

INIBIÇÃO DE APOPTOSE E RETARDO DA MATURAÇÃO PLACENTÁRIA: UM PROVÁVEL MECANISMO DA RETENÇÃO PLACENTÁRIA NA BRUCELOSE BOVINA (REVISÃO DE LITERATURA)

APOPTOSIS INHIBITION AND DELAY OF PLACENTAL MATURATION: A PROPOSED MECHANISM OF PLACENTAL RETAINMENT IN BOVINE BRUCELLOSIS (REVIEW)

Karina Kelly de Oliveira Luquesi MEÇA¹; Anilton Cesar VASCONCELOS²; Luciana MORO²

RESUMO: A brucelose é uma doença de grande importância em saúde pública, causa grande perda de produtividade em rebanhos bovinos, além de prejuízos em decorrência das barreiras sanitárias no mercado internacional. No bovino, a brucelose induz aborto, mortalidade neonatal, placentite necrotizante e retenção de placenta. Como tecidos em necrose usualmente são friáveis, seria esperado que a placenta se desprendesse mais rapidamente e não ficasse retida em decorrência da placentite necrotizante na brucelose. Há evidências de que bactérias do gênero *Brucella* inibem a apoptose ao infectar determinados tipos celulares. A *Brucella abortus* tem a habilidade de infectar e se multiplicar no trofoblasto. A expulsão adequada da placenta no momento do parto depende da maturação deste órgão, que decorre da diminuição da celularidade e da ocorrência de apoptose nos tecidos fetal e materno. Propõe-se aqui que a *Brucella abortus*, direta ou indiretamente, iniba a apoptose de células placentárias e, conseqüentemente, retarde a maturação placentária. Esse fato poderia explicar melhor a retenção placentária que se desenvolve na brucelose bovina.

UNITERMOS: Apoptose; Brucelose; Retenção de placenta.

Revisão de Literatura

Brucelose

A brucelose bovina ocorre de maneira endêmica e a estimativa de animais soropositivos no Brasil varia entre 2,5% e 7,5%, dependendo da região. Além da possível contaminação dos consumidores de produtos de origem animal, a brucelose pode causar até 20% de perda de produtividade em rebanhos bovinos. Além disso, a brucelose torna a carne, leite e derivados vulneráveis a barreiras sanitárias no mercado internacional, causando um prejuízo de 32 milhões de dólares ao ano para a economia brasileira (POESTER; GONÇALVES; PEREIRA, 2002).

Representantes do gênero *Brucella* são pequenos cocobacilos, Gram negativos, imóveis (CORBEL; STUART; BREWER, 1984). São muito resistentes e podem sobreviver por grandes períodos no meio ambiente

(CRAWFORD; HUBER; BRUCE, 1990). Sua multiplicação ocorre nas células do hospedeiro ou em meio de cultura, sendo considerado um parasito intracelular facultativo (SMITH; FICHT, 1990).

Nos bovinos, a *Brucella abortus* pode ser encontrada principalmente nos testículos, glândulas sexuais e útero gestante, onde o eritritol é encontrado em grande concentração. O eritritol estimula a multiplicação brucélica, já que a energia produzida pelo seu metabolismo é maior do que a produzida pela utilização da glicose. Assim, a *Brucella abortus* se concentra nesses locais, culminando com placentite necrotizante focal, aborto, retenção placentária e infertilidade (CORBEL, 1997; SMITH; FICHT, 1990).

A placenta bovina e sua maturação

Durante a gestação são formadas entre 70 a 120 carúnculas no endométrio bovino (MARQUES JÚNIOR;

¹ Mestranda em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) Laboratório de Apoptose, Departamento de Patologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Faculdade de Medicina da UFMG.

² Doutor, Professor adjunto do Departamento de Patologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Faculdade de Medicina da UFMG.
Received: 24/06/05 Accepted: 23/09/05

BARRETO FILHO; SATURNINO, 1993). As carúnculas compõem a parte materna da placenta, sendo recobertas pelas membranas fetais que crescem e se expandem para dentro do lume uterino, formando estruturas fetais irregulares, que são conhecidas como cotilédones (SCHAFER; FISHER; DAVIES, 2000). Os componentes fetais se constituem de endotélio, mesênquima e trofoblasto. Os maternos são epitélio uterino, tecido conjuntivo e endotélio (RAMSEY, 1982). Entre os cotilédones há áreas de tecido coriônico liso (RAMSEY, 1982). Assim, a placenta bovina é classificada como cotiledonária (WOODING, 1992), epiteliorial ou sinepiteliorial, vilosa (RAMSEY, 1982), devido à presença dos vilos; não deciduada, por que as partes materna e fetal podem ser separadas sem causar danos à mucosa uterina após o parto (BJORKMAN, 1970; STEVEN, 1975).

Com o crescimento placentário, os cotilédones projetam vilos coriônicos que se interdigitam com as criptas carunculares formando a unidade funcional da placenta, o placentomo (AMOROSO, 1952; STEVEN, 1975). Essas interdigitações aumentam a superfície de contato entre o tecido fetal e materno (STEVEN; MORRIS, 1975). Segundo King, Atkinson e Robertson (1982), com a invasão dos vilos, os placentomos crescem aproximadamente cinco mil vezes, envolvendo próximo ao parto.

Vilos coriônicos são cones mesenquimatosos vascularizados, revestidos por células trofoblásticas cuboidais ou células principais mononucleadas e células gigantes com dois ou mais núcleos (BJÖRKMAN, 1970; JAINUDEEN; HAFEZ, 1993).

As células trofoblásticas cuboidais mononucleadas possuem núcleos arredondados com grandes nucléolos. As células gigantes possuem núcleos esféricos, amplamente separados, com nucléolos evidentes e citoplasma abundante. O epitélio da cripta uterina é cúbico ou achatado. Suas células possuem núcleos esféricos e nucléolos bem evidentes (BJÖRKMAN, 1969).

Durante a gestação, as células binucleadas coriônicas migram do epitélio coriônico para se fundir com as células epiteliais uterinas. Essa fusão origina células multinucleadas. Com isso, forma-se um epitélio materno-fetal híbrido, explicando a classificação em placenta sinepiteliorial (WOODING, 1992).

A liberação da placenta após o parto envolve a perda da adesão materno-fetal e ocorre somente após a maturação do placentomo. As contrações uterinas durante o parto ajudam mecanicamente a eliminação placentária. Um fator determinante na liberação é a desagregação da vilosidade materno-fetal (BJORKMAN, 1969).

O processo de maturação placentária envolve o achatamento do epitélio nas carúnculas maternas, que é intensificado 3 a 5 dias antes do parto (GRUNERT, 1984) e a diminuição do número de células binucleadas do trofoblasto e células epiteliais das carúnculas maternas (SANTOS, 1995; WANGO, HEAP, WOODING, 1992). O feto aparentemente participa da manutenção da população de células binucleadas (WOODING, 1992) e as alterações hormonais antes do parto parecem favorecer a diminuição dessas células (MARTINS, 1999a). O número de células nas criptas carunculares declina a partir dos 270 dias de gestação (BARRETO FILHO; MARQUES JÚNIOR, 1993; WOICKE *et al.*, 1986).

A redução do suprimento sangüíneo das carúnculas maternas e da circulação placentário-fetal ajuda na desagregação feto-maternal após o parto. As vilosidades coriônicas tornam-se menos aderidas às criptas carunculares devido aos períodos alternados de hiperemia e isquemia e às enzimas proteolíticas, tais como a colagenase, que diminuem a adesão da matriz extracelular na interface materno-fetal (JEFFREY; EHLICH; ROSWIT, 1991).

A liberação fisiológica da placenta ocorre geralmente entre 3 a 6 horas após o parto. A proteólise do cotilédone e a diminuição da adesividade na interface carúncula-cotilédone resultam na liberação da placenta. As colagenases são capazes de reduzir a viscosidade específica do colágeno. A atividade dessas enzimas durante a liberação da placenta é aumentada nas vilosidades de vacas saudáveis e diminuída em vacas com retenção placentária (GROSS; WILLIAMS; MANSPECKER, 1985).

A progesterona é o antagonista direto das contrações uterinas induzidas tanto pela ocitocina quanto pelas prostaglandinas. No dia anterior ao parto as concentrações plasmáticas de progesterona caem acentuadamente (HAFEZ; JAINUDEEN, 1995).

Na semana anterior ao parto, há o aumento rápido nas concentrações do cortisol fetal, que inibe gradualmente a síntese de progesterona pelo útero e placenta (HUNTER *et al.*, 1977) e induz a produção de estrogênios (HOFFMANN *et al.* 1979; MCDIARMID, 1983). Cerca de 7 dias antes do parto há um aumento abrupto das concentrações plasmáticas de estrogênio (CHEW *et al.*, 1977).

O aumento de estrogênio e a diminuição de progesterona no final da gestação estimulam a secreção da $PGF_{2\alpha}$ (LINDELL; KINDAHL; EDQVIST, 1977), que começa a aumentar 24 a 36 horas antes do parto atingindo o pico no momento do mesmo (GOFF; HORST, 1997). A $PGF_{2\alpha}$ causa a luteólise (KORDTS; JOCHLE,

1975; LEWING; PROULX; MAPLETOFT, 1985), aumenta o número de receptores para ocitocina e inibe a síntese de progesterona no útero (GOFF; HORST, 1997), desencadeando o parto (HADLEY, 1996).

Segundo Gross, Williams e Moreland. (1986), a administração de PGF_{2α} uma hora antes do parto previne a retenção de placenta. As células binucleadas dos vilos coriônicos são a principal fonte de produção de prostaglandinas na placenta, a partir do ácido araquidônico (GROSS; WILLIAMS, 1986).

Com o aparecimento das contrações uterinas há a compressão mecânica dos placentomas induzindo o relaxamento das vilosidades coriônicas o qual favorece o desprendimento dos cotilédones (CHALLIS; LYE, 1994). Em seguida, com a presença de contrações abdominais, o feto é forçado para o interior da pelve e os placentomas são comprimidos contra o feto pela pressão da parede abdominal e contrações uterinas. Após a expulsão fetal o fluxo sanguíneo umbilical é interrompido. Com isso há isquemia dos vilos coriônicos e contração dos capilares facilitando a separação entre os vilos e as criptas. Nesse estágio, as contrações uterinas diminuem de amplitude, mas permitem a liberação da placenta (HAFEZ; JAINUDEEN, 1995).

Segundo Woicke et al. (1986), distúrbios no processo de maturação podem resultar na retenção placentária. Esses autores demonstraram experimentalmente que vacas com parto normal apresentavam o epitélio materno descontínuo com intenso achatamento e diminuição do número de células maternas. Por outro lado, animais com retenção apresentaram o epitélio das criptas carunculares contínuo e com células cuboidais, indicando ausência de maturação.

A retenção de placenta (RP) ou retenção das membranas fetais é conceituada como a ausência da separação da carúncula materna (retenção primária), ou a dificuldade mecânica em expelir a membrana fetal já separada (retenção secundária) (EILER, 1997).

Em bovinos, a recuperação do trato reprodutivo no período pós-parto permite o aumento da eficiência reprodutiva e conseqüentemente melhor desempenho da atividade pecuária. A expulsão placentária no tempo normal e a adequada involução uterina possibilitam, juntamente com outros fatores, o retorno à atividade ovariana luteínica cíclica pós-parto. Com isso há um rápido restabelecimento do ambiente uterino para uma nova gestação (MARTINS, 1999a).

É difícil definir precisamente a retenção patológica da placenta considerando-se o tempo decorrido após o parto (LAVEN; PETERS, 1996). As escalas de tempo usadas variam entre 6 e 71 horas (VAN WERVEN

et al., 1992). Segundo Eiler (1997), os efeitos danosos à performance reprodutiva, produção de leite, doença pós-parto e taxa de abate são principalmente detectados quando a retenção excede o período de 12 horas.

A incidência da RP em bovinos é muito variável, pois depende de como é definida e do país de origem (LAVEN; PETERS, 1996). Segundo Paisley, Mickelsen e Anderson (1986) ela normalmente varia de 3 a 12 %. Em alguns países subdesenvolvidos a incidência pode chegar a 30 % (ex.: Bangladesh) (PUTRO, 1988; SAMAD; RAHMAN; ISLAM, 1989).

A RP ocorre com freqüência em vacas leiteiras levando a transtornos reprodutivos no período pós-parto. Os efeitos da RP na fertilidade podem ser divididos em efeitos diretos e indiretos. O principal efeito direto da RP é o aumento no intervalo entre partos (BORSBERRY; DOBSON, 1989; ERB et al., 1981). Os efeitos indiretos da RP na fertilidade estão associados com o desenvolvimento de metrite (CURTIS et al., 1985).

A placenta retida é isquêmica, hipóxica e carente de nutrientes. No entanto, ela continua metabolicamente ativa por vários dias. Na presença de estresse metabólico, liberam-se mediadores bioquímicos que causam imunossupressão no útero (PGE₂), aumento da permeabilidade vascular (histamina e prostaglandinas), aumento da atividade lisossômica (proteólise), danos endometriais (liberação de histaminas por mastócitos) e redução da quimiotaxia e migração de leucócitos. A associação desses fatores pode levar à metrite e à conseqüente diminuição da fertilidade (EILER, 1997).

Segundo Holm, Salvatore e Zeek-Mining (1964), a gestação prolongada pode levar à RP por ocasionar mudanças proliferativas no epitélio caruncular que, mecanicamente, impediriam a liberação da placenta. Da mesma forma, por deficiência mecânica de liberação, a placentite e a cotiledonite podem favorecer a RP. Metrite aguda pós-parto (ex.: pelo *Actinomyces pyogenes*) pode levar à inércia uterina, RP e placentite (LAVEN; PETERS, 1996).

Apoptose

Apoptose ou morte celular programada é um tipo de morte celular ativa que requer energia, síntese (KERR; WYLLIE; CURRIE, 1972) e degradação protéicas. Trata-se de um mecanismo fisiológico de controle celular que regula o tamanho dos tecidos, exercendo um papel oposto ao da mitose (VASCONCELOS, 1995).

A ausência ou a exacerbação do fenômeno de apoptose podem resultar em conseqüências desastrosas para os tecidos (MILLER; MARX, 1998). Dessa forma,

a inibição da apoptose contribui para o desenvolvimento de tumores, já a indução excessiva pode acarretar imunossupressão (WYLLIE; KERR; CURRIE, 1980) e várias doenças neuro-degenerativas, tais como a Doença de *Alzheimer* (BARINAGA, 1998).

À microscopia óptica, as células apoptóticas são retraídas (tipicamente circundadas por um halo claro) e possuem citoplasma acidofílico. Os núcleos dessas células sofrem uma série de alterações incluindo marginação da cromatina, condensação e fragmentação, seguidas pela fragmentação da célula em corpos apoptóticos (WYLLIE, 1980). A morte celular por apoptose não altera as células circunjacentes, diferentemente da célula necrótica que induz inflamação. Assim, a célula em apoptose se fragmenta silenciosamente, empacotando seus constituintes e os oferece às células adjacentes que os fagocitam e os reciclam (BORISENKO *et al.*, 2003).

Apoptose na maturação e liberação da placenta

Tanto a proliferação celular quanto a apoptose desempenham papel importante na função placentária. Ambos os processos são inversamente proporcionais ao longo da gestação (BOOS; JANSSEN; MÜLLING, 2003). Segundo Smith, Baker e Symonds (1997), a apoptose atinge células de todos os tipos na placenta humana. A sua ocorrência aumenta consideravelmente no terço final da gestação (BOOS; JANSSEN; MÜLLING, 2003; SMITH; BAKER; SYMONDS, 1997). Nesse caso, a apoptose parece estar relacionada com o mecanismo de remodelação placentária auxiliando na manutenção adequada das proporções teciduais (SMITH; BAKER; SYMONDS, 1997).

Fisiologicamente, a apoptose possibilita a eliminação de células desnecessárias a fim de se manter a homeostase tecidual (WÖHRL; HÄCKER, 1999). Nos momentos que antecedem o parto a placenta precisa já estar hipocelularizada para que seja liberada normalmente (BARRETO FILHO; MARQUES JÚNIOR, 1993). Vacas com retenção placentária apresentam um aumento de células epiteliais maternas (SANTOS; MARQUES JÚNIOR, 1998). Estudos morfológicos demonstraram que a maturação placentária está relacionada com a diminuição da população celular dos tecidos fetal e materna no placentomo (BARRETO FILHO; MARQUES

JÚNIOR, 1993; MALARD *et al.*, 1996; MARQUES JÚNIOR, 1988; SANTOS, 1995; SANTOS; MARQUES JÚNIOR; BARRETO FILHO, 1997) e com a ocorrência de apoptose (MARTINS, E., 1999; MARTINS, V. M. V., 1999; NUNES *et al.*, 2000a, 2000b). A apoptose é um evento fisiológico ativo que parece ser requerido tanto para a maturação, quanto para a liberação normal da placenta após o parto (MARTINS, E., 1999; MARTINS *et al.*, 2004; MARTINS, V. M. V., 1999; NUNES *et al.*, 2001;). Martins, E. (1999) supôs que as mudanças hormonais envolvidas com o parto estimulariam a apoptose nas células trofoectodermis e maternas, uma vez que a apoptose é mais intensa no momento do parto. Além disso, observou-se que o número de células apoptóticas em placentomos de vacas que pariram e liberaram normalmente a placenta foi significativamente maior do que nas que tiveram parto a termo com RT. Contrariamente, Boos, Janssen e Mülling, (2003) encontraram maior número de células apoptóticas em placentomos de vacas que apresentaram RT. Possivelmente, o achado de Boos, Janssen e Mülling (2003) tenha sido diferente em decorrência da técnica de marcação utilizada na contagem de células e corpos apoptóticos, uma vez que os autores utilizaram-se da reação de TUNEL. A reação de TUNEL não deve ser utilizada na quantificação de apoptose, uma vez que dá muito falso negativo, principalmente em alguns tecidos, tais como a placenta. Martins, E. (1999) e Martins, V. M. V. (1999) utilizou a coloração de HE, baseando-se nos aspectos morfológicos de apoptose, para a quantificação. Além disso, a apoptose foi também investigada via teste imunoenzimático ELISA e eletroforese de DNA em gel de agarose, corroborando a avaliação microscópica.

Os macrófagos presentes na placenta retida apresentam a mesma distribuição que na placenta normal, porém sua atividade de fosfatase ácida é reduzida em relação à placenta não retida. Esses macrófagos poderiam estar desempenhando um papel de células de limpeza dos corpos apoptóticos na placenta não retida, daí estarem mais ativos. Por outro lado, como a placenta retida apresenta um número menor de células em apoptose, o grau de atividade dos macrófagos seria menor (MIYOSHI; SAWAMUKAI; IWAGA, 2002)

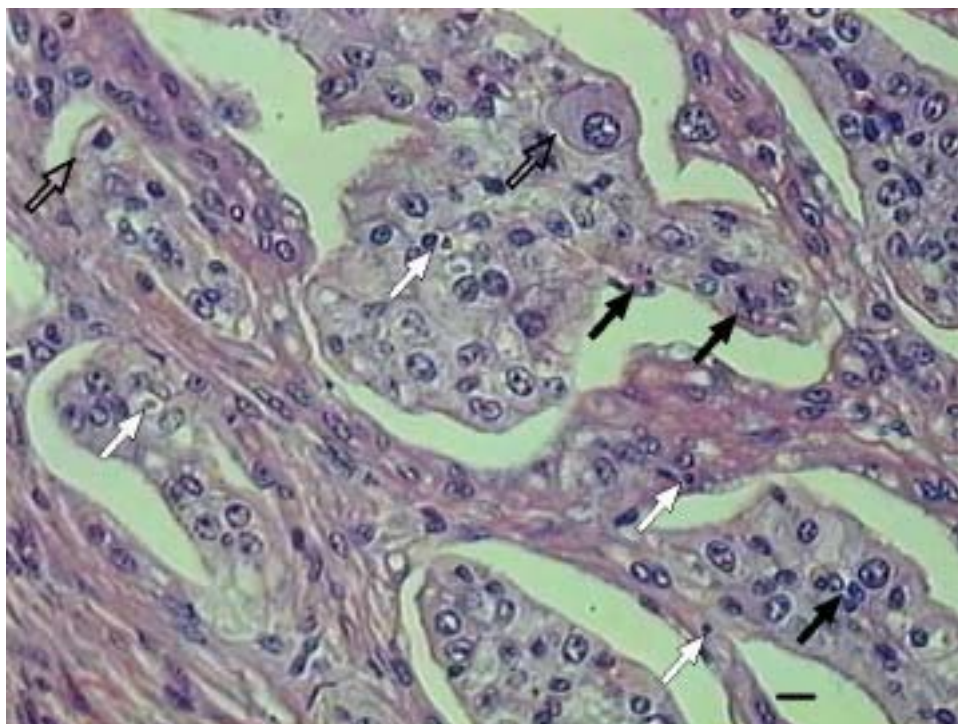


Figura 1. Placenta bovina madura, a termo, com diminuição da celularidade. Observar muitas figuras de apoptose caracterizadas morfologicamente pela retração celular, anoiquia (seta transparente), condensação citoplasmática e nuclear, além de fragmentação nuclear (seta preta) e formação de corpos apoptóticos (seta branca). Hematoxilina-Eosina, Barra = 10 µm.

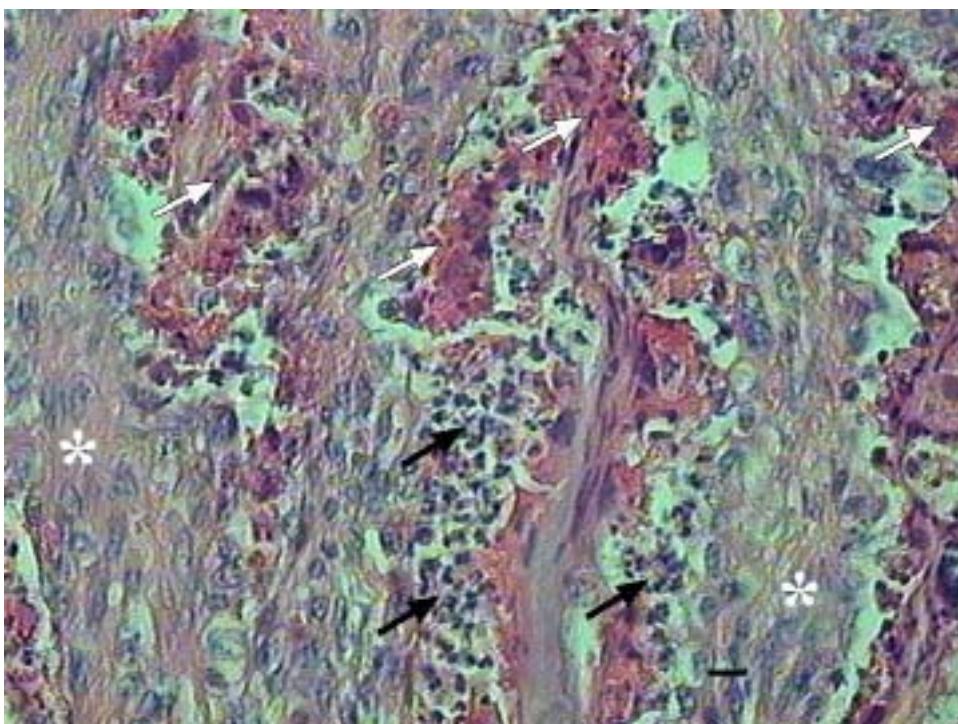


Figura 2. Placentite necrotizante brucélica. Observar áreas de necrose, com debris celulares (setas brancas) e infiltrado inflamatório composto predominantemente por polimorfonucleares (setas negras). O tecido placentário (* branco) não evidencia muitas figuras de apoptose. Hematoxilina-Eosina, Barra = 10 µm.

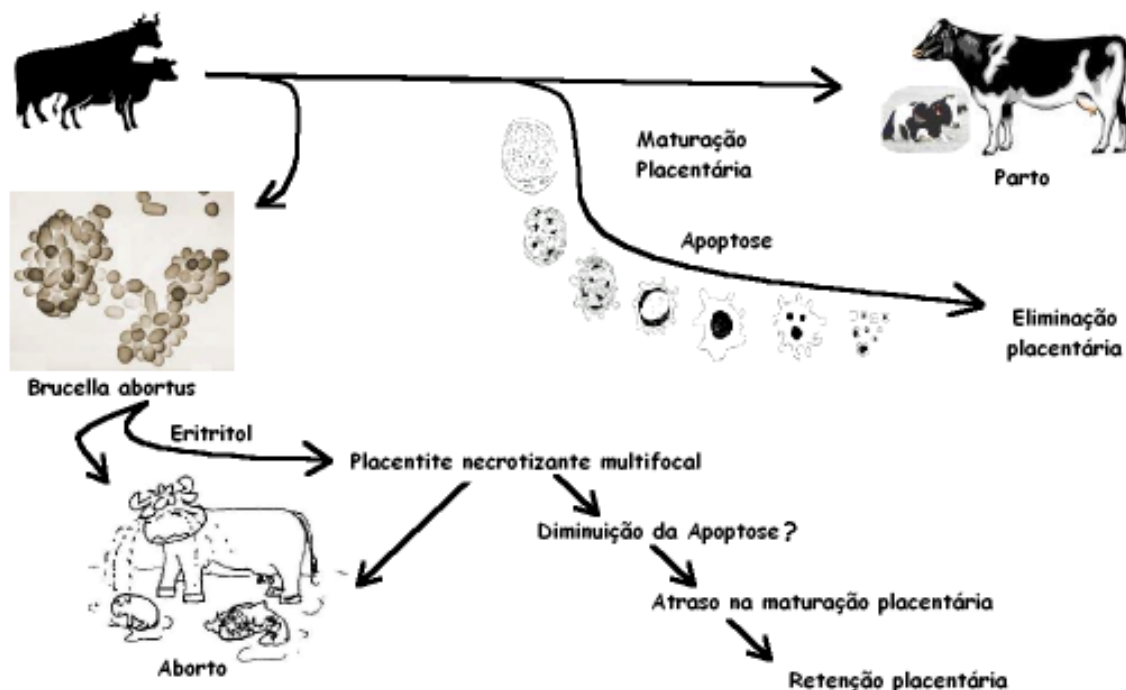


Figura 3. Esquema do mecanismo proposto para explicar a retenção placentária em bovinos brucélicos. A infecção brucélica, além de provocar placentite necrotizante, interferiria na maturação placentária, atrasando o processo por inibir a apoptose responsável pela diminuição da celularidade na proximidade do parto.

Na brucelose, apesar de se verificar placentite necrotizante, é comum a retenção placentária que acaba por promover metrite e infertilidade. O paradoxo aparente é de como um órgão em necrose ainda se mantém retido, já que o esperado – pela friabilidade característica dos tecidos em necrose – era que se desprendesse ainda mais rapidamente. Quando a bactéria do gênero *Brucella* infecta o macrófago, ela impede a fusão do fagolisossomo e inibe a secreção de TNF- α e a apoptose (MARIAPILAR et al., 2005). Gross et al. (2000) relataram que monócitos humanos infectados por *Brucella suis* apresentam superexpressão do gene *Al*, um membro da família *bcl-2* implicado na sobrevivência de células hematopoiéticas. Evidenciaram ainda que a infecção pela *B. suis* torna as células semelhantes a macrófagos resistentes à apoptose induzida por Fas ligante e por IFN- γ , sugerindo que a infecção pela *Brucella* protege a célula de vários processos citotóxicos que ocorrem na resposta imune. Tanto as células infectadas, quanto as não infectadas são protegidas, indicando haver a participação de mediadores solúveis liberados durante a infecção (GROSS et al., 2000). Considerando o fato de que a *B. abortus* infecta e se multiplica no retículo endoplasmático rugoso do trofoblasto (RAMIREZ-ROMERO, 1998), é possível que esse microorganismo possa estar inibindo a

apoptose e, conseqüentemente, a maturação placentária. Indiretamente, poderia também haver a inibição da maturação placentária através da liberação de mediadores solúveis pelos macrófagos infectados e presentes na placenta.

Considerando a importância da apoptose no processo de maturação e liberação placentária normais, postula-se que a infecção brucélica e a inflamação dela decorrente inibam a via apoptótica. Conseqüentemente haveria retardo da maturação e liberação placentárias normais com conseqüente RP.

CONCLUSÃO

A apoptose é importante na redução da população celular durante o processo de maturação e liberação placentária normais.

Propõem-se aqui que a infecção brucélica e a inflamação dela decorrente inibam a ocorrência de apoptose, levando ao retardo da maturação e da liberação placentárias com sua conseqüente retenção.

Assim, a retenção de placenta que se desenvolve na brucelose bovina parece se associar à inibição direta e/ou indireta da apoptose nas células placentárias.

ABSTRACT: Brucellosis is an important disease in public health, causing significant decrease in productivity of affected bovine flocks and also justifying sanitary barriers in the international market. *Brucella bovis* commonly induces abortion, neonatal death, necrotizing placentitis and retention of placenta in cattle. Since necrotic tissues are usually friable, one should not expect placenta with necrotizing placentitis to be retained. Apoptosis seems to play an important role in placental maturation and release. There are some evidences that bacteria of the genus *Brucella* can inhibit apoptosis when infecting some specific cells. *Brucella abortus* infect and multiply in trophoblastic cells. Placental expulsion at the moment of the birth depends on the decrease in cellularity and on the occurrence of apoptosis in fetal and maternal placental tissues. It is proposed here that *Brucella abortus*, directly or indirectly, can inhibit apoptosis of placental cells e, consequently, delay the placental maturation. This fact could better explain the retained placenta usually seen in cattle brucellosis.

UNITERMS: Apoptosis; Brucellosis; Retained placenta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMOROSO, E. C. Placentation. In: PARKES, A. S. **Marshall's physiology of reproduction**. 3. ed. London: Longmans Green, 1952. p. 127-311.

BARINAGA, M. Is apoptosis key in Alzheimer's Disease?. **Science**, Washington, v. 281, n. 5381, p. 1303-1304, Aug. 1998.

BARRETO FILHO, J. B.; MARQUES JUNIOR, A. P. Aspectos histológicos da placenta de vacas zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 45, n. 4, p. 385-393, Ago. 1993.

BJORKMAN, N. Light and electron microscopic studies on cellular alterations in the normal bovine placentome. **Anatomical Record**, New York, v. 163, n. 1, p. 17-29, Jan.1969.

BJORKMAN, N. **An atlas of placental fine structure**. London: Baillière Tindall & Cassel, 1970. p.96.

BOOS, A.; JANSSEN, V.; MÜLLING, C. Proliferation and apoptosis in bovine placentomes during pregnancy and around induced and spontaneous parturition as well as in cows retaining the fetal membranes. **Reproduction**, Cambridge, v. 126, n. 4, p. 469-480, Oct. 2003.

BORISENKO, G. G.; MAYSURA, T.; LIU, S.; TYURIN, V. A.; JIANG, J.; SERINKAN, F. B.; KAGAM, V. E. Macrophage recognition of externalized phosphatidylserine and phagocytosis of apoptotic Jurkat cells-existence of a threshold. **Archives of biochemistry and biophysics**, Orlando, v. 413, n. 1, p. 41-52, May, 2003.

BORSBERRY, S.; DOBSON, H. Periparturient diseases and their effects on reproductive performance in five dairy herds. **Veterinary Record**, London, v. 124, n. 9, p. 217-219, Mar, 1989.

CHEW, B. P.; KELLER, H. F.; ERB, R. E.; MALVEN, P. V. Periparturient concentrations of prolactin, progesterone and the estrogens in blood plasma of cows retaining and not retaining fetal membranes. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 44, n. 6, p. 1055-1060, June. 1977.

CHALLIS, J. R.; LYE, S. J. Parturition. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The Physiology of Reproduction**. 2.ed. New York: Raven, 1994, p. 985-1018.

CORBEL, M. J.; STUART, F. A.; BREWER, H. E. Observations on serological cross reaction between smooth *Brucella* species and organisms of other genera. **Developments in Biological Standardization**, New York, v.56, p. 341-348, 1984.

CORBEL, M. J. Brucellosis: an overview. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 3, n. 2, p. 213-221, Apr./June 1997.

CRAWFORD, R. M.; HUBER, J. D.; BRUCE, S. Epidemiology and surveillance. In: NIELSEN, K.; DUCAN, J. R. (Ed.). **Animal brucellosis**. Boca Raton: CRC, 1990. p. 131-152.

CURTIS, C. R.; ERB, H. N.; SNIFFER, C. J.; SMITH, R. D.; KRONFELD, D. S. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 68, n. 9, p. 2347-2360, Sept. 1985.

EILER, H. Retained placenta. In: YOUNGQUIST, R. S. (Ed.). **Current therapy in large animal theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. p. 340-348,.

ERB, H. N.; MARTIN, S. W.; ISON, N.; SWAMINATHAN, S. Interrelationship between production and reproductive diseases in holstein cows, path analysis. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 64, n. 2, p. 282-289, Feb. 1981.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, July 1997.

GROSS, T. S.; WILLIAMS, W. F.; MANSPEACKER, J. E. *In vitro* placental prostaglandin synthesis in the late pregnant and peripartum cow. **Biology of Reproduction**, New York, v. 32, n. 1, p. 154, Feb. 1985.

GROSS, T. S.; WILLIAMS, W. F. Bovine placental prostaglandin synthesis: principal cell synthesis as modulated by the binucleate cell. **Biology of Reproduction**, New York, v. 38, n. 5, p. 1027-1034, June.1988.

GROSS, T. S.; WILLIAMS, W. F.; MORELAND, T. W. Prevention of the retained fetal membrane syndrome (retained placenta) during induced calving in dairy-cattle. **Theriogenology**, New York v. 26, n. 3, p. 365-370, Sept.1986.

GROSS, A.; TERRAZA, A.; OUAHRANI-BETTACHE, S.; LIAUTARD, J.; DORNAND, J. In Vitro *Brucella suis* Infection Prevents the Programmed Cell Death of Human Monocytic Cells. **Infection Immunity**, Washington, v. 68, n. 1, p. 342-351, Jan., 2000.

GRUNERT, E. Placental separation/retention in the bovine. **International Congress on Animal Reproduction Artificial Insemination**, Illinois, v. 6, n. 11, p. 17-24, June. 1984.

HADLEY, MacE. Endocrinology of pregnancy, parturitions, and lactation. In: HADLEY, MacE. **Endocrinology**. 3. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996. p. 444-465.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1995. p. 217-240.

HOFFMANN, D.; WAGNER, W. C.; HIXON, J. G.; BAHR, J. Observations concerning the functional status of the corpus luteum and the placenta around parturition in de cow. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 2, n. 1/3, p. 253-266, June 1979.

HOLM, L. W.; SALVATORE, C.; ZEEK-MINING, P. The histology of the post term bovine placenta. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 88, n. 4, p. 479-489, Feb. 1964.

HUNTER, J. T.; FAIRCLOUGH, R. J.; PETERSON, A. J.; WELCH, R. A. S. Fetal and maternal hormonal changes preceding normal bovine parturition. **Acta Endocrinologica**, Oslo, v. 84, n.3, p. 653-662, Mar. 1977.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Gestation, prenatal physiology, and parturition. In: HAFEZ, E. S. E. (Ed.). **Reproduction in farm animals**, 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 213-236.

JEFFREY, J. J.; EHLICH, L. S.; ROSWIT, W. T. Serotonin: an inducer of collagenase in myometrial smooth muscle cells. **Journal of Cellular Physiology**, New York, v. 146, n. 3, p. 399-406, Mar. 1991.

KERR, J. F. R.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, Edinburgh, v. 26, n. 4, p. 239-257, Aug. 1972

KING, G. J.; ATKINSON, B. A.; ROBERTSON, H. A. Implantation and early placentation in domestic ungulates. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 31, p. 17-30, Nov. 1982. Supplement.

KORDTS, E.; JOCHLE, W. Induced parturition in dairy cattle: a comparison of a corticoid (flumethasone) and prostaglandin (PGF_{2α}) in different age groups. **Theriogenology**, New York, v. 3, n. 4, p. 171-178, Apr. 1975.

LAVEN, R.A.; PETERS, A.R. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. **Veterinary Record**, London, v.139, n. 19, p.465-471, Nov. 1996.

LEWING, F. J.; PROULX, J.; MAPLETOFT, R. J. Induction of parturition in the cow using cloprostenol and dexamethasone in combination. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 26, n. 10, p. 317-322, 1985.

LINDELL, J. O.; KINDAHL, H.; EDQVIST, L. E. Prostaglandin release at dexamethasone induced parturitions in cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanlose, v. 18, n. 2, p. 257-265, 1977

MALARD, P. F.; BARRETO FILHO, J. B.; SANTOS, R. L.; MARQUES JUNIOR, A. P. Proporção volumétrica dos componentes estruturais da placenta de vacas zebu ao longo da gestação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 5, p. 553-558, Out. 1996.

MARIA-PILAR, J. B.; DUDAL, S.; DORNAND, J.; GROSS, A. Cellular bioterrorism: how Brucella corrupts macrophage physiology to promote invasion and proliferation. **Clinical Immunology**, Orlando, v.114, n. 3, p.227-238, Mar. 2005.

MARQUES JÚNIOR, A. P.; BARRETO FILHO, J. B.; SATURNINO, H. M. Aspectos morfométricos da placenta de vacas zebu (*Bos taurus indicus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 45, n. 2, p. 213-219, Abr. 1993.

MARQUES JÚNIOR, A. P. **Leucocyte chemotaxis activity by cotiledons of dairy cows with normal delivery and retained placenta**. 1988. 182 f. Thesis (PhD in Pathology) – Postgraduate Program in Veterinary Science, University of Illinois, Urbana, 1988.

MARTINS, E. **Apoptose na maturação e eliminação placentária em *Bos taurus taurus***. 1999. 134 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

MARTINS, V.M.V. **Maturação e expulsão placentária em *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus***. 1999. 110 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

MARTINS, V.M.V.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; VASCONCELOS, A. C.; MARTINS, E.; SANTOS, R. L.; LIMA, F. P. C. Maturação e expulsão placentária em vacas das raças Holandesa e Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 2, p. 157-167, Abr. 2004.

MIYOSHI, M.; SAWAMUKAI, Y.; IWAGA, T. Reduced Phagocytotic Activity of Macrophages in the Bovine Retained Placenta. **Reproduction in Domestic Animal**, Berlin, v. 37, n. 1, p. 53-56, Feb. 2002.

McDIARMID, S. C. Induction of parturition in cattle using corticosteroid: a review. Part I. Reasons for induction, mechanisms of induction and preparations used. **Animal Breeding Abstracts**, Budapest, v. 51, n. 6, p. 404-419, June 1983.

MILLER, L. J.; MARX, J. Apoptosis. **Science**, Washington, v. 281, n. 5381, p. 1301, Aug. 1998.

NUNES, J. E. S.; VASCONCELOS, A. C.; MARTINS, E.; MARTINS, V. M. V.; MARQUES-JÚNIOR, A. P. Apoptose em placentomas de zebuínos (*Bos taurus indicus*) e o processo de maturação e liberação placentária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., CONGRESSO PAULISTA DE VETERINÁRIA, 5., CONFERÊNCIA ANUAL DA SPMV, 55., 2000, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2000a.

NUNES, J.E.S.; VASCONCELOS, A.C.; MARTINS, E.; MARTINS, V.M.V.; MARQUES-JÚNIOR, A.P. Maturação e eliminação placentária em *Bos taurus taurus* e apoptose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., CONGRESSO PAULISTA DE VETERINÁRIA, 5., CONFERÊNCIA ANUAL DA SPMV, 55., 2000 Águas de Lindóia, **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2000b.

NUNES, J. E. S.; VASCONCELOS, A. C.; MARTINS, E.; MARTINS, V.M.V.; MARQUES JUNIOR, A. P. Maturação e liberação placentária em bovinos e a sua relação com apoptose. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 4, p 513-525, Out./Dez. 2001.

PAISLEY, L. C., MICKELSEN, W. D., ANDERSON, P. B. Mechanism and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. **Theriogenology**, New York, v. 25, n. 3, p. 353-381, Mar. 1986.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; PEREIRA, L. A. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 90, n.1-4, p. 55-62, Dec. 2002.

PUTRO, P. P. Effects of intrauterine dilute iodine solution infusion on the incidence of retained placenta and endometritis in dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Vanlose, v. 83, p. 58-65, 1988. Supplement.

RAMIREZ-ROMERO, R. Is *Brucella abortus* a facultative intracellular pathogen with mitochondria-like activity? **Medical Hypotheses**, Edinburgh, v. 51, n. 1, p. 41-5. July 1998.

RAMSEY, E. M. **The placenta - human and animal**. New York: Praeger 1982.

SAMAD, M. A.; RAHMAN, M. H.; ISLAM, T. S. Factors associated with placental retention in dairy cattle. **Indian Journal of Dairy Science**, New Delhi, v. 42, n. 4, p. 720-723, Dec. 1989.

SANTOS, R. L. **Estudo morfológico da placenta de vacas leiteiras com liberação normal e com retenção.** 1995. 102 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1995.

SANTOS, R. L.; MARQUES JUNIOR, A. P. Estudos histoquantitativos do placentomo de vacas leiteiras com liberação normal e com retenção. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 4, n. 1, p. 39-42, 1998.

SANTOS, R. L.; MARQUES JUNIOR, A. P.; BARRETO FILHO, J. B. Morphometric analysis of collagen in placentomes of dairy cows with normal delivery and with placental retention. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, Seropedica, v.34, n.3, p. 240-242, May/June 1997.

SCHAFLER, D.H., FISHER, P.J., DAVIES, C.J. The bovine placenta before and after birth: placental development and function in health and disease. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60, p. 145-160, July. 2000. Special Issue.

SMITH, L. D.; FICHT, T. A. Pathogenesis of Brucella. **Critical Reviews Microbiology**, Boca Raton, v. 17, n. 3, p. 209-230, 1990.

SMITH, S. C.; BAKER, P. N.; SYMONDS, E. M. Placental apoptosis in normal human pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 177, n. 1, p.57-65, July, 1997.

STEVEN, D. H. Anatomy of the placental barrier. In: STEVEN, D. H. (Ed.). **Comparative placentation**. London: Academic, p. 25-57, 1975.

STEVEN, D. H., MORRIS, G. Development of the foetal membranes. In: STEVEN, D. H. (Ed.). **Comparative placentation**. London: Academic, p. 58-86, 1975.

VAN WERVEN, T.; SCHUKKEN, Y. H.; LLOYD, J.; BRAND, A.; HEERINGA, H. Tj.; SHEA, M. The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. **Theriogenology**, New York, v. 37, n. 6, p. 1191-1203, June 1992.

VASCONCELOS, A. C. Apoptose ou morte celular programada e sua importância em patologia Veterinária. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 1995. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Editora da Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1995. p. 69.

WANGO, E. O.; HEAP, R. B.; WOODING, F. B. P.; Regulation of steroid synthesis and metabolism in isolated binucleate cells of the placenta in sheep and goats. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 94, n. 1, p. 203-211, Jan. 1992.

WOHRL, W., HÄCKER, G. Extent and limitation of the control of nuclear apoptosis by DNA- fragmenting factor. **Biochemical Biophysical Research Communicatinos.**, v. 254, n. 3, p. 552-558, Jan. 1999.

WOICKE, J.; SCHOON, H. A.; HEUWIESER, W.; SCHULZ, L. C.; GRUNERT, E. Morphological and functional aspects of placental maturation mechanisms in the cow. I. Light microscopy. **Zentralblatt Fuer Veterinaermedizin Reihe A**, Berlin, v. 33, n. 9, p. 660-667, Nov., 1986.

WOODING, F. B. P. Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. **Placenta**, London, v. 13, n. 2, p. 101-113, Mar./Apr. 1992.

WYLLIE, A. H. Glucocorticoid induced thymocyte apoptosis in associated with endogenous endonuclease activation. **Nature**, London, v. 284, n. 5756, p. 555-556, Apr. 1980

WYLLIE, A. H.; KERR, J. F. R.; CURRIE, A. R. Cell death: the significance of apoptosis. **International Review of Cytology**, San Diego, v. 68, p. 251-305. 1980.