related to the diagnosis, screening, prevention, and treatment of pre-eclampsia and eclampsia. *Int J Gynecol Obstet* 2004; 85 Suppl.1 S28-S41.
 20. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia. Challenging the current hypothesis. *Hypertension* 2008; 51: 970-5.
 21. Toblli JE, Engel HJ, Podzun I, González GF. Proteinuria masiva y síndrome HELLP. *Medicina (Buenos Aires)* 1992; 52: 157-60.
 22. Capellino MF, Galetto S, Sad Larcher JM, Travella C, Ferreyra M, Ruiz Orrico G. Nueve casos del síndrome HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y plaqueta-poenia). *Medicina (Buenos Aires)*. 2003; 63: 383-7.
 23. Malvino E, Muñoz M, Ceccotti C, et al. Complicaciones maternas y morbilidad perinatal en el síndrome HELLP. Registro multicéntrico en unidades de cuidados intensivos del área Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* 2005; 65: 17-23.
 24. Vinnars MT, Wijnaendts LC, Westgren M, Bolte AC, Papadogiannakis N, Nasiell J. Severe preeclampsia with and without HELLP differ with regard to placental pathology. *Hypertension* 2008; 51: 1295-9.
 25. Mejía R, Sarto A. Fisiopatología de la preeclampsia. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 56: 308-12.
 26. Caramelo C, Peña Deudero JJ, et al. Respuesta a la hipoxia. Un mecanismo sistémico basado en el control de la expresión génica. *Medicina (Buenos Aires)* 2006; 66: 155-64.
 27. Damiano AE, Zotta E, Ibarra C. Functional and molecular expression of AQP9 channel and UT-A transporter in normal and preeclamptic human placentas. *Placenta* 2006; 27: 1073-81.
 28. Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. CPEP Study Group. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Medicine* 2006; 355: 992-1005.
 29. Escher G, Mohaupt M. Role of aldosterone availability in preeclampsia. *Mol Aspects Med* 2007; 28: 245-54.
 30. Sibai BM, Barton JR. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: patient selection, treatment, and delivery indications. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 514.e1-9.
 31. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005; 308: 1592-4.
 32. Roberts JM, Catov JM. Preeclampsia more than one disease or is it?. *Hypertension* 2008; 51: 989-90.
 33. Rahnama F, Shafiei F, Gluckman PD, Mitchell MD, Lobie PE. Epigenetic regulation of human trophoblastic cell migration and invasion. *Endocrinology* 2006; 147: 5275-83.
 34. Vila-Carriles WH, Kovacs GG, Jovov B, et al. Surface expression of ASIC2 inhibits the amiloride-sensitive current and migration of glioma cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 19220-32.
 35. Yamaguchi H, Condeelis J. Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 642-52.
 36. Schwab A. Function and spatial distribution of ion channels and transporters in cell migration. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280: F739-F47.
 37. Schwab A, Rossmann H, Klein M, et al. Functional role of Na⁺-HCO₃⁻ cotransport in migration of transformed renal epithelial cells. *J Physiol* 2005; 568: 445-58.
 38. Klein M, Seeger P, Schuricht B, Alper SL, Schwab A. Polarization of Na⁺/H⁺ and Cl⁻/HCO₃⁻ exchangers in Migrating Renal Epithelial Cells. *J Gral Physiology* 2000; 115: 599-608.
 39. Montalbetti N, Timpanaro GA, Cantero MR, Cantiello HF. Calcium regulation and transport by polycystin-2 in term human syncytiotrophoblast. *Placenta* 2008; 29, abstract 67.
 40. Grifoni SC, Gannon KP, Stec DE, Drummond HA. ENaC proteins contribute to VSMC migration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H3076-86.
 41. Del Mónaco S, Assef Y, Damiano A, Ibarra C, Kotsias BA. The epithelial sodium channel (ENaC) in BeWo cells. III Simposio Latinoamericano de Fisiología de la placenta. Córdoba, Argentina, 4-7 de noviembre de 2007.
 42. Stockand JD, Meszaros JG. Aldosterone stimulates proliferation of cardiac fibroblasts by activating Ki-RasA and MAPK1/2 signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: H176-84.
 43. Shojaati K, Causevic M, Kadereit B, et al. Evidence for compromised aldosterone synthase enzyme activity in preeclampsia. *Kidney Int* 2004; 66: 2322-8.
 44. Bayard F, Ances IG, Tapper AJ, Weldon VV, Kowarski A, Migeon CJ. Transplacental passage and fetal secretion of aldosterone. *J Clin Invest* 1970; 49: 1389-93.
 45. Hernández JA, Grasso S, Chifflet S. A possible role for membrane depolarization in epithelial wound healing. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288: C1420-30.
 46. Drummond HA, Grifoni SC, Jernigan NL. A new trick for old dogma: ENaC proteins as mechanotransducers in vascular smooth muscle. *Physiology* 2007; 23: 23-31.
 47. Carattino MD, Sheng S, Kleyman TR. Epithelial Na⁺ channels are activated by laminar shear stress. *J Biol Chem* 2004; 279: 4120-6.