

# RETENCION PLACENTARIA EN LA VACA LECHERA. SU RELACION CON LA NUTRICION Y EL SISTEMA INMUNE.

Silva, J. H.<sup>1</sup>; Quiroga, M. A.; Auza, N.J.

## Resumen

La retención placentaria (RP) en la vaca lechera es una alteración reproductiva que causa importantes pérdidas económicas en los establecimientos dedicados a la producción de leche. En sí misma, la RP es relativamente inocua, y su mayor significación consiste en su mediación de condiciones de mayor severidad. Es así, que las vacas que han sufrido RP, son significativamente más susceptibles de desarrollar metritis, cetosis, y mastitis que las vacas que tuvieron un pos-parto normal. Se considera el impacto económico de la RP en los rodeos lecheros, analizándose los mecanismos propuestos para la expulsión de la placenta: isquemia de los placentomas, y reacción inmunitaria, haciéndose hincapié en el posible mecanismo de los leucocitos neutrófilos en el desprendimiento placentario, estudiando la acción de las enzimas proteolíticas leucocitarias (elastasa, colagenasa, gelatinasa y catepsina), la presencia de las antielastasas tisulares, la activación enzimática e inactivación de los inhibidores. Por último se postula un mecanismo para la retención placentaria en la vaca lechera, analizándose el mecanismo de acción de algunos minerales que afectan el metabolismo leucocitario: calcio, cobre, cinc y selenio.

Palabras Clave: Retención Placentaria, Nutrición, Sistema Inmune, Vaca Lechera.

## Introducción

La retención placentaria (RP) en la vaca lechera es una alteración reproductiva que causa importantes pérdidas económicas en los establecimientos dedicados a la producción de leche.

Aunque existe discrepancia entre los distintos autores, se puede considerar RP cuando la placenta no es expulsada antes de las 12 horas post-parto.

---

<sup>1</sup> Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. (7000) Tandil, Pcia. de Bs. As., Argentina. e-mail: jsilva@vet.unicen.edu.ar

En sí misma, la **RP** es relativamente inocua, y su mayor significación consiste en su mediación de condiciones de mayor severidad (67). Es así, que las vacas que han sufrido **RP**, son significativamente más susceptibles de desarrollar metritis (11,12; 26;38), afectando seriamente la fertilidad pos-parto (26;37;38), cetosis (11,12), y mastitis (13;21;56). Se ha encontrado que las vacas con **RP** tienen un mayor riesgo (riesgo relativo: 1.5) de desarrollar mastitis leve, y un riesgo mucho mayor (riesgo relativo: 5.4) de desarrollar mastitis severas con manifestaciones sistémicas, que aquellas vacas que no retienen placenta.

En EEUU el promedio de retención placentaria en poblaciones grandes de vacas lecheras oscila alrededor del 6.6 %, existiendo diversos factores que pueden aumentar este porcentaje, como abortos, distocias, mellizos, edad avanzada, inducción del parto, altas temperaturas ambientales, hipocalcemia, etc. (22); con un costo estimado de U\$S 285/año. En el Reino Unido, este costo asciende a U\$S 476/año. Estas pérdidas están determinadas por un mayor intervalo parto-preñez, una menor producción de leche, un mayor porcentaje de rechazos, y un aumento en los gastos en honorarios profesionales y medicamentos (37) (gráfico 1).



(J.H. Silva,2000)

### Gráfico 1

En el mundo, la incidencia de la **RP** en la vaca lechera oscila entre el 5 y el 15 % (22), cifra semejante a lo que se estima sucede en la Argentina.

## Condicionamiento Nutricional

Cuando se descartan las causas infecciosas o mecánicas, la **RP** reconoce en su etiopatogenia un condicionamiento nutricional que es decisivo para su aparición (36). Es sabido que desbalances en la relación energía/proteína de la dieta durante el período de vaca seca son capaces de provocar alteraciones a nivel del metabolismo intermediario, tales como aumento de los niveles de uremia, cetosis subclínica que se hará clínica en el post-parto, etc. Estos trastornos metabólicos repercuten sobre el funcionamiento hepático llevando a una infiltración grasa del hígado y a un deficiente catabolismo de los esteroides sexuales. Sommer (1975), ha establecido una estrecha relación entre lo que él denomina "Síndrome del Parto" y la disfunción hepática, considerando que la misma es debida a una mala alimentación durante la gestación. La consecuencia directa son alteraciones en la esfera reproductiva: retención placentaria, endometritis, mastitis. Tal disfunción hepática puede ser verificada mediante el análisis en el laboratorio de distintos parámetros sanguíneos: GOT (ASAT),  $\gamma$ GT, Colesterol, Albúmina, Urea, Bilirrubina. (48; 61).

Payne, J. M. (1981) y Ballarini, G. (1983), ampliando el espectro de determinaciones, lograron correlacionar las alteraciones de distintos parámetros bioquímicos sanguíneos con toda una gama de enfermedades metabólicas que repercuten en la actividad productiva de los bovinos (retención placentaria, metritis, mastitis, cetosis, síndrome de la vaca caída, pietín, queratoconjuntivitis, etc.).

Asimismo, distintos autores han relacionado niveles deficitarios de algunos minerales con el desencadenamiento de **RP**. Dentro de los macrominerales, se ha encontrado relación directa entre **RP** e hipocalcemia. (9;12). En cuanto a los microminerales, ya existe evidencia de la relación entre las deficiencias de Cobre y Selenio con la **RP**. (27;35;59;65).

### 1. Mecanismos Propuestos para la Expulsión Placentaria en la Vaca Lechera

#### a) Clásico

- **Isquemia de los Placentomas**: Durante el parto, y luego del mismo, se produce vasoconstricción en el útero con la consecuente isquemia de los

placentomas, lo que lleva a una necrosis gradual de la unión carúncula materna-cotiledón fetal, con desprendimiento paulatino de las distintas capas de dicha unión.

#### b) Nuevo

- **Reacción Inmunitaria:** El cotiledón fetal actúa como cuerpo extraño luego del parto, con liberación de sustancias quimiotácticas, lo que determina la infiltración de los placentomas por neutrófilos periféricos, quienes digerirían la unión carúncula materna-cotiledón fetal.

### 1.1 Posible Mecanismo de Acción de los Neutrófilos en el Desprendimiento Placentario

Los neutrófilos contienen en sus gránulos más de 20 diferentes enzimas proteolíticas, las que son segregadas al medio al que fueron atraídos. De éstas, la **Elastasa**, **Colagenasa**, **Gelatinasa**, y **Catepsina D** y **E**, serían las más importantes, ya que las mismas pueden digerir membranas basales, tejidos elásticos, cartilago, etc.(1)

a- **Elastasa:** Es una serino-proteasa que actúa sobre distintos tipos de sustratos: elastina, colágeno tipo III y IV, inmunoglobulinas, componentes del complemento, factores de coagulación, protoglicanos, fibronectinas y células intactas. Esta enzima podría ser importante para la locomoción de los neutrófilos y su penetración en los tejidos.

a.1 **Antielastasas tisulares:** Existen en los tejidos y en el plasma sanguíneo, como mecanismo de defensa, distintas moléculas inhibitoras de estas enzimas. Las mismas son:

- $\alpha_1$  **inhibidor de la proteinasa** (A1 PI ó  $\alpha_1$ -antitripsina)
- $\alpha_2$  **macroglobulina** ( $\alpha_2$  MG)
- **inhibidor secretorio de la leucoproteinasa** (SLPI)

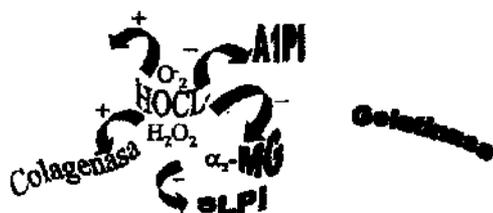
El inhibidor más importante y potente, es el A1 PI, una glicoproteína de 52 kDa que inactiva irreversiblemente a la elastasa en una reacción excepcionalmente rápida: 0.6 ms es la vida media de la elastasa "in vivo".

**a.1.1 Inactivación de los Inhibidores:** La AI PI contiene un residuo metionina en su sitio activo, posición 358, que es crucial para su funcionamiento. La oxidación del Met - 358 causa una dramática disminución de la asociación elastasa-AI PI, aumentando la vida media de la elastasa 200 veces, es decir de 0.6 ms a 1,2 s.

La  $\alpha_2$ -macroglobulina, proteína plasmática de 725 kDa, y el SLPI (inhibidor secretorio de la leucoproteinasas, 14 kDa), también se inactivan por oxidación.

**b- Colagenasa y Gelatinasa:** Son dos metaloenzimas dependientes del Cinc y del Cobalto. La colagenasa puede degradar el colágeno tipos I, II y III, mientras que la gelatinasa ataca al colágeno tipos V, XI, y posiblemente al IV.

Estas dos enzimas se segregan inactivas, y se ha postulado que los mismos neutrófilos las activarían utilizando algún radical oxígeno (posiblemente el HOCl), pues se comprobó en humanos, que los neutrófilos de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica (CGD), contenían cantidades normales de enzimas proteolíticas, pero con una NADPH oxidasa deficiente, produciendo sólo mínimas cantidades de radicales oxígeno ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , y HOCl). Los neutrófilos normales, pero no los de CGD, pudieron activar sus proteinasas "in vitro" (49;66). Es interesante ver que los radicales oxígeno pueden tener una actividad prodigestiva, no sólo por la inactivación de antiproteasas (AIPI), sino también por activación de la colagenasa y gelatinasa. (gráfico 2)



(J. H. Silva, 2000)

## Gráfico 2

*Es quizás factible, a la luz de lo antedicho, aventurar la hipótesis de que las enzimas proteolíticas segregadas por los neutrófilos hacia el intersticio de la unión materno-fetal, serían las responsables de la digestión del tejido conectivo que mantiene firme dicha unión, determinando la separación de la placenta.*

### **2. Postulación de un mecanismo de Retención Placentaria**

La menor disponibilidad de enzimas proteolíticas en el intersticio materno-fetal podría deberse a dos motivos:

1- Factores que afecten la capacidad migratoria de los neutrófilos determinarían un menor número de éstos en los placentomas y, por consiguiente, una menor cantidad de enzimas proteolíticas disponibles para la digestión de la unión materno fetal.

Diversos autores han correlacionado la disminución de la actividad de los neutrófilos de sangre periférica durante el parto con el retardo en el desprendimiento de la placenta en la vaca (24;28;29;30;31;32;33), como también verificado la mayor actividad quimiotáctica de los placentomas de vacas con expulsión normal de placenta que los de vacas con retención de secundinas (33).

Heuwieser (1986), demostró, asimismo, que los placentomas correspondientes a vacas con expulsión normal de secundinas tuvieron significativamente mayor infiltración leucocitaria que las vacas con retención placentaria, aunque no observó correlación entre el grado de infiltración granulocítica y la actividad quimiotáctica de los homogenatos de placentomas o del suero.

2- Factores que determinen una menor producción de radicales oxígeno por los neutrófilos, motivarían *la no inactivación de las antielastasas tisulares* por un lado, y *la falta de activación de la colagenasa y la gelatinasa* por otro. Esta menor actividad de las enzimas proteolíticas liberadas al medio, disminuiría la velocidad de digestión del colágeno de la unión materno fetal en el placentoma, retardando por consiguiente, el desprendimiento de la placenta.

Estas hipótesis estarían refrendadas por Eiler et al. (1997), quienes inyectando 200.000 unidades de colagenasa bacteriana en las arterias

umbilicales de placentas correspondientes a terneros extraídos por cesárea (maniobra que casi siempre va seguida por retención de secundinas), obtuvieron a las 36 hs post-cirugía, un 20 % de retención de membranas con respecto a las vacas control en las que la retención de secundinas fue del 60 %, y por Gilbert et al. (1993), que encontraron que la producción de anión superóxido al momento del parto por los neutrófilos de vacas control (sin retención placentaria) fue significativamente mayor que la de los neutrófilos de vacas con retención placentaria ( $9.74 \pm 0.91$  y  $5.76 \pm 1.04$  nMol  $O_2$   $10^{-6}$  células  $5 \text{ min}^{-1}$  respectivamente).

A partir de estas últimas observaciones, es posible aventurar la hipótesis de que deben existir factores (deficiencias nutricionales, p. ej.), que afecten directamente la actividad leucocitaria independientemente del poder quimiotáctico de los placentomas.

### **3. Algunos minerales que afectan el metabolismo leucocitario**

Se ha comprobado “in vitro” e “in vivo”, que algunos minerales tales como el Selenio, Calcio, Cobre y Zinc son esenciales para el metabolismo de los leucocitos y que su deficiencia provoca una menor respuesta de éstos (4;14;27;34;40;41;65;70).

#### **1. Calcio (Gráfico 3)**

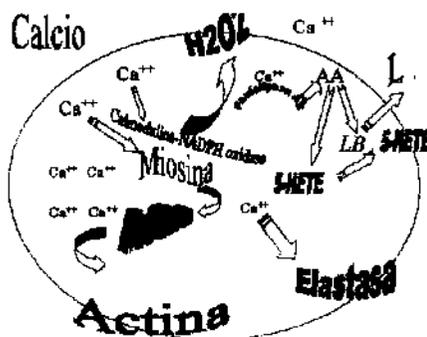
La Hipocalcemia puerperal puede afectar seriamente el metabolismo de los leucocitos (41)

La primer señal que se puede detectar durante la activación de los leucocitos por mitógenos, es el incremento de la concentración intracelular del calcio iónico  $[Ca^{++}]_i$  (14). Este incremento del  $[Ca^{++}]_i$  es necesario para poner en marcha los distintos sistemas enzimáticos (68) para la síntesis y liberación de interleukinas y otros mediadores leucocitarios.

La capacidad migratoria de los neutrófilos y su poder fagocítico, dependen fundamentalmente de los niveles del  $[Ca^{++}]_i$ , pues las proteínas que regulan la diapedesis son dependientes del calcio. Los pseudópodos pueden contraerse debido a que la miosina puede dirigir el gel de actina hacia áreas del citoplasma que tienen una alta concentración de calcio, en donde ésta se desensambla pasando al estado sol (66).

Los procesos de diapedesis y fagocitosis dependen en parte, de la cascada enzimática del Acido Araquidónico con la producción de Leucotrienos, específicamente del Leucotrieno B<sub>4</sub>. En este proceso, el Calcio es fundamental y determinante para la activación de la primer enzima de la reacción: Fosfolipasa A<sub>2</sub> (20). (gráfico 3)

Se ha observado, también, que el incremento de la [Ca<sup>++</sup>]<sub>i</sub> en los neutrófilos, inducido por la Citochalasina B, determina la liberación de elastasa por éstos (7).



(J. H. Silva, 2000)

**Gráfico 3**

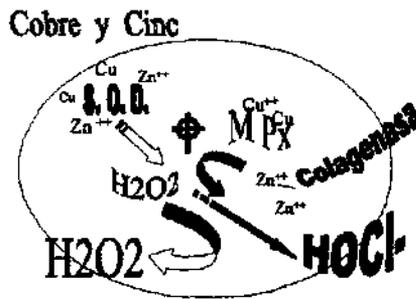
## 2. Cobre y Zinc (Gráfico 4)

No se ha dilucidado completamente, hasta el momento, el papel que jugarían el cobre y el zinc en la modulación de la actividad de los neutrófilos.

Una vez que los neutrófilos han fagocitado un germen, se produce lo que se conoce como estallido respiratorio, con una importante generación de aniones superóxido ( $\cdot O_2$ ). Estos superóxidos, primero se transforman en hidropéroxidos por la acción de la superóxido-dismutasa, los que mediante la enzima mieloperoxidasa forman compuestos de alta toxicidad para las bacterias, principalmente haluros ( $HOCl$ ). La enzima superóxido-dismutasa es cobre-zinc-dependiente, y ha sido demostrado que la disminución de los

niveles de cobre en sangre de bovinos, se acompaña por una menor actividad de esta enzima. De la misma manera, la mieloperoxidasa tiene como co-factor al Cobre. Si tenemos en cuenta que el HOCl es el principal activador de las enzimas proteolíticas de los neutrófilos (colagenasa y gelatinasa), es posible que la hipocupremia (y quizás la deficiencia de cinc) estén afectando (mediante una menor producción de radicales libres) la actividad de estas enzimas y, por ende, el desprendimiento placentario. (gráfico 4)

Hoy se sabe que el Cinc es cofactor de más de 300 enzimas, lo cual habla por sí sólo de su importancia en el metabolismo leucocitario. Una disminución de la concentración de Cinc "in vivo", deteriora la actividad de las células Natural Killer, la fagocitosis de macrófagos y neutrófilos, y ciertas funciones tales como la quimiotaxis y el estallido respiratorio. (2;40). Su papel como cofactor de la Colagenasa (70), implica que posiblemente una deficiencia de Cinc afectará la actividad de esta enzima.



(J. H. Silva, 2000)

#### Gráfico 4

### 3. Selenio (Gráfico 5)

La habilidad de los neutrófilos de ratón para matar *Candida albicans* fagocitada está correlacionada con la actividad de la Glutación peroxidasa citosólica (cGSHPx) en condiciones de status de Selenio por encima de lo normal (4; 15; 43).

La enzima Selenio-dependiente Fosfolípido Hidroperóxido Glutación Peroxidasa (PHGSHPx) tendría un papel importante en la migración y poder fagocítico de los neutrófilos, dado que sería la peroxidasa encargada de reducir los grupos hidroperóxidos incorporados al ácido araquidónico (AA) por la lipooxigenasa, determinando la formación de 5-HETE y Leucotrienos, ambos poderosos agentes quimiotácticos para los propios neutrófilos (20). También se ha comprobado que el Se es necesario para la internalización de los receptores de transferrina (51), por lo que su deficiencia estaría afectando no sólo el metabolismo leucocitario de hierro, sino también la incorporación de Zn al citoplasma.

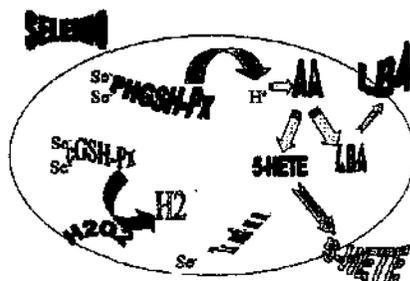


Gráfico 5

(J.H. Silva, 2000)

## BIBLIOGRAFIA

1. Abramson, J.S.; Wheeler, J.G. (1993). *The Neutrophil*. IRL Press Ed. (Oxford Univ. Press), 1<sup>a</sup> ed., Oxford.
2. Allen, J.I.; Perri, R.T.; McClain, C.J.; Kay, N.E. (1983). Alterations in human natural killer cell activity and monocyte cytotoxicity induced by zinc deficiency. *J. Lab. Clin. Med.*, 102:577-589.
3. Anderson, K.L.; Hemeida, N.A.; Frank, A.; Whitmore, H.L., Gustafsson, B.K. (1985). Collection and phagocytic evaluation of uterine neutrophilic leukocytes. *Theriogenology*, 24: 305-317.
4. Arthur, J.R.; Boyne, R.; Morrice, P.; Nicol, F. (1986). Selenium and neutrophil function in mice. *Proc. of the Nutr. Soc.*, 45:63A.
5. Arthur, J.R.; Beckett, G.J. (1994). New metabolic roles for selenium. *Proc. Of the Nutr. Soc.*, 53:615-624.
6. Ballarini, G. (1983). Problemas metabólicos en vacas lecheras. *Rev. Med. Vet.*, 64: 4, 266-287.
7. Brown, G. B. & Roth, J. A. (1991). Comparison of the response of bovine and human neutrophils to various stimuli. *Vet. Imm. and Immunopath.* 28: 3-4, 201-218.

8. Cai, T.Q.; Wetson, P.G.; Lund, L.A.; Brodie, B.; Mckenna, D.J. (1994). Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 55:934-943.
9. Carson, R. L., Caudle, A. B. & Riddle, H. E. (1978). The relationship between narrow calcium-phosphorus ratio and reproductive problems in a dairy herd: a case report. *Theriogenology* 9: 6, 505-507.
10. Cobb, S.P.; Watson, E.D. (1995). Immunohistochemical study of immune cells in the bovine endometrium at different stages of the oestrus cycle. *Res. in Vet. Sci.*, 59: 238-241.
11. Corea, M. T., Curtis, C. R., Erb, H. N., Scarlett, J. M. & Smith, R. D. (1990). An ecological analysis of risk factors for postpartum disorders of Holstein-Friesian cows from thirty-two New York farms. *J. of Dairy Sci.* 73: 6, 1515-1524.
12. Curtis, C. R., Erb, H. N., Sniffen, C. J., Smith, R. D., Powers, P. A., Smith, M. C., White, M. E., Hillman, R. B. & Pearson, E. J. (1983). Association of parturient hypocalcaemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J. A. V.M.A.* 183: 5, 556-559.
13. Curtis, C.R.; Erb, H.N.; Sniffen, C.J.; Smith, R.D.; Kronfeld, D.S. (1985). Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 68:2347-2360.
14. Chandy, K. G.; De Coursey, T. E.; Cahalan, M. D.; Gupta, S. (1985). Electroimmunology. The physiological role of ion channels in the immune system. *The J. of Imm.*, 135(2): 787-791.
15. Doroshov, J.H.; Akman, S.; Esworthy, S.; Chu, F.F.; Burke, T. (1991). Doxorubicin resistance conferred by selective enhancement of intracellular glutathione peroxidase or superoxide dismutase content in human MCF-7 breast cancer cells. *Free Rad. Res. Comm.*, 12:779-781.
16. Eiler, H.; Wan, P.Y.; Valk, N.; Fecteau, K. A. (1997). Prevention of retained placenta by injection of collagenase into umbilical arteries of calves delivered by cesarean section: a tolerance study. *Theriogenology*, 48: 1147-1152.
17. Erb, H.N.; Smith, R.D.; Oltenacu, P.A.; Guard, C.L.; Hillman, R.B.; Powers, P.A.; Smith, M.C.; White, M.E. (1985). Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield, and culling in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 68:3337-3349.
18. Gerardi, A.S. (1996). Bovine leucocyte adhesion deficiency: a review of a modern disease and its implications. *Res. in Vet. Sci.*, 61: 183-186.
19. Gilbert, R.O.; Gröhn, Y.T.; Guard, C.L.; Surman, V. (1993). Impaired post partum neutrophil function in cows which retain fetal membranes. *Res. in Vet. Sci.*, 55: 15-19.
20. Gimeno, A.L.; Gimeno, M.A.F. (1985). En: *Endocrinología Molecular*, (Calandra, R.S.; de Nicola, A.F.), Ed. El Ateneo, Bs. As.
21. Grant, R.G.; Finch, J.M. (1996). Phagocytosis of *Streptococcus uberis* by bovine mammary gland macrophages. *Res. Vet. Sci.*, 62: 74-78.
22. Grohn, Y.T.; Erb, H.N.; McCulloch, C.E.; Saloniemi, H.S. (1989). Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: association between host characteristics, disease, and production. *J. Dairy Sci.*, 72:1876-1885.
23. Grunert, E. (1983). Aetiology, Pathogenesis and treatment of placental retention in the cow. *Wiener Tierärztl. Monatsschr.*, 70:230-235.
24. Gunnink, J. W. (1984). I. Retained placenta and leucocytic activity. II. Pre-partum leucocytic activity and retained placenta. III. Post-partum leucocytic activity and its relationships to caesarean section and retained placenta. IV. Influence of dilution on the chemotactic properties of cotyledon suspensions. *Veterinary Quarterly*, 6(2): 49-59.

25. Guidry, A.J.; Paape, M.J.; Pearson, R.E. (1976). Effects of parturition and lactation on blood and milk cell concentrations, corticosteroids, and neutrophil phagocytosis in the cow. *Am. J. Vet. Res.*, 37: 1195-1200.
26. Halpern, N.E.; Erb, H.N.; Smith, R.D. (1985). Duration of retained fetal membranes and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 23:807-813.
27. Harrison, J.H.; Hannock, D.D.; Conrad, H.R. (1984). Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 67:123.
28. Heuwieser, W., Grunert, E. & Ehlert, R. (1985). Measurement of chemotactic activity in extirpated bovine placentomes with reference to expulsion of the placenta. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* 98: 12, 401-409.
29. Heuwieser, W., Offeney, F., Hartig, U. & Grunert, E. (1986). Course of chemotactic activity in placentomes of cattle with reference to the discharge of fetal membranes. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 55: 2, 135-143.
30. Heuwieser, W., Offeney, F., Hartig, U. & Grunert, E. (1986). Duration of placental expulsion in the cow. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift* 93: 10, 467-469.
31. Heuwieser, W., Woicke, J., Grunert, E. & Ehlert, R. (1986). Importance of chemotactic activity and leukocytic infiltration in placental tissue for the expulsion of fetal membranes in the cow. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* 99: 4, 127-130.
32. Heuwieser, W. (1987). Pathogenesis of placental retention. *Praktische-Tierarzt* 68: Sondernummer: *Collegium Veterinarium* XVII, 39-42.
33. Heuwieser, W. & Grunert, E. (1987). Significance of chemotactic activity for placental expulsion in cattle. *Theriogenology* 27: 6, 907-912.
34. Hoedemaker, M.; Lund, L.A.; Wagner, W.C. (1992). Influence of arachidonic acid metabolites and steroids on function of bovine polymorphonuclear neutrophils. *Am. J. Vet. Res.*, 53: 1534-1539.
35. Hogan, J.S.; Weiss, W.P.; Smith, L. (1993). Role of vitamin E and Selenium in host defense against mastitis. *J. Dairy Sci.*, 76:2795-2803.
36. Joosten, I.; Van Eldik, P.; Elving, L.; Van Der Mey, G.J.W. (1987). Factors related to the aetiology of retained placenta in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 14:251-262.
37. Joosten, I.; Stelwagen, J.; Dijkhuizen, A.A. (1988). Economic and reproductive consequences of retained placenta in dairy cattle. *Vet. Rec.*, 123:53-57.
38. Kaneene, J.B.; Miller, R. (1994). Epidemiological study of metritis in Michigan dairy cattle. *Vet. Res.*, 25:253-257.
39. Kaneko, K.; Kawakami, S.; Mi yoshi, M.; Abukawa, T.; Yamanaka, S.; Mochizuki, M.; Yoshihara, S. (1997). Effect of retained placenta on subsequent bacteriological and cytological intrauterine environment and reproduction in Holstein dairy cows. *Theriogenology*, 48: 617-624.
40. Keen, C.L.; Gershwin, M.E. (1990). Zinc deficiency and immune function. *Ann. Rev. Nutr.*, 10:415-431.
41. Kehrli, M.E.; Goff, J.P. (1989). Periparturient hypocalcemia in cows: effects on peripheral blood neutrophil and lymphocyte function. *J. Dairy Sci.*, 72: 1188-1196.
42. Kehrli, M.E.; Shuster, D.E. (1994) Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.*, 77:619.
43. Mirault, M.E.; Tremblay, A.; Beaudoin, N.; Tremblay, M. (1991). Overexpression of seleno-glutathione peroxidase by gene transfer enhances the resistance of T47D human breast cells to clastogenic oxidants. *J. Biol. Chem.*, 266:20752-20760.

44. Nagahata, H.; Higuuchi, H.; Nochi, H.; Tamoto, K.; Noda, H.; Kociba, G.J. (1996). Biosynthesis of B<sub>2</sub> - integrin, intracellular calcium signalling and functional responses of normal and CD18-deficient bovine neutrophils. *Res. in Vet. Sci.*, 61: 95-101.
45. Ott, T.L.; Wiley, A.A.; Bartol, F.F. (1997). Effects of stage of gestation and uterine ligation on ovine placentome development and glycosaminoglycans. *J. Anim. Sci.*, 75: 1053-1062.
46. Paape, M. J.; Capuco, A.V. (1997). Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J. Anim. Sci.*, 75: 556-565.
47. Paisley, L.G.; Mickelsen, W.D.; Anderson, P.B. (1986). Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. *Theriogenology*, 25 (3):353-381.
48. Payne, J. M. *Enfermedades Metabólicas de los Animales Domésticos*, Ed. Acribia, (1981).
49. Peppin, G.J.; Weiss, S.J. (1986). Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83:4322-4326.
50. Peter, A.T.; Bosu, W.T.K. (1987). Periparturient endocrine changes associated with retained placenta in dairy cows. *Theriogenology*, 28 (3):383-394.
51. Pighetti, G.M.; Eskew, M.L.; Channa Reddy, C.; Sordillo, L.M. (1998). Selenium and vitamin E deficiency impair transferrin receptor internalization but not IL-2, IL-2 receptor, or transferrin receptor expression. *J. Leuk. Biol.*, 63:131-137.
52. Politis, I.; Zhao, X.; McBride, B. W.; (1991). Examination of chemotactic properties of bovine mammary macrophages. *Can. J. Vet. Res.*, 55:321-324.
53. Politis, I.; Hidiroglou, M.; Batra, T.R.; Gilmore, J.A.; Gorewit, R.C.; Scherf, H. (1995). Effects of vitamin E on immune function of dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 56(2): 179-184.
54. Pollock, J.M.; McNair, J.; Kennedy, S.; Kennedy, D.G.; Walsh, D.M.; Goodall, E.A.; Mackie, D.P.; Crockard, A.D. (1994). Effects of dietary vitamin E and selenium on in vitro cellular immune responses in cattle. *Res. in Vet. Sci.*, 56: 100-107.
55. Ramirez, C.E.; Mattioli, M.J.; Giuliodori, M.J.; Yano, H.; Matsui, I. (1998). Deficiencia de Zn en bovinos de cría de la Provincia de Buenos Aires. *Vet. Arg.*, 142:114-118.
56. Scukken, Y.H.; Erb, H.N.; Scarlett, J.M. (1989). A hospital-based study of the relationship between retained placenta and mastitis in dairy cows. *Cornell Vet.*, 79:319-326.
57. Segerson, E. C.; Li, H.; Talbot, C.W. (1997). Estradiol-17 $\beta$  and progesterone increase ovine uterine suppressor cell activity. *J. Anim. Sci.*, 75: 2778-2787.
58. Silva, J.H.; Ruiz Moreno, M.J. (1998). Calcio y Vitamina D. Su relación con el sistema inmunológico. Revisión bibliográfica. *Med. Vet. (Barcelona)*, 15(1):15-22.
59. Silva, J.H.; Quiroga, M.A.; Auza, N.J. (2000). Selenio en el rumiante. Relaciones suelo, planta, animal. *Med. Vet. (Barcelona)*, 17(10):229-239.
60. Slama, H.; Vaillancourt, D.; Goff, A.K. (1994). Effect of bacterial cell wall and hyopolysaccharide on arachidonic acid metabolism by caruncular and allantochorionic tissues from cows that calved normally and those that retained fetal membranes. *Theriogenology*, 41:923-942.
61. Sommer, H. (1975). Medicina preventiva en vacas lecheras. *Noticias Médico Veterinarias*, 1/2, 42-63.
62. Squier, M.K.T.; Sehent, A.J.; Cohen, J.J. (1995). Apoptosis in leukocytes. *J. Leukocyte Biol.*, 57: 2.

63. Subandrio, A.I.; Noakes, D.E. (1997) Neutrophil migration into the uterine lumen of the cow: the influence of endogenous and exogenous sex steroid hormones using two intrauterine chemoattractants. *Theriogenology*, 47: 825-835.
64. Trinder, P. (1969). *Ann. Clin. Biochem.*, 6:24.
65. Turner, R.J.; Finch, J.M. (1991). Selenium and the immune response. *Proc. of the Nutr. Soc.*, 50:275-285.
66. Tyzard, I (1995). En: *Inmunología Veterinaria*. 4<sup>a</sup> ed., Ed. Interamericana\*McGraw-Hill, Mexico, pp 23.
67. van Werven, T.; Schukken, Y.H.; Lloyd, J.; Brand, A.; Heeringa, H.T.J.; Shea, M. (1992). The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, 37:1191-1203.
68. Villareal, M.L.; Palfrey, H.C. (1989). Intracellular calcium and cell function. *Ann. Rev. Of Nutr.*, 9:347-376.
69. Weiss, S.J.; Peppin, G.; Ortiz, X.; Ragsdale, C.; Test, S.T. (1985). Oxidative autoactivation of latent collagenase by human neutrophils. *Science*, 227:747-749.
70. Wellinghausen, N.; Rink, L. (1998). The significance of zinc for leukocyte biology. *J. Leuk. Biol.*, 64:571-577.
-