

# Łożysko jako gruczoł dokrewny u psów i kotów

Andrzej Max

Psy i koty łączy to, że należą do tego samego rzędu – drapieżne (Carnivora), ale do różnych podrzędów i rodzin. Często myślimy o tych gatunkach łącznie z tego powodu, że są one ssakami o najwyższym stopniu udomowienia i żyją bezpośrednio w środowisku człowieka. To wspólne traktowanie dotyczy między innymi klasyfikacji występującej w weterynarii, która wyodrębnia w szczególności grupę zwaną „małymi zwierzętami”, co w praktyce oznacza właśnie psy i koty. Ponadto oba gatunki mają zbliżone, chociaż nie identyczne, potrzeby żywieniowe, co pozwala na zaliczenie ich do zwierząt mięsożernych, które to określenie bywa też zamiennikiem słowa będącego nazwą rzędu: drapieżne. Poza wyglądem wśród cech biologicznych różniących psy i koty są też liczne różnice czynnościowe, w tym endokrynowe. Celem tego artykułu jest przedstawienie specyfiki gatunkowej w zakresie wydzielniczości psiego i kociego łożyska, zwłaszcza że wiedza w tym zakresie znacznie się pogłębiła w ostatnich latach.

Łożysko jako narząd charakterystyczny dla ciąży rozwija się po implantacji zarodka, która rozpoczyna się u psów w czasie 18–20 dni po przedowulacyjnym wylewie LH, a u kotów w 12.–14. dniu po pokryciu. Należy do łożysk prawdziwych (*placenta vera*), ponieważ tworzy nieznaczną tylko barierę między krwią matki i płodu, jaką jest śródbłonek macicznych naczyń krwionośnych, które wchodzi w kontakt z kosmówką – jest to więc łożysko śródbłonkowo-kosmówkowe. Jeszcze ściślejszą penetracją cechują się łożyska gryzoni oraz naczelnych, które są krwio-kosmówkowe. Łożyska prawdziwe w ich części macicznej utworzonej przez *endometrium* są wyposażone w doczesną, wchodzącą w bezpośredni kontakt z trofoblastem. Związki między matką a płodem realizowane za pośrednictwem łożyska powodują, że w opisie wzajemnych relacji oraz czynności metabolicznych i wydzielniczych tych struktur używa się określeń mówiących o ich funkcjonalnych sprzężeniach. W różnych sytuacjach używa się mianowicie określeń takich jak jednostka maczyno-płodowa, jednostka płodowo-łożyskowa lub jednostka maczyno-łożyskowo-płodowa. Łożysko, poza rolą metabolicznego i immunologicznego pośrednika między matką a płodem, pełni ważną rolę gruczołu wydzielania wewnętrznego, produkując hormony klasyfikowane w takie grupy, jak neuropeptydy, hormony podobne do przysadkowych, hormony steroidowe oraz monoaminy i hormony podobne do nadnerczowych (Reis i Petraglia 2001, cyt. za 1). Poniżej zostaną przedstawione hormony pochodzenia łożyskowego ważne dla prawidłowego przebiegu ciąży i porodu.

## Progesteron

### Pies

W odróżnieniu od innych gatunków zwierząt domowych łożysko psa nie wykazuje cech steroidogenezy.

## Placenta as an endocrine organ in dogs and cats

### Max A.

Placenta in all species is an important endocrine organ, producing hormones which determine the maintenance of pregnancy, influence fetal development and coordinate the start of parturition. This article aims at the presentation of current knowledge on the placental production of progesterone, estrogens, relaxin, PGF<sub>2α</sub> and leptin in dogs and cats. Despite the belonging to carnivores, congruous way of nutrition and the same morphology of canine and feline placentas, there are some similarities as well as some differences in placental secretory function in dogs and cats. In particular, differences in placental steroidogenesis between these two species are described.

**Keywords:** dog, cat, placenta, endocrinology.

Przeprowadzono badania immunoenzymatyczne psich łożysk w kierunku obecności enzymów biorących udział w steroidogenezie, takich jak enzym rozszczepiający cholesterol, który katalizuje konwersję cholesterolu do pregnenolonu, dehydrogenaza 3β-hydroksysteroidowa (niezbędna w powstawaniu mineralo- i glikokortykosteroidów), hydrolaza 17α-steroidowa (kluczowy enzym szlaku syntezy kortyzolu), 20-liaza (bierze udział w biosyntezie androgenów) i aromataza (odpowiada za konwersję androgenów w estrogeny). Nie wykryto obecności żadnego ze wspomnianych enzymów, co wyklucza steroidogenezę w obrębie łożyska (2).

### Kot

Ciałka żółte są u kotów głównym źródłem progesteronu. Tsutsui i wsp. (3) przeprowadzali owariektomię u kotek w różnych stadiach ciąży. Wszystkie kotki gonadektomizowane w 35. dniu poroniły, jednak od 40. dnia, pomimo usunięcia jajników, część samic utrzymała ciążę, chociaż stężenie progesteronu spadło do wartości podprogowych. Świadczy to o tym, że źródłem tego steroidowego hormonu we krwi obwodowej są ciała żółte. Jednak brak ronień u niektórych kotek mogłyby teoretycznie wskazywać, że albo progesteron przestaje być niezbędny dla trwania zaawansowanej ciąży, albo też istnieje jego produkcja miejscowa w łożysku, która nie wpływa na zawartość hormonu w krążeniu ogólnym. Podjęto zatem dalsze badania weryfikujące to przypuszczenie. W komórkach decydualnych macicznej części łożysk kocich stwierdzono (podobnie jak w komórkach luteinowych) pod koniec ciąży znaczny wzrost ekspresji dwóch czynników biorących udział w syntezie progesteronu, a mianowicie dehydrogenazy 3beta-hydroksysteroidowej oraz białkowego regulatora steroidogenezy StAR. Świadczy to o zdolności tych komórek do produkcji progesteronu i o tym, że łożysko pełni rolę dodatkowego jego źródła, współuczestnicząc w podtrzymywaniu ciąży u tego gatunku (4).

## Estrogeny

### Pies

W odróżnieniu od innych gatunków zwierząt domowych łożysko psa nie wykazuje cech steroidogenezy. Nie wydziela ono zatem estrogenów podczas ciąży ani też w okresie porodu. W badaniach Hoffmanna i wsp. (5) nie stwierdzono swoistego dla ciąży wzrostu stężenia 17 $\beta$ -estradiolu. Jego stężenie we krwi obniżyło się przed porodem równoległe do spadku stężenia progesteronu, co wskazuje na lutealne pochodzenie tego hormonu u suk w ciąży i nieciążarnych. Potwierdzają to późniejsze obserwacje, które także wykazały spadek stężenia estradiolu w okresie przedporodowym (6). Także Luz i wsp. (7) zaprzeczyli wzrostowi stężenia estradiolu przed porodem, który byłby w korelacji do wzrostu stężenia prostaglandyny F $_{2\alpha}$ . Jednocześnie nie wykazano obecności estrogenów w tkankach łożyska, co przemawia za brakiem ich wydzielania przez ten narząd (5).

### Kot

Badania ekspresji mRNA enzymów steroidogenezy w łożyskach kocich wykazały jej wysoki poziom w odniesieniu do enzymów odgrywających rolę w końcowej fazie syntezy estradiolu (aromataza CYP19A1) i progesteronu (dehydrogenaza hydroksysteroidowa HSD3 $\beta$ ), co korelowało z zawartością odnośnych hormonów. Inne enzymy związane z wcześniejszymi fazami metabolizmu steroidów występowały tylko w śladowych ilościach, co świadczy o korzystaniu z pozałożyskowych źródeł tych substratów. Ostatecznie autorzy wysnuli wniosek, że łożysko kota jest zdolne do produkcji estradiolu i progesteronu (8). Pod koniec ciąży u kotów zaznacza się przedporodowy wzrost stężenia estradiolu we krwi, co różni ten gatunek od psa.

## Relaksyna

### Pies

Relaksyna jest polipeptydowym hormonem, którego działanie – przez rozluźnienie aparatu więzadłowego oraz połączeń stawowych miednicy – umożliwia poród. U różnych gatunków zwierząt jego źródłem jest ciało żółte, łożysko lub obie te struktury. U psów relaksyna jest przede wszystkim pochodzenia łożyskowego (9), a dokładniej – jest produkowana w części płodowej łożyska, chociaż wykazano ją także w komórkach lutealnych podczas ciąży. Wydaje się, że stymuluje ona wydzielanie przez przysadkę prolaktyny – niezbędnego czynnika luteotropowego, warunkującego utrzymanie ciąży u psów (10). Istnieją przypuszczenia, że niedostateczne wydzielanie relaksyny może skutkować zbyt niskim stężeniem prolaktyny i hipoluteoidyzmem u niektórych suk; taką tendencję zanotowano u owczarków niemieckich (15, 16). Ponadto relaksynie przypisuje się działanie regulacyjne w procesie kształtowania się łożyska i funkcji maciczno-łożyskowych na poziomie auto/parakrynowym oraz udział w komunikacji matczyno-płodowej (11). Pomiar stężenia relaksyny jest jedną z metod rozpoznawania ciąży. Stężenie hormonu

we krwi pozwalające na pozytywną diagnozę jest osiągnięte średnio około 25. dnia po wylewie LH, z wahaniami od 19. do 28. dnia. Nie obserwuje się wyników dodatnich fałszywych (12). Test relaksynowy wykazał swoją przydatność także u dzikich psowatych (13, 14).

### Kot

U kotów relaksyna we krwi staje się wykrywalna około 20–25. dnia ciąży. Potem jej stężenie wzrasta do 30–35. dnia, by następnie obniżyć się w czasie około 2 tygodni przed porodem, a na drugi dzień po porodzie hormon jest już niewykrywalny. Wykazano eksperymentalnie, że źródłem relaksyny u kotów jest łożysko. Jej stężenie utrzymuje się we krwi po owariektomii, gdy ciąża jest utrzymywana przy udziale egzogennych gestagenów (17, 18). Także u tego gatunku wykorzystuje się pomiar stężenia relaksyny w rozpoznawaniu ciąży. Od 29. dnia czułość tej metody określono na 100%, swoistość zaś na 95,9% (19). Okazuje się, że także wykrycie hormonu w moczu może być używane do diagnostyki ciąży zarówno u kotów domowych od 28. dnia po pokryciu (20), jak i innych kotowatych (21).

## PGF $_{2\alpha}$

### Pies

Aby poród odbył się w fizjologicznym terminie, muszą powstać podstawowe warunki go umożliwiające, jakimi są rozwarcie szyjki macicy i aktywność skurczowa *myometrium*. Niezbędne jest zatem wstrzymanie bloku progesteronowego, czyli spadek stężenia progesteronu do wartości podprogowych. Ponieważ ciało żółte są u psów jedynym, a u kotów głównym źródłem progesteronu, sprawna luteoliza jawi się jako konieczny czynnik warunkujący zapoczątkowanie porodu. Głównym czynnikiem luteolitycznym jest PGF $_{2\alpha}$ . Jest ona produkowana w różnych narządach, co jest gatunkowo zależne. U psów źródłem tego hormonu tkankowe jest łożysko, co wyjaśniły badania Kowalewskiego i wsp. (22), wskazujące, że przedporodowy wzrost stężenia PGF $_{2\alpha}$  jest następstwem wzrostu w tkance łożyska enzymu o nazwie syntaza 2 endoperoksydazy prostaglandyny (PTGS2; dawniejsza nazwa cyklooksygenaza 2 – COX2), katalizującego przemianę kwasu arachidonowego w prostaglandynę H $_2$ , będącą między innymi prekursorem PGF $_{2\alpha}$ . Jednocześnie obserwowano wzrost stężenia metabolitu prostaglandyny (PGFM) we krwi. Podobne zmiany wystąpiły podczas luteolizy wywołanej aglepristonem podanym w zalecanej dawce 10 mg/kg dwukrotnie w odstępie 24 godzin.

U wielu gatunków zwierząt poród jest indukowany przez glikokortykosteroidy, które są uwalniane przez nadnercza w odpowiedzi na stresory. Dojrzałe płody pod koniec ciąży produkują kortyzol, biorąc udział w rozpoczęciu akcji porodowej. U psów przedporodowa luteoliza jest związana ze wzrostem stężenia PGF $_{2\alpha}$ , jednak nie towarzyszy temu wzrost stężenia estrogenów, jak to jest u wielu innych gatunków zwierząt. Jednocześnie u psów wzrost stężenia kortyzolu nie wydaje się niezbędny dla inicjacji porodu. Nie można jednak wykluczyć jego auto- lub parakrynowego oddziaływania

w obrębie jednostki maczyno-łożyskowej. Podjęto się zatem zbadania ekspresji i lokalizacji swoistego receptora dla glikokortykosteroidów GR/NR3C1 w tkankach łożyska i macicy podczas ciąży u suk. Stwierdzono, że podczas luteolizy zaznacza się znaczny wzrost ekspresji tego receptora, z największym nasileniem w łożysku (zwłaszcza w jego części płodowej) w porównaniu z *endometrium* i *myometrium*. O ile powyższe zmiany zaobserwowano podczas porodów spontanicznych, to nie stwierdzono ich w sytuacji porodów wywołanych aglepristonem (Alizine, 10 mg/kg m.c., dwukrotnie w odstępie 24 godzin). Zatem stymulacja kortyzolem nie jest wymaganym ogniwem kaskady sygnałowej prowadzącej do syntezy PGF2 $\alpha$  i rozpoczęcia porodu (23).

## Kot

Wykazano eksperymentalnie, że w pierwszej części fazy lutealnej kocie ciążka żółte są niewrażliwe lub mało wrażliwe na iniekcje PGF2 $\alpha$ . Natomiast w drugiej części *dioestrus* egzogenna prostaglandyna powoduje luteolizę, spadek stężenia progesteronu i poronienie (24). W badaniach metodami biologii molekularnej wykazano zdolność komórek łożyska do syntezy PGF2 $\alpha$  pod koniec ciąży. Jednocześnie w tym czasie stwierdzono istotny wzrost stężenia metabolitu prostaglandyny (PGFM) we krwi kotek (25). Podwyższoną zawartość PGFM wykazano także w ostatniej części ciąży w kale kota domowego oraz kilku gatunków nieudomowionych kotowatych (kot pustylny, kot bengalski, ryś, ocelot, karakal, lampart chiński, tygrys sumatrzański, czarna pantera, jaguar, lew), co mogłoby być pomocne w diagnostyce ciąży u tych gatunków (26, 27).

## Leptyna

### Pies

Podobnie jak prostaglandyny leptyna należy do hormonów tkankowych. Wydzielana jest głównie przez komórki tkanki tłuszczowej białej. Odpowiada między innymi za odżywianie (jej wysokie stężenie powoduje uczucie sytości, natomiast spadek stężenia wywołuje łaknienie). Ponadto jest uważana za substancję informującą o stopniu rozwoju młodego organizmu, sygnalizuje jego gotowość do dojrzewania płciowego (28). Wykazano obecność leptyny w psich ciążkach żółtych, sugerując jej rolę w steroidogenezie (29). Także w macicy i łożysku psów wykazano ekspresję leptyny i jej receptora w różnych komórkach, co wskazuje na ich rolę para/autokrynową. System leptyny może stanowić jedną ze ścieżek komunikacji maczyno-łożyskowej, a także uczestniczyć w procesach implantacji, utrzymania ciąży i regulacji okołoporodowej (30). Produkcję leptyny przez łożysko (syncytiotrofoblast) wykazano także u naczelnych (31, 32), szczurów (33), świń (34).

### Kot

U kotów za pomocą metod immunohistochemicznych wykazano obecność w komórkach łożyska zarówno leptyny, jak i jej receptorów. Hormon ten wydaje się między innymi wpływać na rozwijające się płody (35).

## Podsumowanie

Endokrynowa czynność łożyska wskazuje na jego rolę w ciąży także jako gruczołu wydzielania wewnątrznegowego. Struktura ta ukazuje się zatem nie tylko jako przekaźnik pośredniczący w dwustronnym transporcie cząsteczek i substancji między matką i płodem, ale także jako aktywny narząd, którego produkty uczestniczą w utrzymaniu ciąży, rozwoju płodów i porodzie. Z kolei zmiany patologiczne łożyska mogą prowadzić do strat zarodkowo-płodowych lub zaburzeń w przebiegu ciąży i porodu, co należy uwzględnić w postępowaniu diagnostycznym, leczniczym i prewencyjnym.

## Piśmiennictwo

1. <http://www.biol.uw.edu.pl/zfz/wp-content/uploads/2016/01/w.-3-ND-Regulacja-immuno-neuroendokrynowa-w-ci%C4%85%C5%BCy.pdf>.
2. Nishiyama T., Tsumagari S., Ito M., Kimura J., Watanabe G., Taya K., Takeishi M.: Immunohistochemical study of steroidogenic enzymes in the ovary and placenta during pregnancy in the dog. *Anat. Histol. Embryol.* 1999, **28**, 125–129.
3. Tsutsui T., Suzuki Y., Toyonaga M., Oba H., Mizutani T., Hori T.: The role of the ovary for the maintenance of pregnancy in cats. *Reprod. Domest. Anim.* 2009, **44**, Suppl. 2, 120–124.
4. Siemieniuch M.J., Jursza E., Szostek A.Z., Skarżynski D.J., Boos A., Kowalewski M.P.: Steroidogenic capacity of the placenta as a supplemental source of progesterone during pregnancy in domestic cats. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012, **10**, doi: 10.1186/1477-7827-10-89.
5. Hoffmann B., Höveler R., Nohr B., Hasan S.H.: Investigations on hormonal changes around parturition in the dog and the occurrence of pregnancy-specific non conjugated oestrogens. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1994, **102**, 185–189.
6. Baan M., Taverne M.A., de Gier J., Kooistra H.S., Kindahl H., Dieleman S.J., Okkens A.C.: Hormonal changes in spontaneous and aglépristone-induced parturition in dogs. *Theriogenology* 2008, **69**, 399–407.
7. Luz M.R., Bertan C.M., Binelli M., Lopes M.D.: Plasma concentrations of 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F2- $\alpha$  (PGFM), progesterone and estradiol in pregnant and nonpregnant diestrus cross-bred bitches. *Theriogenology* 2006, **66**, 1436–1441.
8. Braun B.C., Zschockelt L., Dehnhard M., Jewgenow K.: Progesterone and estradiol in cat placenta – biosynthesis and tissue concentration. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2012, **132**, 295–302.
9. Tsutsui T., Stewart D.R.: Determination of the source of relaxin immunoreactivity during pregnancy in the dog. *J. Vet. Med. Sci.* 1991, **53**, 1025–1029.
10. Nowak M., Boos A., Kowalewski M.P.: Luteal and hypophyseal expression of the canine relaxin (RLN) system during pregnancy: Implications for luteotropic function. *PLoS One* 2018, **24**, doi: 10.1371/journal.pone.0191374.
11. Nowak M., Gram A., Boos A., Aslan S., Ay S.S., Önyay F., Kowalewski M.P.: Functional implications of the utero-placental relaxin (RLN) system in the dog throughout pregnancy and at term. *Reproduction* 2017, **154**, 415–431.
12. Buff S., Fontbonne A., Lopez P., Rauer M., Crevat D.: Circulating relaxin concentrations in pregnant and nonpregnant bitches: evaluation of a new enzymeimmunoassay for determination of pregnancy. *J. Reprod. Fertil Suppl.* 2001, **57**, 187–191.
13. Bauman J.E., Clifford D.L., Asa C.S.: Pregnancy diagnosis in wild canids using a commercially available relaxin assay. *Zoo Biol.* 2008, **27**, 406–413.
14. Carlson D.A., Gese E.M.: Relaxin as a diagnostic tool for pregnancy in the coyote (*Canis latrans*). *Anim. Reprod. Sci.* 2007, **101**, 304–312.
15. Günzel-Apel A.R., Beste N., Nottorf S., Eschricht F., Hoppen H.O., Dieleman S., Einspanier A.: Comparison of selected endocrine parameters during luteal phase and pregnancy in German Shepherd dogs and Beagles. *Reprod. Domest. Anim.* 2009, **44**, Suppl. 2, 59–64.
16. Günzel-Apel A.R., Zabel S., Bunck C.F., Dieleman S.J., Einspanier A., Hoppen H.O.: Concentrations of progesterone, prolactin and relaxin in the luteal phase and pregnancy in normal and short-cycling German Shepherd dogs. *Theriogenology* 2006, **66**, 1431–1435.
17. Addiego L.A., Tsutsui T., Stewart D.R., Stabenfeldt G.H.: Determination of the source of immunoreactive relaxin in the cat. *Biol. Reprod.* 1987, **37**, 1165–1169.
18. Stewart D.R., Stabenfeldt G.H.: Relaxin activity in the pregnant cat. *Biol. Reprod.* 1985, **32**, 848–854.

19. DiGangi B.A., Griffin B., Levy J.K., Smith B.F., Baker H.J.: Use of a commercially available relaxin test for detection of pregnancy in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2010, **237**, 1267–1274.
20. de Haas van Dorsser F.J., Lasano S., Steinetz B.G.: Pregnancy diagnosis in cats using a rapid, bench-top kit to detect relaxin in urine. *Reprod. Domest. Anim.* 2007, **42**, 111–112.
21. de Haas van Dorsser F.J., Swanson W.F., Lasano S., Steinetz B.G.: Development, validation, and application of a urinary relaxin radioimmunoassay for the diagnosis and monitoring of pregnancy in felids. *Biol. Reprod.* 2006, **74**, 1090–1095.
22. Kowalewski M.P., Beceriklisoy H.B., Pfarrer C., Aslan S., Kindahl H., Küçükaslan I., Hoffmann B.: Canine placenta: a source of prepartal prostaglandins during normal and antiprogesterin-induced parturition. *Reproduction* 2010, **139**, 655–664.
23. Gram A., Trachsel A., Boos A., Kowalewski M.P.: Elevated utero/placental GR/NR3C1 is not required for the induction of parturition in the dog. *Reproduction* 2016, **152**, 303–311.
24. Versteegen J.P., Onclin K., Silva L.D., Donnay I.: Abortion induction in the cat using prostaglandin F<sub>2</sub> alpha and a new anti-prolactin agent, cabergoline. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1993, **47**, 411–417.
25. Siemieniuch M.J., Jursza E., Szóstek A.Z., Zschockelt L., Boos A., Kowalewski M.P.: Placental origin of prostaglandin F<sub>2</sub>α in the domestic cat. *Mediators Inflamm.* 2014, doi: 10.1155/2014/364787.
26. Dehnhard M., Finkenwirth C., Crosier A., Penfold L., Ringle J., Jewgenow K.: Using PGFM (13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F<sub>2</sub>α) as a non-invasive pregnancy marker for felids. *Theriogenology* 2012, **77**, 1088–1099.
27. Dehnhard M., Kumar V., Chandrasekhar M., Jewgenow K., Uma-pathy G.: Non-invasive pregnancy diagnosis in big cats using the PGFM (13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub>α) assay. *PLoS One.* 2015, **10**, doi: 10.1371/journal.pone.0143958.
28. Max A.: Dojrzwianie płciowe ssaków i kisseptyna. *Życie Wet.* 2017, **92**, 349–352.
29. Balogh O., Kowalewski M.P., Reichler I.M.: Leptin and leptin receptor gene expression in the canine corpus luteum during diestrus, pregnancy and after aglepristone-induced luteolysis. *Reprod. Domest. Anim.* 2012, **47**, Suppl. 6, 40–42.
30. Balogh O., Staub.L.P., Gram A., Boos A., Kowalewski M.P., Reichler I.M.: Leptin in the canine uterus and placenta: possible implications in pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015, **13**, doi: 10.1186/s12958-015-0003-6.
31. Henson M.C., Swan K.F., O'Neil J.S.: Expression of placental leptin and leptin receptor transcripts in early pregnancy and at term. *Obstet. Gynecol.* 1998, **92**, 1020–1028.
32. O'Neil J.S., Green A.E., Edwards D.E., Swan K.F., Gimpel T., Castracane V.D., Henson M.C.: Regulation of leptin and leptin receptor in baboon pregnancy: effects of advancing gestation and fetectomy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, **86**, 2518–2524.
33. García M.D., Casanueva F.F., Diéguez C., Señaris R.M.: Gestational profile of leptin messenger ribonucleic acid (mRNA) content in the placenta and adipose tissue in the rat, and regulation of the mRNA levels of the leptin receptor subtypes in the hypothalamus during pregnancy and lactation. *Biol. Reprod.* 2000, **62**, 698–703.
34. Kerr A., Kridli R.T., Khalaj K., Wessels J.M., Hahnel A., Tayade C.: Expression of leptin and its long form receptor at the porcine maternal-fetal interface: contrasting healthy and arresting conceptus attachment sites during early and mid-pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2014, **12**, doi: 10.1186/1477-7827-12-91.
35. Dall'Aglio C., Polisca A., Boiti C., Ceccarelli P.: Immunolocalization of leptin and its receptor in the placenta of cats. *Acta Histochem.* 2012, **114**, 719–722.