

Biopsja i ocena histopatologiczna endometrium w diagnostyce niepłodności u klaczy

Katarzyna Paździor-Czapula¹, Iwona Otrocka-Domagała¹, Michał Gesek¹, Mateusz Mikiewicz¹, Anna Rapacz-Leonard²

z Katedry Anatomii Patologicznej¹ oraz Katedry Rozrodu Zwierząt z Kliniką² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie

Niepłodność należy do istotnych oraz często spotykanych problemów zdrowotnych u klaczy (1). U zwierząt utrzymywanych wyłącznie w celu rozrodu niepłodność powoduje znaczące straty ekonomiczne (2). Nie we wszystkich przypadkach przyczynę niepłodności udaje się ustalić na podstawie wyników transrektalnego badania palpacyjnego (z ultrasonografią), wziernikowania oraz badania bakteriologicznego (1). Badanie histopatologiczne błony śluzowej macicy, nazywane skróto biopsją macicy, jest bardzo istotną metodą oceny stanu zdrowia tego narządu (3). Badanie to pełni funkcję pomocniczą oraz uzupełniającą w diagnozowaniu stanów zapalnych błony śluzowej macicy oraz pozwala ocenić obecność i stopień zaawansowania zmian zwyrodnieniowych, mających bardzo duży wpływ na rokowanie sukcesu reprodukcyjnego (1, 4). Biopsja macicy wraz z badaniem cytologicznym,

bakteriologicznym oraz klinicznym badaniem fizykalnym daje podstawę do opracowania metody leczenia oraz pozwala określić rokowanie płodności klaczy, przyczyniając się tym samym do ograniczenia ewentualnych strat ekonomicznych (5).

Wskazania, przeciwwskazania i wpływ na płodność

Wskazaniem do badania histopatologicznego endometrium są zmiany stwierdzone w badaniu ultrasonograficznym lub transrektalnym badaniu palpacyjnym. Badanie to należy również wykonać u klaczy niepłodnych oraz tych, których nie udało się zapłodnić trzy razy z rzędu w jednym sezonie rozrodczym. Wskazaniem do badania jest też poronienie (należy odczekać ok. 6 tygodni) oraz zaburzenia cyklu (behawioralny anestrus pomimo sezonu rozrodczego). Badaniu temu poddaje się także

The endometrial biopsy and histopathological evaluation as diagnostic procedure for mare infertility

Paździor-Czapula K.¹, Otrocka-Domagała I.¹, Gesek M.¹, Mikiewicz M.¹, Rapacz-Leonard A.², Department of Pathological Anatomy¹, Department of Animals Reproduction with Clinic², Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn

This review aims at the presentation of implementing the biopsy and histopathological evaluation of endometrium as a routine procedure for mares' infertility diagnosis. Reproductive failure is a substantial health problem in mares and to cure it properly the correct diagnosis is required. Endometrial biopsy is however, seldom included as a diagnostic procedure. When the long term reproductive failure occurs, the analysis of a case on the histopathological level is beneficial. It enables to determine the character and severity of lesions, to establish the presence of infectious agent(s) and it is irreplaceable for endometriosis evaluation. Histopathological grading of the mare endometrium according to Kenney-Doig, enables to predict the possibility of carrying foal until term. Endometrial biopsy sampling is a simple and safe method and the proper histopathological examination can be of a great benefit for the correct recognition of infertility and the choice of subsequent treatment in the mare.

Keywords: endometrial biopsy, endometritis, endometrosis, Kenney-Doig grading scheme.

kłaczę przed planowaną chirurgiczną korekcją krocza (problemom w obrębie sromu i pochwy często towarzyszą zmiany endometrium) oraz bioczynnie zarodków w programach embriotransferu. Rzadko badanie histopatologiczne endometrium wykonuje się jako część rutynowego badania układu rozrodczego u kłaczki. Jedy- nym znanym przeciwskazaniem jest ciąża, dlatego biopsję endometrium powinno poprzedzić jej wykluczenie (3, 6).

Biopsja endometrium jest możliwa do przeprowadzenia w każdej fazie cyklu rujo- wego, jednak najbardziej miarodajny obraz daje wycinek pobrany około połowy fazy diestrus (ryc. 1; 3, 7). Endometrium kłaczki wykazuje sezonową zmienność morfologiczną, polegającą m.in. na fizjologicznym zaniku gruczołów endometrialnych w fa- zie anestrus (5). Biopsja endometrium jest mało inwazyjną metodą diagnostyczną, a jej częstym następstwem jest niewielkie krwawienie z okolicy pobrania bioptatu (3). Badanie to nie wpływa negatywnie na płodność kłaczki rozumianą jako zdolność do poczęcia i donoszenia ciąży, jednak nie pozostaje bez wpływu na cykl rujowy. Wy- kazano, że przeprowadzenie biopsji endo- metrium w fazie diestrus powoduje uwol- nienie prostaglandyn i luteolizę. Wykaza- no ponadto, że przeprowadzenie biopsji endometrium 4. i 8. dnia cyklu skutkuje skróceniem interwału międzyowulacyj- nego, 16. i 20. dnia cyklu – wydłużeniem interwału międzyowulacyjnego, natomiast 0 i 12 dnia – nie wpływa na interwał mię- dzyowulacyjny (3).

Pobieranie i przesyłanie materiału biopsyjnego

Biopsja macicy jest badaniem bezpiecznym oraz łatwym do przeprowadzenia (8). Po- branie materiału biopsyjnego poprzedza

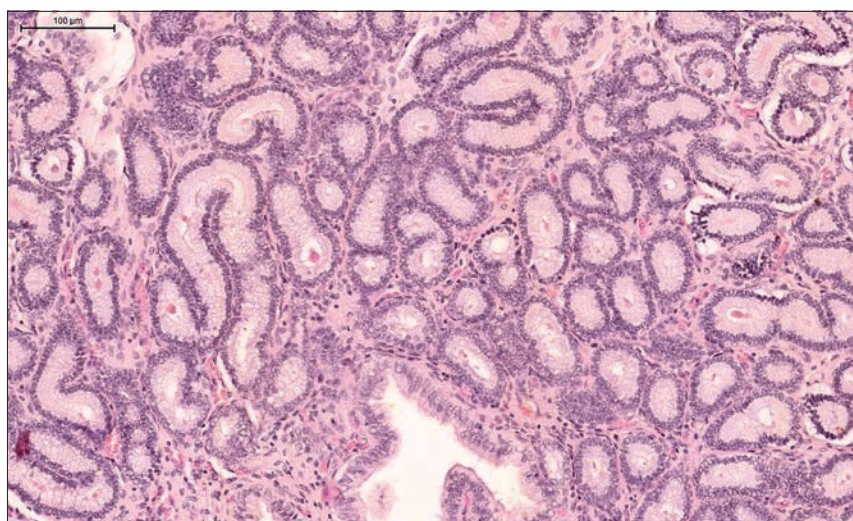
odpowiednie przygotowanie zwierzęcia. Klacz należy wywiązać w ten sposób, by zapewnić bezpieczeństwo zarówno zwie- rzęciu, jak i osobie wykonującej biopsję. Po zabandażowaniu i wywinieciu ogona przeprowadza się transrektalne badanie palpacyjne układu rozrodczego, nastę- pnie okolicę zewnętrznych narządów płcio- wych należy trzykrotnie umyć i opłukać bieżącą wodą. Następnie, używając ste- rylnej rękawicy, pobiera się wymaz endo- metrium do badania bakteriologicznego. Po pobraniu wymazu do macicy wprowa- dza się pod kontrolą palca wskazującego kleszcze biopsyjne, pamiętając o tym, by szczęki końcówki kleszczy były zamknię- te. Następnie osoba wykonująca biopsję wyciąga rękę z dróg rodnych i wkłada ją do odbytnicy celem nakierowania klesz- czy biopsyjnych w pożądane miejsce (3). Miejscem pobrania bioptatu jest przejście trzonu w róg macicy (zarówno obszar do- grzbietowy, jak i dobrzuszy jest odpo- wiedni) lub obszar zmieniony, stwierdzo- ny we wcześniejszym badaniu ultrasono- graficznym (wówczas należy pobrać kilka fragmentów; 3, 7). Szczęki końcówki klesz- czy, skierowane równoległe do fałdu endo- metrium, otwiera się i pobiera bioptat (3). Wielkość bioptatu powinna być wystarczają- cą, by otrzymane podczas badania histo- patologicznego skrawki tkankowe mia- ły łączną długość co najmniej 2 cm (jeśli łączna długość skrawków jest mniejsza niż 1 cm, są one niediagnostyczne; 6). Kleszcze wyciąga się, a materiał biopsyjny natych- miast umieszcza się w płynie utrwalającym za pomocą sterylnej igły. Jako płynu utrwa- lającego zwykle używa się 10% zbuforowa- nej formaliny. Pobrany fragment endome- trium stanowi 0,1–0,2% całej powierzchni endometrium (3, 8). Nasilenie zmian pa- tologicznych może być różne w różnych obszarach endometrium (5). Wykazano

jednak, że w większości przypadków oce- na pojedynczego bioptatu, jeśli jest połą- czona z dokładnym badaniem klinicznym, powinna dostarczyć odpowiednich infor- macji co do stanu zdrowia endometrium (8). Niektórzy autorzy polecają jednak po- branie kilku bioptatów wtedy, gdy istnieje taka możliwość (6).

W badaniu histopatologicznym biopt- atu endometrium szczególną rolę odgry- wa nie tylko doświadczenie patologa, ale również, kluczowa w określaniu rokowa- nia, komunikacja pomiędzy klinicystą i pa- tologiem (2). Przesyłając materiał biopsyj- ny do laboratorium histopatologicznego, należy przygotować pismo przewodnie za- wierające istotne dla patologa informacje, takie jak wiek kłaczki, fazę cyklu, historię płodności (liczbę ciąż) oraz opis proble- mów z płodnością. Należy również dołą- czyć wyniki poprzedzającego biopsję ba- dania klinicznego (transrektalnego badania palpacyjnego, badania ultrasonograficz- nego; 3). Informacje te są istotne, ponieważ wykazano, że wraz z wiekiem kłaczki spa- da płodność, a wzrasta zwłóknienie endo- metrium (1, 2, 9). U kłaczki z niepłodno- ścią trwającą powyżej 3 lat stwierdzono zanik endometrium. U tych kłaczek nasile- nie zwłóknienia okołogruczowego wzra- sta wraz z liczbą lat niepłodności (3). Kła- cze w okresie wczesnowiosennym lub je- sienią (a więc na początku i pod koniec sezonu rozrodczego) mogą wykazywać zanik endometrium pomimo objawów ru- jowych, jednak nie powinna być ona trak- towana jako zmiana patologiczna (3). Dla- tego bardzo istotne jest podanie w piśmie przewodnim daty pobrania bioptatu en- dometrium, szczególnie wtedy, gdy ma- teriał nie został wysłany do laboratorium od razu po pobraniu.

Badanie histopatologiczne

Po dostarczeniu do laboratorium histo- patologicznego, bioptat endometrium zostaje poddany rutynowej obróbce techniką pa- rafinową i barwiony hematoksylina oraz eozyną. Niekiedy stosuje się również bar- wienia dodatkowe, głównie różnicujące włókna kolagenowe, jak trójchromatycz- ne barwienie metodą Mallory'ego. Bar- wienie to jest szczególnie przydatne wte- dy, gdy endometrium jest objęte znacznym obrzękiem (faza estrus; 3). W preparacie histopatologicznym do oceny dostępny jest nabłonek powierzchniowy, mający bezpo- średni kontakt ze światłem macicy, gruczol- ły maciczne, tkanka łączna podścielisko- wa powierzchniowa (*stratum compactum*), środkowa i głęboka (*stratum spongiosum*) oraz naczyńa krwionośne i limfatyczne (10). Czasami w bioptacie można też za- obserwowwać wewnętrzną część miome- trium (6, 10).



Ryc. 1. Endometrium kłaczki pobrane w fazie diestrus. Widoczny nabłonek powierzchniowy walcowaty oraz gęsto upakowane gruczolły maciczne o krętym przebiegu. Pomiędzy gruczolami macicznymi obecna niewielka ilość tkanki podścieliskowej z obecnością nielicznych limfocytów. Barwienie hematoksylina-eozyna

Morfologia nabłonka powierzchniowego jest zależna od fazy cyklu. W fazie owulacyjnej nabłonek ten jest walcowaty oraz wykazuje aktywność wydzielniczą, natomiast w anestrus jest sześcienny (5). W obrębie nabłonka powierzchniowego stwierdza się często artefakty spowodowane opóźnionym utrwaleniem próbki, jak tworzenie się pęcherzyków, często też obserwuje się utratę nabłonka (3). Podczas fazy estrus obserwuje się rozsiałą hiperplazję gruczołów macicznych oraz obrzęk tkanki łącznej podścieliskowej z obecnością komórek zapalnych (7). Powierzchnowa tkanka łączna podścieliskowa jest dobrze unaczyniona, a podczas zakażenia jest miejscem nacieku komórek zapalnych. Środkowa i głęboka tkanka podścieliskowa jest często miejscem, gdzie stwierdza się zmiany zwłóknieniowe wokół gruczołów macicznych (10).

Podstawowymi zmianami patologicznymi endometrium brany pod uwagę w systemach klasyfikujących są włóknienie oraz zapalenie. W 1978 r. Kenney (6) opracował trzystopniową klasyfikację biopłatów endometrium, opartą przede wszystkim na podstawie stopnia nasilenia tych dwóch zmian. W 1981 r. Doig (1) zaproponował czterostopniową klasyfikację, opartą wyłącznie na podstawie stopnia nasilenia włóknienia endometrium. Obecnie za międzynarodowy standard uważana jest czterostopniowa klasyfikacja opublikowana w 1986 r. (3) przez obu wymienionych badaczy, nazywana klasyfikacją Kenney-Doig, szczegółowo przedstawiona w dalszym akapicie.

Włóknienie

Fizjologicznie włókna kolagenowe nie otaczają gałęzi gruczołów macicznych i nie są widoczne w preparacie mikroskopowym (3, 6). Włóknienie endometrium jest wynikiem nawracających stanów zapalnych i postępuje nawet po ustaniu stanu

zapalnego (9). Z tego powodu rzadko stwierdza się, by włóknieniu towarzyszyły nacieki komórek zapalnych. Włóknienie może również wynikać z torbielowatego poszerzenia gruczołów macicznych, wywołanego zmniejszoną aktywnością miometrium (6). Oceny włóknienia dokonuje się zarówno pod nabłonkiem powierzchniowym, jak i w okolicy okołogruczołowej (3). Proliferacja tkanki łącznej może mieć miejsce wokół pojedynczych gałęzi jednego lub kilku przylegających do siebie gruczołów, może również dotyczyć wielu gałęzi jednego gruczołu (6). Gdy włóknienie dotyczy gałęzi jednego gruczołu, jego wynikiem jest powstawanie tzw. fibrotycznych gniazd gruczołowych (fibrotic nesting), czyli skupisk gruczołów endometrialnych otoczonych mankiem tkanki łącznej (ryc. 2, 3; 3, 5). W fazie anestrus oraz w fazie przejściowej, poprzedzającej fazę owulacyjną, w obrębie endometrium stwierdza się dość liczne tzw. niefibrotyczne gniazda gruczołowe (nonfibrotic nesting), będące pozawijanymi głębokimi gałęziami gruczołów macicznych. Struktury te rzadko są widoczne podczas fazy owulacyjnej. W odróżnieniu od fibrotycznych gniazd gruczołowych, wskazujących na degeneracyjne zmiany endometrium, niefibrotyczne gniazda gruczołowe nie są otoczone wyraźnym mankiem fibroblastów. Jednakże z uwagi na to, że tkanka podścieliskowa endometrium w fazie anestrus oraz fazy przejściowej nie jest objęta obrzękiem, w fazach tych rozróżnienie obu rodzajów gniazd gruczołowych bywa trudne i może prowadzić do błędnego rozpoznania (5). Podczas włóknienia endometrium zwiększona ilość tkanki łącznej prowadzi do zwężenia ujścia gruczołów macicznych, przyczyniając się do torbielowatego poszerzenia ich światła (7). Nasilenie włóknienia endometrium ocenia się jako:

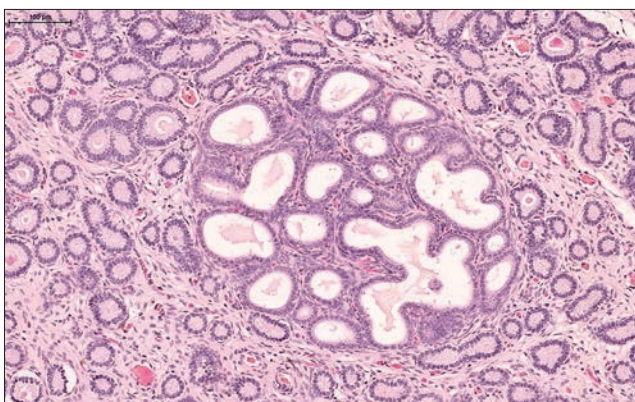
- niewielkie (1–3 warstwy fibrocytów wokół gruczołów),

- umiarkowane (4–10 warstw fibrocytów wokół gruczołów),
- znaczne (powyżej 11 warstw fibrocytów wokół gruczołów; 3).

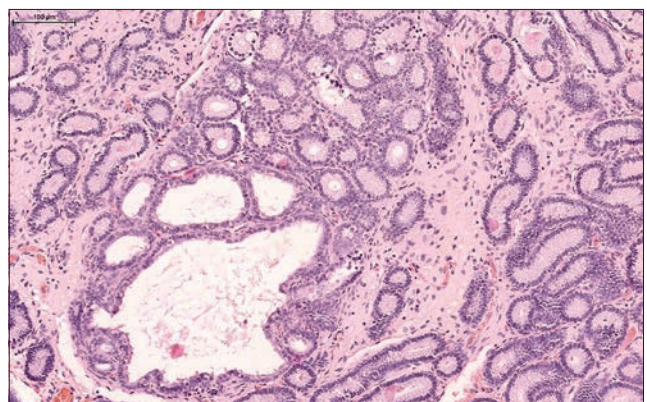
Włóknienie endometrium (zarówno okołogruczołowe, jak i występujące w innych lokalizacjach), wraz ze zmianami patologicznymi dotyczącymi gruczołów występujących w obrębie ognisk włóknienia, jest wyznacznikiem endometrozy (endometrosis; 1, 12). Endometroza, nazywana wcześniej „przewlekłym zwyrodniającym zapaleniem endometrium”, jest chorobą wieloczynnikową, uważaną za jedną z najważniejszych przyczyn niepłodności u klaczy, szczególnie w starszym wieku (11). Wyróżnia się endometrozę aktywną oraz nieaktywną. W aktywnej endometrozie (active endometrosis) gruczoły są otoczone beładnie ułożonymi, pobudzonymi metabolicznie okołogruczołowymi komórkami podścieliskowymi o dużych, jasnych jądrach komórkowych i bladej cytoplazmie, natomiast w nieaktywnej endometrozie (inactive endometrosis) gruczoły otaczają spoczynkowe komórki podścieliskowe kształtu wrzecionowatego, o ciemno barwiących się jądrach komórkowych, ułożone równolegle. Endometrozę dzieli się również na destruktywną, jeśli dochodzi do destrukcji nabłonka gruczołowego, oraz niestruktywną, jeśli komórki gruczołowe pozostają niezmienione (13).

Zapalenie

Stan zapalny endometrium z uwagi na czas trwania może mieć charakter ostry lub przewlekły, a ze względu na intensywność nacieku zapalnego opisuje się je jako łagodne, umiarkowane lub znaczne. Nacieki zapalne mogą być usytuowane głównie okołonaczyniowo lub śródmiąższowo, ponadto może występować wielogniskowo lub w formie rozlanej (3). Okołogruczołowy nacieki zapalny może lokalizować się na poziomie przewodów



Ryc. 2. Endometrium klaczy wykazujące umiarkowanego stopnia włóknienie (IIB według klasyfikacji Kenney-Doig). Widoczne fibrotyczne gniazdo gruczołowe z nierównomiernym poszerzeniem światła gruczołów macicznych. Barwienie hematoksylina-eożyna



Ryc. 3. Endometrium klaczy wykazujące umiarkowanego stopnia włóknienie (IIB według klasyfikacji Kenney-Doig). W obrębie fibrotycznego gniazda gruczołowego widoczne cystowate poszerzenie światła gruczołowego. Barwienie hematoksylina-eożyna

gruczołowych, środkowej lub głębokiej części gruczołów (6). W nacieku zapalnym stwierdza się neutrofile, limfocyty, makrofagi oraz inne komórki zapalne w różnych proporcjach, w zależności od charakteru zapalenia i czynnika etiologicznego. Neutrofile fizjologicznie stwierdza się podczas fazy estrus na powierzchni endometrium oraz w naczyniach krwionośnych (3). Podczas fazy estrus dochodzi do marginacji neutrofilii, czyli do ich skupiania się przy ścianie żyłek, zwróconej w kierunku światła endometrium, zjawisko to stwierdza się również podczas zapalenia (6). Poza tym stwierdzenie neutrofilii w obrębie endometrium jest za każdym razem traktowane jako objaw ostrego zapalenia. Nieliczne rozproszone limfocyty, występujące fizjologicznie w obrębie endometrium, w zapaleniu przewlekłym tworzą skupiska (ryc. 4) lub formy rozlane. Makrofagi, wraz z limfocytami, wskazują na przewlekłą fazę zapalenia. Syderocyty, czyli makrofagi obciążone hemosyderyną, wskazują natomiast na wcześniejsze wynaczenie krwi i mogą być spotykane nawet do 7 miesięcy po porodzie. Plazmocyty nie występują fizjologicznie w endometrium, a wraz z limfocytami i makrofa-gami są wskaźnikiem przewlekłej postaci zapalenia. Eozynofile natomiast wskazują na niektóre specyficzne rodzaje zapalenia, głównie tła grzybiczego oraz towarzyszącego obecności powietrza w pochwie (3). W diagnozowaniu zakażeń macicy główną rolę odgrywa badanie bakteriologiczne oraz cytologiczne (wymazu pobranego z jamy macicy lub biopsatu macicy; 4). W badaniu histopatologicznym możliwe jest uwidocznienie czynników bakteriologicznych lub grzybiczych, jednak z reguły wymaga to zastosowania odpowiednich barwień dodatkowych, np. barwienie May-Grünwald-Giemsa (uwidocznienie

bakterii), barwienie Grama (zróznicowanie bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych), barwienie PAS lub Grocott'a (wybarwienie organizmów grzybiczych).

Inne zmiany

W obrębie endometrium klaczy stwierdza się ponadto torbielowato poszerzone gruczoły maciczne, zanik gruczołów, poszerzone naczynia limfatyczne oraz inne zmiany patologiczne (3). Do torbielowatego poszerzenia gruczołów macicznych prowadzić może włóknienie okołogruczołowe (ryc. 3) oraz prawdopodobnie hipertrofia nabłonka gruczołowego lub spadek napięcia miometrium. Zanik endometrium klaczy spotykany w późnym sezonie rozrodczym wynika najczęściej z niedoczynności jajników, ogniskowy zanik stwierdza się zaś u starszych klaczy wieloródek (6). Rzadko stwierdza się całkowity brak gruczołów macicznych, spowodowany zaburzeniem rozwojowym polegającym na braku wykształcenia w komórkach macicy swoistych receptorów dla hormonów jajnikowych (12, 14). Poszerzenie naczyń limfatycznych jest wynikiem włóknienia podścieliska endometrium, które zaburza krążenie limfy. W obrazie histopatologicznym dają one obraz charakterystycznych „jezierek” (lymphatic lacunae). Poszerzone naczynia limfatyczne mogą niekiedy osiągać duże rozmiary, stając się cystami endometrialnymi, mogącymi negatywnie wpływać na ruchliwość zarodka (11).

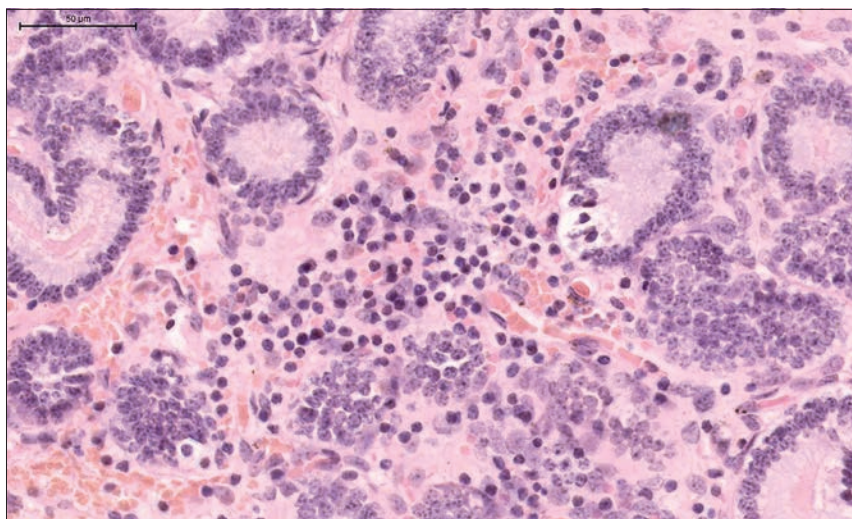
Klasyfikacja Kenney-Doig

W klasyfikacji tej bierze się pod uwagę przede wszystkim obecność zapalenia i włóknienia, ale również zanik endometrium oraz poszerzenie naczyń

limfatycznych (11). Ponadto niepłodność trwająca dłużej niż 2 lata podnosi kategorię endometrium, ustaloną na podstawie obrazu histopatologicznego (3). Włóknienie jako zmiana nieodwracalna jest główną zmianą kwalifikującą do odpowiedniej kategorii (11). Zapalenie endometrium może ustąpić po odpowiednim leczeniu, zatem po terapii kategoria może ulec zmianie (6). Włóknienie i zapalenie są cechami o charakterze addytywnym, tj. stwierdzenie zarówno włóknienia, jak i zapalenia o natężeniu kwalifikującym do kategorii IIA daje podstawę do zakwalifikowania endometrium do kategorii IIB. Im więcej zmian patologicznych współistnieje, tym gorsze jest rokowanie odnośnie do dalszej płodności klaczy (11). Kategoria I obejmuje endometrium prawidłowe, bez zmian patologicznych lub z niewielkiego stopnia zapaleniem albo włóknieniem. Kategoria IIA obejmuje endometrium, w którym stwierdza się niewielkie do umiarkowanego stopnia zapalenie, z nielicznymi poszerzonymi naczyniami limfatycznymi. Niewielkiego stopnia włóknienie dotyczy pojedynczych gałęzi gruczołów macicznych, a w 4 sąsiadujących polach widzenia brak jest fibrotycznych gniazd gruczołowych. Zmiany dotyczą 10–35% gruczołów macicznych. Do tej kategorii zaliczyć należy również endometrium dotknięte częściowym zanikiem pomimo późnego sezonu rozrodczego. Kategoria IIB obejmuje endometrium z umiarkowanego stopnia zapaleniem, z licznymi poszerzonymi naczyniami limfatycznymi. Włóknienie jest bardziej nasilone niż w kategorii IIA, stwierdza się 2–4 fibrotyczne gniazda gruczołowe w 4 sąsiadujących polach widzenia. Zmiany dotyczą 35–60% gruczołów macicznych. Kategoria III obejmuje endometrium wykazujące masywne zapalenie oraz znacznie poszerzone naczynia limfatyczne. Włóknienie jest również masywne, w 4 sąsiadujących polach widzenia stwierdza się 5 i więcej fibrotycznych gniazd gruczołowych. Zmiany dotyczą powyżej 60% gruczołów macicznych (3, 11). W zależności od stwierdzonej kategorii, różne jest rokowanie w zakresie sukcesu reprodukcyjnego klaczy. Prawdopodobieństwo zapłodnienia oraz donoszenia ciąży wynosi 80–90% przy stwierdzeniu kategorii I, 50–80% przy stwierdzeniu kategorii IIA, 10–50% przy stwierdzeniu kategorii IIB, oraz poniżej 10% przy stwierdzeniu kategorii III (3).

Podsumowanie

Biopsja endometrium jest cenną metodą diagnostyczną, pozwalającą nie tylko na ocenę zmian patologicznych obecnych w obrębie błony śluzowej macicy, ale również dającą możliwość prognozowania



Ryc. 4. Endometrium klaczy wykazujące zapalenie niewielkie do umiarkowanego (IIA według klasyfikacji Kenney-Doig). Widoczne skupisko limfocytów, pojedynczych plazmocytów oraz makrofagów, zlokalizowane w sąsiedztwie gruczołów macicznych. Barwienie hematoksylina-eozyna

możliwości donoszenia ciąży przez klacz. Uzyskanie miarodajnego wyniku zależy od prawidłowości pobrania materiału, od współpracy i komunikacji klinicysty oraz patologa weterynaryjnego, doświadczonego w zakresie oceny i klasyfikacji zaobserwowanych zmian endometrium zgodnie z powszechnie stosowaną skalą Kenney-Doig.

Piśmiennictwo

- Doig P.A., McKnight J.D., Miller R.B.: The use of endometrial biopsy in the infertile mare. *Can. Vet. J.* 1981, **22**, 72–76.
- de la Concha-Bermejillo A., Kennedy P.C.: Prognostic value of endometrial biopsy in the mare: a retrospective analysis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1982, **181**, 680–681.
- Snider T.A., Sepoy C., Holyoak G.R.: Equine endometrial biopsy reviewed: Observation, interpretation, and application of histopathologic data. *Theriogenology*. 2011, **75**, 1567–1581.
- Nielsen J.M.: Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*. 2005, **64**, 510–518.
- Lee Gross T., LeBlanc M.M.: Seasonal variation of histomorphologic features of equine endometrium. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1984, **184**, 1379–1382.
- Kenney R.M.: Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1978, **172**, 241–262.
- Ricketts S.W.: Endometrial biopsy as a guide to diagnosis of endometrial pathology in the mare. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1975, **23**, 341–345.
- Waelchli R.O., Winder N.C.: Distribution of histological lesions in the equine endometrium. *Vet. Rec.* 1989, **124**, 271–273.
- Aresu L., Benali S., Giannuzzi D., Mantovani R., Castagnaro M., Falomo M.E.: The role of inflammation and matrix metalloproteinases in equine endometriosis. *J. Vet. Sci.* 2012, **13**, 171–177.
- Schlafer D.H.: Equine endometrial biopsy: enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic techniques? *Theriogenology*. 2007, **68**, 413–422.
- Buczowska J., Kozdrowski R., Nowak M., Raś A., Mrowiec J.: Endometriosis – significance for horse reproduction, pathogenesis, diagnosis, and proposed therapeutic methods. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014, **17**, 547–554.
- Katkiewicz M., Zajac S., Witkowski M.: Ocena mikroskopowa wycinków błony śluzowej macicy klaczy – obraz struktury prawidłowej i chorobowej. *Med. Weter.* 2007, **63**, 463–466.
- Hoffmann C., Ellenberger C., Mattos R.C., Aupperle H., Dhein S., Stief B., Schoon H.A.: The equine endometriosis: new insights into the pathogenesis. *Anim. Reprod. Sci.* 2009, **111**, 261–278.
- Katkiewicz M., Witkowski M., Borowiński M.: Biopsja macicy u klaczy – uszkodzenie struktury mikroskopowej komórek gruczołowych błony śluzowej – opis przypadków. *Życie Wet.* 2016, **91**, 120–122.

Dr Katarzyna Paździor-Czapula,
e-mail: kaskap17@gmail.com