

ARLEI JOSÉ BIRCK

**Expressão das conexinas 32 e 43 em células trofoblásticas da placenta bovina em cultura celular**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

**Departamento:**

Cirurgia

**Área de concentração:**

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

**Orientador:**

Prof. Dr. Francisco Javier Hernandez Blazquez

São Paulo

2007

## RESUMO

**BIRCK, A. J. Expressão das conexinas 32 e 43 em células trofoblásticas da placenta bovina em cultura celular.** [Expression of connexins 32 and 43 in trophoblast cells of the bovine placenta in cell culture]. 2007. 129 f. Tese (Doutorado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007.

A expressão da conexina 32 e 43 nas células gigantes trofoblásticas foi analisada em condições de cultura celular com e sem influência de hormônios sexuais. Placentônios bovinos foram coletados de vacas prenhes em abatedouro nos diferentes períodos gestacionais e divididos em três grupos, primeiro terço (I), segundo terço (II), terceiro terço (III) e transportados ao laboratório em condições assépticas à temperatura de 4°C em solução de PBS com antibiótico. No laboratório as células foram isoladas e cultivadas em meio D-MEM com 10% SFB por cinco dias. As detecções das conexinas 32 e 43 foram realizadas através de imunofluorescência, pelo método de amplificação da tiramida-fluoresceína, utilizando anticorpo primário policlonal a imunoglobulina de coelho, anti-conexina 32 e 43 de camundongo. Os resultados mostraram que as células gigantes trofoblásticas expressam conexinas 32 e 43 nos três períodos gestacionais com exceção da Cx32 no primeiro terço gestacional sem adição de hormônios, a qual passou a expressar fluorescência após a adição de hormônios. A distribuição da Cx43 evoluiu com a progressão da gestação, permanecendo limitada ao interior das células gigantes trofoblásticas, sem formar junções comunicantes. O terceiro terço gestacional mostra a Cx43 na CGTT localizada no interior do núcleo. A adição de hormônios ao meio de cultura vem confirmar que a progesterona e o estrógeno podem ter um papel no controle da Cx32. Para Cx43 onde se adicionou progesterona os níveis de expressão foram baixos no início aumentando no decorrer da gestação, o mesmo foi encontrado para o conjugado de progesterona/ estrógeno. Para o estrógeno no grupo I os níveis de expressão foram menores se comparados aos três grupos diminuindo no grupo II e voltando a aumentar no grupo III.

Palavras chave: Conexina. Bovinos. Placenta. Células gigantes trofoblásticas. Cultivo celular.

## ABSTRACT

**BIRCK, A. J. Expression of the connexins 32 and 43 in trophoblast cells of the bovine placenta in cellular culture.** [Expressão das conexinas 32 e 43 em células trofoblásticas da placenta bovina em cultura celular]. 2007. 129 f. Tese (Tese em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007.

The trophoblast cells expression of connexins 32 and 43 was studied in cell culture conditions with or without influence of sexual hormones. Bovine placentomes were collected from pregnant cows in slaughterhouses in different gestational periods and so divided into three groups, first term (I), second term (II), and third term (III), and transported to the laboratory in aseptic conditions at a temperature of 4<sup>0</sup>C in PBS solution with antibiotics. At the laboratory the cells were isolated and cultivated in D-MEM environment with 10% SFB for five days. The detections of connexins 32 and 43 were achieved through immunofluorescence, by the tyramide-fluorescein amplification method, using a rabbit polyclonal primary antibody anti-connexin 32 and 43 of mice. The results showed that the trophoblast cells expressed connexins 32 and 43 in the three gestational periods with an exception of the Cx32 at the first gestational period. However, after the addition of sexual hormones, they began to express the connexins in the cytoplasm in the first stage. The distribution of the Cx43 evolved with the progression of the gestation, remaining limited to the trophoblast's cells interior, without formation of gap junctions. The third gestational term shows the Cx43 located inside the nuclei of the CGTT. Addition of hormones in the culture environment confirmed that estrogen and progesterone may have an important action controlling Cx32. For Cx43, the expression was low after progesterone was added to the culture medium, but increased as the gestation evolved, the same was found for a combined compost of estrogen\ progesterone. For estrogen, in group I the expression levels were inferior when compared to the three groups decreasing in group II and increasing again in group III. We may conclude that the sexual hormones, specially estrogen, affect the expression of connexins in trophoblastic cells.

Key words: Connexin. Cow. Placenta. Trophoblast giant cells. Cell culture.

---

## 1 INTRODUÇÃO

Na maioria dos tecidos, as células se prendem umas às outras através de modificações de suas membranas, conhecidas coletivamente como junções celulares. Muitas vezes a principal função dessas estruturas é aderência entre as células, como o que acontece com os desmossomas e as *zonulae adherentes*, outras vezes seu papel é vedar o espaço intercelular, impedindo o trânsito extracelular das moléculas de tal modo que a passagem é realizada por via intracelular e sob o controle das próprias células. A especialização da membrana para construir esta estrutura de vedação chama-se junção oclusiva ou *zonula occludens* (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1997). Há também em alguns locais mais restritos, modificações das membranas de células adjacentes permitindo a passagem intercelular de íons e moléculas pequenas, que transferem informações através de sinais químicos, integrando a atividade de conjuntos celulares. Estes conjuntos apresentam acentuada unidade funcional, pois todas as células respondem aos estímulos (hormonais e nervosos) recebidos, mesmo que estes estímulos sejam captados por apenas algumas células do conjunto (SCHLAFER et al., 2000).

A comunicação de célula a célula está diretamente relacionada à transmissão de sinais de regulação entre células em desenvolvimento, transmissão esta que ocorre através de junções comunicantes. Isso habilita que todas as células no embrião podem comunicar-se entre si (POTTER et al., 1966). As células podem trocar moléculas citoplasmáticas de pequeno tamanho e íons inorgânicos através das junções comunicantes. Embora existam outras maneiras pelas quais elas possam se comunicar, a junção comunicante fornece uma interação imediata e individualizada entre o ambiente citoplasmático de células vizinhas (BRUZONE et al., 1996; STEINBERG, 1998).

A junção comunicante intercelular coordena atividades celulares durante o processo de desenvolvimento e diferenciação, sua deficiência funcional ou mutação de genes de conexinas foram implicadas nos processos patológicos (CRONIER et al., 2001).

---

Os canais das junções comunicantes ou “nexos” são compostos de proteínas transmembranas chamadas conexinas e a mensagem é direcionada de célula para célula através destes canais por meio de um contato específico e direto, estabelecendo uma comunicação pela qual as células vizinhas sincronizam seu metabolismo. As membranas das células comunicantes devem oferecer meios de estabilizar as interações através de outras junções como as junções estreitas, assegurando assim que as mensagens sejam corretamente entregues durante o tempo necessário para o destinatário. Moléculas responsáveis pela adesão e reconhecimento intercelular como as caderinas também podem estar envolvidas no mecanismo de controle da comunicação (HERNANDEZ-BLAZQUEZ et al., 2001). Além disso, a de proteínas que compõem a família das conexinas contribui para o ajuste no processo de transferência de mensagens através das junções comunicantes. A maioria das células expressa múltiplas conexinas que pode associar-se a formar junções comunicantes potencialmente contendo mais de uma conexina (BRUZZONE et al., 1996; YAMASAKI; NAUS, 1996).

As alterações na estrutura das conexinas causadas por mutações podem perturbar tanto a formação das junções comunicantes como o controle da proliferação celular por um efeito dominante negativo (DUFLOT-DANCER et al., 1997; OMORI et al., 1997).

Sabe-se atualmente que a ausência de comunicação intercelular mediada pelas junções comunicantes entre as células cancerosas (comunicação homóloga) ou entre as células sadias e cancerosas (comunicação heteróloga) é importante na expansão clonal do câncer (YAMASAKI, 1991). A principal função das junções comunicantes é a rápida regulação e transmissão de informações moleculares por meio de uma cadeia interconectada de células e o desacoplamento no caso de células danificadas (BRUZZONE et al., 1996). Estas propriedades formam a base para o desenvolvimento de conexinas em células de crescimento, proliferação, diferenciação e fusão (YAMASAKI, 1991; CRONIER et al., 1994).

Os canais intercelulares compostos de conexinas diferentes têm propriedades particulares em termos de permeabilidade molecular, condutância unitária e regulação da abertura do canal, esta hipótese de que a expressão de múltiplas conexinas, no embrião de pré-implantação,

---

permite ao conceito sofrer rápida diversificação de tipos celulares, que é necessária ao estabelecimento dos dois tecidos: o embrionário (fetal) e o extra-embriônico (saco vitelínico e placenta) (HOUGHTON et al., 2002).

No trofoblasto, a comunicação célula a célula ou entre as subpopulações de trofoblasto é responsável pela invasão, crescimento da placenta e transporte materno-fetal. Este aspecto é de interesse especial por acreditar-se que, canais intercelulares coordenam processos de proliferação e diferenciação celular (WINTERHAGER et al., 1999).

Por ocasião do parto, a vaca libera as membranas fetais da placenta em torno de três a oito horas após a expulsão do feto (ROBERTS, 1971). Não são incomuns a ocorrência de atraso no processo de liberação da placenta com subsequente retenção da mesma, sendo esta uma das alterações puerperais mais frequentes em vacas leiteiras (SCHEIDEGGER et al., 1993). Durante a gestação ocorrem mudanças estruturais no placentônio que estão relacionadas à subsequente liberação normal da placenta (BJORKMAN; SOLLEN, 1960; WILLIAMS et al., 1987; MARQUES JR., 1988; BARRETO FILHO; MARQUES JR., 1993). A diminuição do número de células epiteliais ao final da gestação é um aspecto importante no processo de maturação da placenta e subsequente separação entre os tecidos materno e fetal (GRUNERT, 1986). Os mecanismos fisiológicos que determinam este processo não estão totalmente esclarecidos, mas possivelmente ocorrem processos de degeneração gradativa das células epiteliais ao longo da gestação (WAGNER, 1989).

O envolvimento das células binucleadas do trofoblasto no processo de maturação e liberação da placenta aparentemente exerce influência sobre a síntese das prostaglandinas que interferem no mecanismo de liberação normal da placenta (GROSS; WILLIAMS, 1986). Estas modificações estruturais do placentônio no processo de liberação normal da porção fetal da placenta em vacas indicam a imaturidade do placentônio por ocasião do parto, sendo um fator determinante para a ocorrência de retenção placentária (GROSS et al., 1987).

Recentemente, foi observado que as células binucleadas de placenta expressam Cx32 ao longo de todas as três fases gestacionais (PFARRER et al., 2006; CARVALHO, 2004). Estas

---

conexinas também foram observadas no núcleo das células binucleadas da primeira fase gestacional.

Na maioria dos tecidos a expressão da conexina é específica, mas em alguns órgãos essa expressão pode intensificar-se, ou não, e quando isso acontece a função celular pode ser coordenada sob a influência de hormônios. Por exemplo, células gigantes trofoblásticas que se comunicam através das junções gap poderiam coordenar suas funções em bloco (MACKENZIE; GARFIELD, 1985; PETROCELLI; LYE, 1993; GRÜMMER et al., 1994). A implantação eficaz do embrião no útero depende da interação entre fatores hormonais (progesterona e estrogênio) que controlam a síntese do epitélio trofoblástico, como a célula gigante trofoblástica binucleada sendo a progesterona o hormônio mais ativo presente em quase todo período da gestação (GLASSER; CLARK, 1975; REIMERS et al., 1985; PSYCHOYS, 1973).

Estudos realizados com a Cx43 e Cx26 no endométrio de ovelhas durante as quatro fases do ciclo estral mostraram que no diestro ocorre fraco aumento de progesterona e imunolocalização da Cx43 acima do epitélio uterino. Durante a fase do estro ocorre significativa elevação da Cx43 no estroma, não sendo observada expressão da Cx26. Durante a fase de justaposição que acontece aos 15 dias a distribuição e a intensidade da Cx43 permaneceu igual à fase do estro. Na fase de fixação do blastocisto a Cx43 apresentou aumento no número e tamanho das placas juncionais dentro do estroma e nas zonas carunculares e intercarunculares em ambos os cornos uterinos gravídicos. Com o avanço da gestação a região interplacentomal apresentou reduzida expressão da Cx43 aumentando no estro na área placentomal, e diminuindo próximo ao parto (GABRIEL et al., 2004).

Desta forma, os hormônios sexuais parecem influenciar a expressão das conexinas no útero e, possivelmente, na placenta. Uma vez que Carvalho (2004) e Pfarrer (2006) demonstraram a expressão das conexinas 32 e 43 em cortes histológicos da placenta de vacas, neste trabalho resolvemos verificar se as conexinas também são expressas em células placentárias em cultura e se a adição de hormônios sexuais ao meio de cultura altera sua expressão.

---

## 7 CONCLUSÕES

Face ao exposto podemos concluir que:

- Todas as CGT em cultura expressam as conexinas 32 e 43 no seu citoplasma nos três terços gestacionais, com exceção da Cx32 no primeiro terço gestacional cuja expressão está condicionada à presença de hormônios sexuais.
- A Cx43 está presente no núcleo da CGTT no terceiro terço gestacional.
- As conexinas 32 e 43 são expressadas em maior quantidade no citoplasma das CGTs na terceira fase gestacional em cultura.
- As conexinas 32 e 43 podem ser utilizadas como marcadores celulares de CGT de placenta bovina, visto que estas células a expressam no epitélio placentário.
- A expressão das conexinas 32 e 43 são influenciadas pela presença de hormônios sexuais em condições de cultura.



---

## 8 REFERÊNCIAS

- AL-LAMKI, R. S.; SKEPPER, J. N.; BURTON, G. J. Are human placental bed giant cells merely aggregates of small mononuclear trophoblast cells? An ultrastructural and immunocytochemical study. **Human Reproduction**, v. 14, n. 2, p. 449-504, February 1999.
- AMOROSO, E. C. Placentation. In: PARKES, A. S. **Marshal's Physiology of Reproduction**. 3.ed London: Longmans Green, 1952. p. 127-331.
- ANTHONY, R. V.; LIANG, R.; KAYL, E. P.; PRATT, S. L. The growth hormone/prolactin gene family in ruminant placentae. **Journal Reproduction Fertility**. v. 49 (Suppl.) p. 83-95, 1995. Supplement.
- ANTOSKIEWICZ, A.; MULLER, G.; GRUMMER, R.; WINTERHAGER, E. Introduction of connexin 32 expression by potential embryonic signals in rabbit uterine epithelium. **Early Pregnancy**. v. 2, p. 253-263, 1996.
- BARRETO FILHO, J. B.; MARQUES JÚNIOR, A. P. Aspectos histológicos da placenta de vacas zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 45, n. 4, p. 385-393, 1993.
- BAZER, F. W.; SPENCER, T. E.; OTT, T. L. Interferon-tau: a novel pregnancy recognition signal. **American Journal Reproduction Immunology**. v. 37, p. 412-420, 1997.
- BENIRSHKE, K.; KAUFMANN, P. **The Pathology of the Human Placenta**. pp. 22-70. New York: Springer Verlag. 1990.
- BEYER, E. C.; PAUL, D. L.; GOODENOUGH, D. A. Connexin 43: A protein from rat heart homologous to a gap junction protein from liver. **Journal Cell Biology**, v. 107, p. 2621-2629, 1987.
- BJORKMAN, N.; SOLLEN, P. Morphology of the bovine placenta at normal delivery. **Acta Veterinaria Scandinava**, v. 1, n. 4, p. 347-362, 1960.
- BJORKMAN, N. Fine structure of cryptal and trophoblastic giant cells in the bovine placentomes. **Journal of Ultrastructural Research**, v. 24, p. 249-58, 1968.
- BJÖRKMAN, N. Light and electron microscopic studies on cellular alterations in the normal bovine placentaome. **Anatomical Record**, New York, v. 163, n. 1, p. 17-29, jan. 1969.
- BJÖRKMAN, N. **An Atlas of placental fine structure**. London: Baillière Tindall; Cassel, 1970, 96 p.
- 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. 468-480, Oct. 2003.

- BOOS, A.; KOHTES, J.; STELLJES, A.; ZERBE, H.; THOLE, H. Immunohisto-chemical assesment of progesterone, oestrogen and glucocorticoid receptors in bovine placentomes during pregnancy, induced parturition, and after birth with or without retention of fetal membranes. **Journal Reproduction Fertility**, v. 120, p. 351-360, 2000.
- BOSCH, R. V. Dinâmica populacional de células de placenta bovina a fresco e em cultivo. 2006. 86 f. **Dissertação** (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- BORSBERRY, S.; BOBSON, H. Periparturient diseases and their effects on reproductive perfomance in five dairy herds. **Veterinary Record**, London, v. 124, n. 9, p. 217-219, Mar. 1989.
- BOSHIER, D. P.; HOLLOWAY, H. The sheep trophoblast and placenta function: an ultrastructural study. **Journal Anatomy**, v. 124, p. 287-298, 1977.
- BRUZZONE, R.; WHITE, T. W.; PAUL, D. L. Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signalling. **European Journal Biochemistry**, v. 238, p. 1-27, 1996.
- BURTON, G. J.; SAMUEL, C. A.; STEVEN, D. H. Ultrastructural studies of te placenta of the ewe: phagocytosis of erythrocytes by the chorionic epithelium at the central depression of the cotyledon. **Quart. Journal Physiology**, v. 61, p. 175-286, 1976.
- BUULTJENS, T. E.; FINBOW, M. E.; LANE, N. J.; PITTS, J. D. Tissue and species conservation of the vertebrate and arthropod forms of the low molecular weight (16-18000) proteins of gap junctions. **Cell Tissue Research**, v. 251, n. 1, p. 571-580, 1988.
- CARVALHO, A. F. **Caracterização da célula binucleada na placenta de búfalos (*Bubalus bubalis bubalis*) – Linnaeus 1758**. 2000. 110 f. Tese. (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- CARVALHO, I. **Expressão e distribuição da conexina 43 nas células trofoblásticas gigantes bovinas em três fases gestacionais**. 2004. 106 f. Dissertação. (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- 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.
- CHEW, B. P.; KELLER, H. F.; ERB, R. E.; MALVEN, P. V. Periparturient concentracions 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.
- CRONIER, L.; ASAT, E.; HERVÉ, J. C.; DÉLESE, J.; MALASSINÉ, A. Dexametasone stimulates gap junctional communication peptide hormone productions and differentiation in human trophoblast. **Placenta**, v. 17, p. 44, 1996.

- 
- CRONIER, L.; BASTIDE, B.; DEFAMIE, N.; NIGER, C.; POINTIS, G.; GASC, J. M.; MALASSINE, A. Involvement of gap junctional communication and connexin expression in trophoblast differentiation of the human placenta. **Histology and Histopathology**, v. 16, n. 1, p. 285-295, 2001.
- CRONIER, L.; BATISTA, B.; HERVE, J. C.; DELEZE, J.; MALASSINE, A. Gap junctional communication during human trophoblast differentiation: influence of human chorionic gonadotropin. **Endocrinology**, v. 135, p. 402-408, 1994.
- CRONIER, L.; DEFAMIE, N.; DUPAYS, L.; THÉVENIAU-RUISSY, M.; GOFFIN, F.; POINTIS, G.; MALASSINÉ, A. Connexin expression and gap junctional intercellular communication in human first trimester trophoblast. **Molecular Human Reproduction**, v. 8, p. 101-109, 2002.
- CRONIER, L.; GUIBOURDENCHE, J.; NIGER, C.; MALASSINE, A. Oestradiol Stimulates Morphological and Functional Differentiation of Human Villous Cytotrophoblast **Placenta**, v. 20, p. 669-676, 1999.
- 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.
- DAHL, G.; BERGER, W. Nexus formation in the myometrium during parturition and induced by estrogen. **Cell Biology Int Rep**, v. 2, p. 381-387, 1978.
- DAHL, G.; ARZANIA, R.; WERNER, R. Induction of cell-cell channel formation by mRNA. **Nature** v. 289, p. 683-685, 1981.
- DAVIES, C. J.; FISHER, P. J.; SCHLAFER, D. H. Temporal and regional regulation of major histocompatibility complex class I expression at the bovine uterine placental interface. **Placenta**, v. 21, p. 194-202, 2000.
- DENKER, H. W. Implantation: a cell biological paradox. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 266, p. 541-558, 1993.
- DENT, J. Ultrastructural changes in the intercotyledonary placenta of the goat during early pregnancy. **Journal Anatomy**, v. 114, p. 245-259, 1973.
- DUC-GOIRAN, P.; MIGNOT, T. M.; BOURGEOIS, C.; FERRÉ, F. Embryo-maternal interactions at the implantation site: a delicate equilibrium. **European Journal of Obstetric & Gynecology and Biology**, v. 83, p. 85-100, 1999.
- DUELLO, T. M.; BYATT, J. C.; BREMEL, R. D. Immunohistochemical localization of placental lactogen in binucleate cells of bovine placentomes. **Endocrinology**, v. 119, p. 1351-1355, 1986.
- DUFLOT-DANCER, A.; MESNIL, M.; YAMASAKI, H. Dominant-negative abrogation of connexin-mediated cell growth control by mutant connexin genes. **Oncogene**, v. 15, p. 2151-2158, 1997.

- 
- EILER, H. Retained placenta. In: YOUNGQUIST, R. S. (Ed.). **Current therapy in large animal theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. p. 340-348.
- ENDERS, A. C.; BLANKENSHIP, T. N. Comparative placental structure. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 38, p. 3-15, 1999.
- 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.
- FLINT, A. P. Interferon, the oxytocin receptor and maternal recognition of pregnancy in ruminants and non-ruminants: a comparative approach. **Reproduction Fertility. Development** v. 7, p. 313-318, 1995.
- FRESHNEY, R. I. **Culture of animal cells: a manual of basic technique**. New York: Wiley-Liss. Ed. 3. 1994. 486 p.
- GABRIEL, S.; WINTERHAGER, E.; PFARRER, C.; TRAUB, O.; LEISER, R. Modulation of connexin expression in sheep endometrium in response to pregnancy. **Placenta**, v. 25, p. 22-27, 2004.
- GIEPMANS, B. N.; MOOLENAAR, W. H. The gap junction protein connexin 43 interacts with the second PDZ, the zona occludens-1 protein. **Curr. Biology**, v. 8, p. 931-934, 1998.
- GARFIELD, R. E.; SIMS, S.; DANIEL, E. E. Gap junctions: their presence and necessity in myometrium during parturition. **Science**, v. 198, p. 958-960, 1997.
- GLASSER, S. R.; CLARK, J. H. A determinant role of progesterone in the development of uterine sensitivity to decidualization and ovo-implantation. In: MERKERT, C. L.; PAPACONSTANTINOS, J. (Ed). **The 33 rd symposium of the society for development biology**: The Development Biology of Reproduction. Academic Press, 1975.
- 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.
- GOODENOUGH, D. A.; GOLIGER, J. A.; PAUL, D. L. Connexins, connexons, and intercellular communication. **Annu Rev Biochemistry**, v. 65, p. 475-502, 1996.
- GRACE, N. D.; WATKINSON, J. H.; MARTINSON, P. L. Accumulation of minerals by the fetus conceptus of single and twin bearing ewes. **N.Z.J. Agriculture Research**, v. 29, p. 207-222, 1986.
- GREEN, J. A.; XIE, S.; QUAN, X.; BAO, B.; GAN, X.; MATHIALAGAN, N.; BECKERS, J. F.; ROBERTS, R. M. Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. **Biology Reproduction**, v. 62, p. 1624-1631, 2000.

GROSS, D.; JARRY-GUICHARD, T.; TEN VELDE, I.; DE MAZIERE, A.; VAN KEMPEN, M. J. A.; DAVENST, J.; BRIAND, J. P.; MOORMAN, A. F. M.; JONGSMA, H. J. Restricted distribution of connexin 40, a gap junctional protein, in mammalian heart. **Cancer Research**, v. 74, p. 839-851, 1994.

GROSS, T. S.; WILLIAMS, W. F. The fetal placental binucleate cell as a regulator of placental prostaglandin synthesis. **Biology of Reproduction**, v. 34, n. 1, p. 77, 1986. Supplement.

GROSS, T. S.; WILLIAMS, W. P.; MANSPEAKER, J. E.; LEWIS, G. S.; RUSSEK-COHEN, E. Bovine placental synthesis in vitro as it relates to placental separation. **Prostaglandins**, v. 34, n. 6, p. 903-917, 1987.

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.; MORELAND, T. W. Prevention of the retained fetal membranes syndrome (retained placenta) during induced calving in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 26, p. 365-370, 1986.

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

GROSS, T. S.; WILLIAMS, W. F.; RUSSEK-COHEN, E. Cellular changes in the peripartum bovine fetal placenta related to placental separation. **Placenta**, v. 12, p. 27-35, 1991.

GRÜMMER, R.; CHWALISZ, K.; MULHOLLAND, J.; TRAUB, O.; WINTERHAGER, E. Regulation of connexin 26 and connexin 43 in rat endometrium by ovarian steroid hormones. **Biology of Reproduction**, v. 51, p. 1109-1116, 1994.

GRUNERT, E. Etiology of retained bovine placenta. In: MORROW, D.A. **Current therapy in theriogenology**. 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1986. p. 237-242.

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.

GUILLOMOT, M. Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 49, p. 39-51, 1995.

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.

HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J.; JOAZEIRO, P. P.; OMORI, Y.; YAMASAKI, H. Control of intracellular movement of connexins by e-cadherin in murine skin papiloma cells. **Experimental Cell Biology**, v. 270, p. 235-247, 2001.

- 
- HOFFMANN, B.; SCHULER, G. The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 309-320, 2002.
- HOLM, L. W.; SALVATORE, C.; ZEEK-MINING, P. The post term bovine placenta. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 88, n. 4, p. 479-489, Feb. 1964.
- HOUGHTON, F. D.; BARR, K. J.; WALTER, G.; GABRIEL, H. D.; GRUMMER, R.; TRAUB, O.; LEESE, H. J. Functional significance of gap junctional coupling in preimplantation development. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1403-1412, 2002.
- 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. 2003.
- HUNYADY, B.; KREMPELS, K.; HARTA, G.; MEZEY, E. Immunohistochemical signal amplification by catalyzed reporter deposition and its application in double immunostaining. **Journal Histochemistry Cytochem**, v. 44, p. 1353-1362, 1996.
- IGWEBUIKE, U. M. Trophoblast cells of ruminant placentas – A minireview. **Animal Reproduction Science**, v. 1, p. 1-14, 2005.
- IRWIN, J. C.; UTIAN, W. H.; ECKERT, R. L. Sex steroids and growth factors differentially regulate the growth and differentiation of cultured human endometrial stromal cells. **Endocrinology**, v. 129, p. 2385-2392, 1991.
- 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.
- JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; JOYCE, M. M.; SPENCER, T. E.; BAZER, F. W.; GRAY, C. A.; PFARRER, C. Osteopontin is synthesized by uterine glands and a 45 kDa cleavage fragment is localized at the uterine-placental interface throughout ovine pregnancy. **Biology Reproduction**, v. 69, p. 92-98, 2003.
- JONGEN, W. M. F.; FITZGERALD, D. J.; ASAMOTO, M.; PICCOLI, C.; SLAGA, J. T.; GROS, D.; TAKEICHI, M.; YAMASAKI, H. Regulation of connexin 43-mediated gap junctional intercellular communication by Ca<sup>2+</sup> in mouse epidermal cells is controlled by E-cadherin. **Journal Cell Biology**, v. 114, p. 545-555, 1991.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**, 6. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1997.

- 
- KERR, J. F. R.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basis biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, Edinburgh, v. 26, n. 4, p. 239-257, Aug. 1972.
- KIDDER, G. M.; WINTERHAGER, E. Intercellular communication in preimplantation development the role of gap junctions. **Frontiers in Biociencia**, v. 2, p. 53-64, 2001.
- KING, G. J.; ATKINSON, B. A.; ROBERSON, H. A. Implantation and early placentation in domestic ungulates. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 31, p. 17-30, 1982. Supplement.
- KING, G. J.; ATKINSON, B. A.; ROBERTSON, H. A. Development of the bovine placentomes from days 20 to 29 of gestation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, n. 1, p. 95-100, 1980.
- KLISCH, K.; BEVILACQUA, E.; OLIVEIRA, L. Mitotic polyploidization in trophoblast giant cells of the alpaca. **Cells Tissues Organs**, v. 181, p. 103-108, 2005.
- KLISCH, K.; HECT, W.; PFARRER, C.; SCHULER, G.; HOFFMANN, B.; LEISER, R. DNA content and ploidy level of bovine placentomal trophoblast giant cells. **Placenta**, v. 20, n. 5, p. 451-458, 1999b.
- KLISCH, K.; PFARRER, C.; SCHULER, G.; HOFFMANN, B.; LEISER, R. Tripolar acytokinetic and formation of feto-maternal syncytia in the bovine placentomes: different modes of generation of multinuclear cells. **Anatomical Embryol**, v. 200, p. 229-237, 1999a.
- KOJIMA, T.; SAWADA, N.; CHIBA, H.; KOKAI, Y.; YAMAMOTO, M.; URBAN, M.; LEE, G. H.; HERZBERG, E. L.; MOCHIZUKI, Y.; SPRAY, D. C. Induction of tight junctions in human connexin 32 (hCx32)-transfected mouse hepatocytes, connexin 32 interacts with occludin. **Biochem. Biophys. Research Commun**, v. 9, p. 222-229, 1999.
- KORDTS, E.; JOCHLE, W. Induced parturition in dairy cattle: a comparison of a corticoid (flumethasone) and prostaglandin (PGF<sub>2</sub>) in different age groups. **Theriogenology**, New York, v.3, n. 4, p. 171-178, April. 1975.
- LAMMING, G. E.; WATHES, D. C.; FLINT, A. P. F.; PAYNE, J. H.; STEVENSON, K. R.; VALLET, J. L. Local actions of trophoblast interferons in suppression of the development of oxytocin and oestradiol receptors in ovine endometrium. **Journal Reproduction Fertility**, v. 105, p. 165-175, 1995.
- LANDIM JR, L. P.; MIGLINO, M. A.; PFARRER, C.; AMBROSIO, C. E.; GARCIA, J. M. Culture of mature trophoblastic giant cells from bovine placentomes. **Animal Reproduction Science**, v. 98, p. 357-364, 2007.
- 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.

- 
- LEE, C. S.; GOGOLIN-EWENS, K.; BRANDON, M. R. Comparative studies on the distribution of binucleate cells in the placentae of the deer and cow using the monoclonal antibody, SBU-3. **Journal of Anatomy**, v. 147, p. 163-179, 1986.
- LEISER, R.; KAUFMANN, P. Placental Structure: in a comparative aspect. **Experimental Clinical Endocrinology**, v. 102, p. 122-134, 1994.
- LEME dos SANTOS, H. S. **Embriologia comparada. Texto e atlas**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 189 p.
- 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.; KINDHAL, H.; EDVIST, L. E. Prostaglandin release at dexamethase induced parturitions in cows. **Acta Veterinária Scandinava**, Vanlose, v. 18, n. 2, p. 257-265, 1977.
- LI, Y. F.; PEREZGROVAS, R.; GAZAL, O. S.; SCHWABE, C.; ANDERSON, L. L. Antiprogestosterone, RU 486, facilitates parturition in cattle. **Endocrinology**, v. 129, p. 765-770, 1991.
- LOEWENSTEIN, W. R.; ROSE, B. The cell-cell channel in the control of growth. **Semin Cell Biology**, v. 3, p. 59-79, 1992.
- LYE, S. J.; NICHOLSON, B. J.; MASCARENHAS, M.; MACKENZIE, L.; PETROCELLI, T. Increased expression of connexin-43 in the rat myometrium during labor is associated with an increase in the plasma estrogen:progesterone ratio. **Endocrinology**.v. 132, p.2380-2386, 1993.
- MACKENZIE, L. W.; CARFIELD, R. E. Hormonal control of gap junction in the myometrium. **American Journal Physiology**, v. 248, p. 296-308, 1985.
- 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.
- MARQUES JUNIOR, 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 cotiledons of dairy cows with normal delivery and retained placenta**. 182 p. Tese (PhD). Urbana: University of Illinois, 1988



MARTAL, J.; CHENE, N.; CAMOUS, S.; HUYNH, L.; LANTIER, F.; HERMIER, P.; L'HARIDON, R. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy. **Reproduction Fertility Development**, v. 9, p. 355-380, 1997.

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

MARTINS, V. M. V.; MARQUES JUNIOR, 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.

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

MATAMOROS, R. A.; CAAMANO, L.; LAMB, S. V.; REIMERS, T. J. Estrogen production by bovine binucleate and mononucleate trophoblastic cells in vitro. **Biology Reproduction**, v. 51, p. 486-492, 1994.

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.

MCGOVERN, P. G.; GOLDSMITH, L. T.; SCHIMDT, C. L.; VON HAGEN, S.; LINDEN, M.; WEISS, G. Effects of endothelin and relaxin on rat uterine segment contractility. **Biology Reproduction**, v. 46, p. 680-685, 1992.

MEHTA, P. P.; BERTRAM, J. S.; LOEWSTEIN, W. R. GROWTH inhibition of transformed cells correlates with their junctional communication with normal cells. **Cell**, v. 44, p. 187-196, 1986.

MERTO, G. R.; CELLA, N.; HYNES, N. E. Apoptosis is accompanied by changes in bcl-2 and bax expression, induced by loss of attachment, and inhibited by specific extracellular matrix proteins in mammary epithelial cells. **Cell Growth Different**, v. 8, p. 251-260, 1997.

MESNIL, M.; YAMASAKI, H. Cell-cell communication and growth control of normal and cancer cells: Evidence and hypothesis. **Molecular Carcinogenesis**, v. 7, p. 14-17, 1995.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais**. 6. ed. Porto Alegre. RS: Editora Sulina. Brasil. 1987. v. 1, p. 314.

MEYER, R. A.; LAIRD, D. W.; REVEL, J. P.; JOHNSON, R. G. Inhibition of gap junction and adherens junction assembly by connexin and A-CAM antibodies. **Journal Cell Biology**, v. 119, p. 179-189, 1992.

- 
- MORAIS-PINTO, L. **Caracterização da célula binucleada em placentas de vacas Nelore (*Bos indicus* LINNAEUS, 1758)**. 2002. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- MORGAN, G.; WOODING, F. B. P. Cell migration in the ruminant placenta a freeze fracture study. **Journal Ultrastructural Research**, v. 83, p. 148-160, 1983.
- MORGAN, G.; WOODING, F. B.; BECKERS, J. F.; FRIESEN, H. G. An immunological cryo-ultrastructural study of a sequential appearance of proteins in placental binucleate cells in early pregnancy in the cow. **Journal Reproduction Fertility**, v. 86, p. 745-752, 1989.
- MOYER, D. L.; FELIX, J. C. The effects of progesterone and progestins on endometrial proliferation. **Conception**, v. 57, p. 399-403, 1998.
- MUSIL, L. S.; BEYER, E. C.; GOODENOUGH, D. A. Expression of the gap junction protein connexin43 in embryonic chick lens, molecular cloning, ultrastructural localization, and post-translational phosphorylation. **Journal Membr. Biology**, v. 116, p. 2163–2175, 1990.
- MUSIL, L. S.; GOODENOUGH, D. A. Biochemical analysis of connexin 43 intracellular transport, phosphorylation and assembly into gap junctional plaques. **Journal Cell Biology**, v. 115, p. 1357-1374, 1991.
- MYAGKAYA, G.; VREELING-SINDELAROVA, H. Erythrophagocytosis by cells of the trophoblastic epithelium in the sheep placenta in different stages of gestation. **Acta Anatomica**, v. 95, p. 234-248, 1976.
- MYERS, D. A.; REIMERS, T. J. Purification and endocrine evaluation of bovine binucleate trophoblastic cells. **Journal Tissue Culture Methods**, v. 11, p. 1227-1236, 1988.
- NAKANO, H.; TAKAHASHI, T.; IMAI, K.; HASHIZUME, K. Expression of placental lactogen and cytokeratin in bovine placental binucleate cells in culture. **Cell Tissue Research**, v. 303, p. 263-270, 2001.
- NAKANO, H.; SHIMADA, A.; IMAI, K.; TAKAHASHI, T.; HASHIZUME, K. The cytoplasmic expression of E-cadherin and B-catenin in bovine trophoblasts during binucleate cell differentiation. **Placenta**, v. 26, p. 393-401, 2005.
- NICHOLSON, S. M.; BRUZZONE, R. Gap junctions: getting the message through, **Curr Biology**, v. 7, p. 340-344, 1997.
- NODEN, D. M.; De LAHUNTA, A. **The embryology of domestic animals**. Baltimore: Williams; Wilkins, 1985. 274 p.
- NOEL, S.; HERMAN, A.; JOHNSON, G. A.; GRAY, C. A. STEWART, M. D; BAZER, F. W.; GERTLER, A. SPENCER, T. E. Ovine placental lactogen specifically binds to endometrial glands of the ovine uterus. **Biology Reproduction**, v. 68, p. 772-780, 2003.

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

OHTA, M.; OKANOUE, T.; TAKAMI, S.; NAGAO, Y.; MORI, T.; HORI, N.; OKA, M.; KAGAWA, K.; KASHIMA, K. Morphological alterations of gap junctions in phalloidin-treated rat livers. **Journal Gastroenterology**, v. 29, p. 172-179, 1994.

OLTRA, E.; PFEIFER, I.; WERNER, R. Ini, a small nuclear protein that enhances the response of the connexin 43 gene to estrogen. **Endocrinology**, v. 144, n. 7, p. 3148-3158. 2003.

OMIGBODUN, A.; ZIOLKIEWICZ, P.; TESSIER, C.; HOYER JR.; COUTIFARIS, C. Progesterone regulates osteopontin expression in human trophoblasts: a model of paracrine control in the placenta? **Endocrinology**, v.138, p. 4308-4315, 1997.

OMORI, Y.; MESNIL, M.; YAMASAKI, H. Connexin 32 mutations from X-linked Charcot-Marie-Tooth disease patients: Functional defects and dominant negative effects. **Molecular Biology Cell**, v. 7, p. 907-916, 1997.

ORSINO, A.; TAYLOR, C. V.; LYE, S. J. Connexin-26 and connexin-43 are differentially expressed and regulated in the rat myometrium throughout late pregnancy and with the onset of labor. **Endocrinology**, v. 137, p. 1545-1553, 1996.

PAGANO, R. E.; MARTIN, O. C. Use of fluorescent analogs of ceramide to study the Golgi apparatus of animal cells. In "Cell Biology, A Laboratory Handbook" (J. E. Celis, Ed.), Academic Press, San Diego. 1998. 180 p.

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.

PEREIRA, F. T. V.; MIGLINO, M. A.; BEVILACQUA, E.; CARVALHO, A. F. Morfological aspects of placental haematomes of water buffalo placenta (*Bubalus bubalis bubalis* Linnaeus, 1758) **Brazilian Journal Veterinary Animal Science**, v. 38, p. 151-154, 2001.

- PETROCELLI, T.; LYE, S. Regulation of transcripts encoding the myometrial gap junction protein, connexin 43, by estrogen and progesterone. **Endocrinology**, v.133, p. 284-290, 1993.
- PFARRER, C.; HIRSCH, P.; GUILLOMONT, M.; LEISER, R. Interaction of integrin receptors with extracellular matrix is involved in trophoblast giant cell migration in bovine placentomes. **Placenta**, v. 24, p. 588-597, 2003.
- PFARRER, C. D.; HEEB, C.; LEISER, R. Expression of gap junctional connexins 26, 32 and 43 in bovine placentomes during pregnancy. **Placenta**, v. 27, p. 79-86, Jan. 2006.
- PFARRER, C. D.; RUZIWA, S. D.; WINTHER, H.; LEISER, P.; CALLESEN, H.; SCHAMS, D. Localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors VEGFR-1 and VEGF-2 in bovine placentomes from implantation until term. **Placenta**, v. 3, p. 123- 133, 2005.
- PHYCHOYOS, A. Endocrine control of egg implantation. In: GREEP, R.O.; ASTWOOD, E. B.; GEIGER, S. R. (Ed.) **Hand book of physiology**. Washington DC. American Physiological Society, 1973. p. 187-215.
- PIVA, M.; FLIEGER, O.; RIDER, V. Growth factor control of cultured rat uterine stromal cell proliferations is progesterone dependent. **Biology Reproduction**. v. 55, p. 1333-1342. 1996.
- POTTER, D. D.; FURSHPAN, E. J.; LENNOX, E. S. Connections between cells of the development squid as revealed by electrophysiological methods. **Proc. natl. academi science, USA**. v. 55, p. 328-336, 1966.
- PUCK, J. M.; SNELLER, M. C. ALPS: an autoimmune human lymphoproliferative syndrome associated with abnormal lymphocyte apoptosis. **Seminars in immunology**, v. 9, p. 77-84, 1997.
- PURANAM, K. L.; LAIRD, D. W.; REVEL, J. P. Trapping na intermediate form of connexin 43 in the golgi. **Experiment Cell Resarch**, v. 206, p. 85-92, 1993.
- PUTRO, P. P. Effects of intrauterine dilute iodine solution infusion on the incidence of retained placenta and endometritis in dairy cows. **Acta Veterinária Sacandinava**, Vanlose, v. 83, p. 58-65, 1988.
- QUINLAN, M. P.; HYATT, J. L. Establishment of the circumferential actin filament network is a prerequisite for localization of the cadherin–catenin complex in epithelial cells. **Cell Growth Differ**, v. 10, p. 839–854, 1999.
- RALPH, M. M.; LEE, C. S.; THORBURN, G. D. Identification and characterization of monolayer cultures of sheep trophoblast cells maintained in bicameral culture chambers. **Biology of Reproduction**, v. 41, p. 481-489, 1989.
- RAMSEY, E. M. **The placenta – human and animal**. New York: Praeger 1982.
- REIMERS, T. J.; ULLMANN, M.B.; HALSEL, W. Progesterone and prostanoid production by bovine binucleate trofoblastic cells. **Biology Reproduction**, v. 33, p. 1227-1236, 1985.

- REXROAD Jr, C. E.; POWELL, A. M. Culture of blastomeres from in vitro-matured, fertilized, and cultured bovine embryos. **Molecular Reproduction Development**, v. 48, p. 238-245, 1997.
- RIVEDAL, E.; YAMASAKI, H.; SANNER, T. Inhibition of gap junctional intercellular communication in Syrian hamster embryo cells by TPA, retinoic acid and DDT. **Carcinogenesis**, v. 15, p. 689-694, 1994.
- ROBERTS, R. M.; EARLY, A. D.; ALEXENKO, A. P. HAN, C. S.; EZASHI, T. Trophoblast interferons. **Placenta**, v. 20, p. 259-264, 1999.
- ROBERTS, S. J. **Veterinary obstetrics and genital diseases**. 3. ed. Ithaca: S. J. Roberts, 1971. 776 p.
- 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) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1995.
- SANTOS, R. L.; BARRETO-FILHO, J. B.; MARQUES, A. P.; ANDRADE, J. S., Erythrocytosis in the caprine trophoblast. **Theriogenology**, v. 46, p. 1077-1083, 1996.
- SANTOS, R. L.; MARQUES JUNIOR, A. P. Estudos histoquantitativos do placentomo de vacas leiteiras com liberação normal de placenta. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 4, n. 1, p. 39-42, 1998.
- SCHEIDEGGER, G. A., MELENDEZ, R. P., DUCHENS, A. N., AUSIN, H. J. Retención de placenta y otras alteraciones reproductivas del puerpiero: su efecto sobre la fertilidad post-parto en bovinos Holstein. **Avances en Ciencias Veterinarias**, v.8, n.1, p. 18-23, 1993.
- SCHLAFKE, S.; ENDERS, A. C. Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus at implantation. **Biology of Reproduction**, v. 12, p. 41-65, 1975.
- SCLAFER, 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**, v.60-61, p.145-160, 2000.
- SHIMADA, A.; NAKANO, H.; TAKAHASHI, T.; IMAI, K.; HASHIZUME, K. isolation and characterization of a bovine blastocyst-derived trofoblastic cell line, Bt-1: development of a culture system in the absence of feeder cell. **Placenta**, v. 22, p. 652-662, 2001.
- SMITH, S. C.; BAKER, P. N.; SYMONDS, E. M. Placental apoptosis in normal pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St Louis, v. 177, n. 1, p. 57-65, July, 1997.
- SONG, J. Y.; FRASER, I. S. Effects of progestogens on huma endometrium. **Obstet Gynecol Surv.** v. 50, p. 385-394, 1995.

- 
- SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. **Journal Animal Science**, v. 82, p. 4-13, 2004. Supplement.
- SPENCER, T. E.; OTT, T. L.; BAZER, F. W. Tau-interferon: pregnancy recognition in ruminants. **Proceed society experiment biology medical**, v. 21, p. 215-229, 1996.
- STEINBERG, T. H. Gap junction function. The messenger and the message. **American Journal Pathology**, v. 152, n. 4, p. 851-854, 1998.
- STEVEN, D. H. Anatomy of the placental barrier. In: STEVEN, D. H. (Ed.). **Comparative placentation**. London: Academic, 1975. p. 25-57.
- STEWART, M. D.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; SCHULER, L. A.; JOYCE, M. M.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Prolactin receptor and uterine milk protein expression in the ovine uterus. **Biology Reproduction**, v. 62, p. 1779-1789, 2000.
- TALBOT, N.C.; POWELL, A.; GARRET, W.; EDWARDS, A.; REXROAD JR, C. Ultrastructural and karyotypic examination of in vitro produced bovine embryos developed in the sheep uterus. **Tissue & cell**. V. 32, n. 1, p. 9-27, 2000.
- THATCHER, W. W.; MEYER, M. D.; DANET-DESNOYERS, G. Maternal recognition of pregnancy. **Journal Reproduction Fertility**, v. 49, p. 15-28. 1995.
- TOYOFUKU, T.; YABUKI, M.; OTSU, K.; KUZUYA, T.; HORI, M.; TADA, M. Direct association of the gap junction protein connexin 43 with ZO-cardiac myocytes. **Journal Biology Chemistry**, v. 273, p. 12725-12731, 1998.
- VAN WERNEN, T.; SCHUKKEN, Y. H.; LLOYD, J. The effects of duration of retained placenta on reproduction milk production, postpartum disease and culling rate. **Theriogenology**, v. 37, p. 1191-1203, 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 em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1995. p. 69.
- WAGNER, W. C. Endocrine physiology of the parturient cow and placental retention. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 1, p. 61-74, 1989. Supplement.
- WANGO, E. O.; WOODING, F. B. P.; HEAP, R. B. The role of trophoblastic binucleate cell in implantation in the goat: a morphological study. **Journal Anatomy**. v. 171, p. 241-257, 1990.
- WANGO, E. O.; HEAP, R. B.; WOODING, F. B. P. Progesterone and 5 $\beta$ -pregnanediol production by isolated fetal placental binucleate cells from sheep and goats. **Journal Endocrinology**, v. 129, p. 283-289, 1991.

- WILLIAMS, W. F.; MARGOLIS, M. J.; MANSPEAKER, J.; DOUGLASS, L. W.; DAVIDSON, J. F. Peripartum changes in the bovine placenta related to fetal membrane retention. **Theriogenology**, v. 28, n. 2, p. 213-223, 1987.
- WINSATT, W. A. Observations on the morphogenesis, cytochemistry, and significance of the binucleate giant cells of the placenta of ruminants. **American Journal Anatomical**, v. 159, p. 109-243, 1980.
- WINTERHAGER, E.; BRUMMER, F.; DERMIETZEL, R.; HULSER, D. F.; DENKER, H. W. Gap junction formation in rabbit uterine epithelium is response to embryo reconnection. **Development Biology**, v. 126, p. 203-211, 1988.
- WINTERHAGER, E.; STUTENKEMPER, R.; TRAUB, O.; BEYER, E.; WILLECKE, K. Expression of different connexin genes in rat uterus during decidualization and at term. **European Journal Cell Biology**, v. 55, p.131-142, 1991.
- WINTERHAGER, E.; VON-OSTAU, C.; GERKE, M.; TRAUB, O.; KAUFMANN, P. Connexin expression patterns in human trophoblast cells during placental development. **Placenta**, v. 20, n. 8, p. 627-638, Nov. 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**, Berlin, v. 33, n. 9, p. 660-667, Nov., 1986.
- WOODING, F. B. P. The role of binucleate cell in ruminant placental structure. **Journal of reproduction fertility**, n. 31. p. 31-9, 1982. Supplement.
- WOODING, F. B. P. Current topic: the synepitheliocorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. **Placenta**. v 13, p. 101-113. 1992.
- WOODING, F. B. P. Role binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. **American Journal Anatomy**, v. 170, p. 233-250, 1984.
- WOODING, F. B. P.; BECKERS, J. F. Trinucleate cells and the ultrastructural localization of bovine placental lactogen. **Cell Tissue Research**, v. 247, p. 667-673, 1987.
- WOODING, F. B. P.; FLINT, A. P. F. Placentation, in G.E. Laming (Ed.), **Marshall's Physiology of Reproduction**. Chapman and Hall, London, 1994, Part 1, v. 3, p. 233-360.
- WOODING, F. B. P.; FLINT, A. P. F.; HEAP, R. B.; MORGAN, G.; BUTTLE, H. L.; YOUNG, I. R. Control of binucleate cell migration in the placenta of sheep and goats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 76, n. 2, p. 499-512, 1986.
- WOODING, F. B. P.; WALTHES, D. C. Binucleate cell migration in the bovine placentomes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, p. 425-430, 1980.

- 
- WOODING, F. B.; MORGAN, G.; MONAGHAN, S.; HAMON, M.; HEAP, R. B. Functional specialization in the ruminant placenta: evidence for two populations of fetal binucleate cells of different selective synthetic capacity. **Placenta**, v. 17, p. 75-86, 1996.
- WORHRL, 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.
- YALLAMPALLI, C.; GARFIELD, R. E. Uterine contractile responses to endothelin-1 and endothelin receptors are elevated during labor. **Biology Reproduction**, v. 51, p. 640-645, 1994.
- YAMASAKI, H.; KATOH, F. Further evidence for the involvement of gap junctional intercellular communication in the induction and maintenance of transformed foci im BALB/c 3T3 cells. **Cancer Research**, v. 48, p. 3490-3495, 1988.
- YAMASAKI, H. Aberrant expression and function of gap junctions during carcinogenesis. **Environmental Health Perspectives**, v. 93, p. 191-197, 1991.
- YANO, T. HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. H.; OMORI, Y.; YAMASAKI, H. Reduction of malignant of HEPG2 cell is associated with the expression of connexin 26 but not connexin 32. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 10, p.1593-1600, 2001.
- ZIELER, C. G.; KESSLER, J. F.; SCHULER, L. A. Characterization of a novel prolactin-related protein from bovine fetal placenta. **Endocrinology**, v. 126, p. 2377-2382, 1990.
- ZOLI, A. P.; DOMEZ, P.; BECKERS, J. F.; REZNIK, M.; BECKERS, A . Light and electron microscopic immunolocalization of bovine pregnancy-associated glycoprotein in the bovine placentome. **Biology of Reproduction**, v. 46, p. 623-629, 1992.
- ZONTA, M.; ANGULO, M. C.; GOBBO, S.; ROSENGARTEN, B.; HOSSMANN, K. A.; POZZAN, T.; CARMIGNOTO, G. Neruron-to-astrocytes mediates glial calcium waves. **Nature Neuroscience**, v. 6, p. 43-50, 2003.