

## Problemy okresu zarodkowego ciąży u klaczy

Adam Okólski

z Katedry Rozrodo i Anatomii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie

Pierwsza faza rozwoju zarodkowego u klaczy przebiega w jajowodzie. Zapłodnienie następuje w bańce jajowodu, a zapłodniona komórka jajowa w ciągu ok. 40 godz. dostaje się do cieśni jajowodu (1). Po 6 dniach około 47% zarodków jest już w macicy. W warunkach fizjologicznych czas transportu zapłodnionej komórki jajowej przez jajowód wynosi od 5 dni 10 godz. do 5 dni 22 godz. i uzależniony jest od wydzielania przez zarodek PGE<sub>2α</sub>, która wpływa na rozluźnienie ujścia macicznego jajowodu (2). U klaczy opisano fenomen zatrzymywania niezapłodnionych komórek jajowych w jajowodach, podczas gdy zapłodnione komórki przedostają się do macicy (3, 4, 5). Przesuwanie się zapłodnionych i zaleganie niezapłodnionych komórek jajowych są elementem rozpoznawania ciąży przez organizm klaczy. Wcześniej, bo już 48 godzin po zapłodnieniu, zarodek wydziela specyficzne białko określane jako wczesny czynnik ciąży (early pregnancy factor – EPF), który może mieć znaczenie przy rozpoznawaniu ciąży, a także wczesnej obumieralności zarodków (6).

Przedstawione powyżej zagadnienia związane z okresem rozwoju zarodkowego w jajowodzie nie mają charakteru aplikacyjnego. Lekarza weterynarii interesują aspekty praktyczne, które mogą wpływać na zaburzenia płodności klaczy. Rola jajowodów nie jest do końca wyjaśniona. Jest oczywiste, że u zdrowej samicy prawidłowo powinny przebiegać takie procesy, jak transport i odżywianie plemników oraz komórki jajowej, zapłodnienie i wreszcie przemieszczanie zarodka. Zmiany w jajowodach niekorzystnie wpływają na te procesy i powodują w efekcie straty zarodków. Zaburzenia jajowodowe, poza torbielami okolicy lejka jajowodu, trudno jednak zdiagnozować rutynowym badaniem klinicznym. Najczęściej stany zapalne jajowodów opisywane były w narządach wyizolowanych po uboju klaczy, a ich bezpośredni związek z jałowością był stosunkowo trudny do wyjaśnienia. Vandeplassche i Henry (7) stwierdzili zapalenie i zrosty lejka jajowodu u 37–40% klaczy, zapalenie bańki jajowodu u 20,8% i jego cieśni u 8,7% klaczy. Jednocześnie sugerują, że czynniki wywołujące *endometritis* mogą być istotną przyczyną zapalenia jajowodu (*salpingitis*), ponieważ

80% przypadków zapalenia cieśni jajowodu stwierdzono u klaczy z zapaleniem błony śluzowej macicy. Fiala i wsp. (8) obustronne zapalenie jajowodów stwierdzili u 43,7% klaczy, a jednostronne u 27% klaczy. W 88% stany zapalne miały charakter przewlekły, w 2,2% ostre i w 9,3% podostre.

Szczególnie często stany zapalne jajowodów mogą być przyczyną niepłodności u starych klaczy (9–26 lat). W praktyce choroby jajowodów, jako przyczyna jałowości, powinny być weryfikowane na końcu, po przeprowadzonym wywiadzie, badaniu rektalnym, ultrasonograficznym, biopsji błony śluzowej macicy, badaniu cytologicznym, bakteriologicznym i histeroskopowym. Istnieje możliwość histeroskopowej przyżyciowej diagnozy okolicy połączenia maciczno-jajowodowego za pomocą endoskopu. W badaniu takim należy szczególnie zwrócić uwagę na ewentualną obecność torbieli, zrostów i zwłóknień wokół brodawki macicznej. Katetyzacja jajowodów od strony brodawki macicznej jest technicznie wyjątkowo trudnym zabiegiem ze względu na specyficzną budowę anatomiczną jajowodu. Średnica jajowodu klaczy bezpośrednio przy brodawce, mierzona na odlewach lateksowych, wynosi 0,51 mm, a grubość brodawki 0,55 mm (4). W wyjątkowych przypadkach można podjąć próbę oceny zaburzeń jajowodu na drodze chirurgicznej. Zabiegi, które w takich przypadkach są wykonywane dotyczą kontroli i prób udrożnienia jajowodu (9). Możliwe jest także postępowanie farmakologiczne (10). Allen i wsp. (10) wykorzystali fakt, że zarodki w trakcie wędrówki przez jajowód wydzielają PGE<sub>2α</sub>. Technika laparoskopową, na powierzchni jajowodów rozprowadzili żel zawierający 0,2 mg PGE<sub>2α</sub>. Z 15 leczonych klaczy, jałowości prawdopodobnie na tle niedrożności jajowodów, przywrócono płodność u 14.

W 6–7 dniu po owulacji, po przedostaniu się do macicy zarodek jest w stadium moruli-blastocysty. Przygotowanie środowiska macicznego na przyjęcie zarodka u klaczy z problemami rozrodo, uprzednio leczonych lub starych, powinno być poprzedzone właściwymi zabiegami terapeutycznymi wykonanymi bezpośrednio po owulacji.

Na oczyszczenie macicy korzystnie wpływają powtarzane iniekcje oksytocyny w ilości 5–20 j.m. *i.v.* podawane

### Early pregnancy problems in mares

Okólski A., Department of Animal Reproduction and Anatomy, University of Agriculture, Krakow

The aim of this paper was to present important physiological and pathological aspects of early pregnancy in mares. Following fertilization only developing embryos are transported to the uterus whereas unfertilized oocytes remained in the oviduct where they subsequently degenerate. Oviduct plays an important role in early events during embryonic development and pathological lesions of the oviduct may be critical for embryo death before 7<sup>th</sup> day of pregnancy. The uterine environment is crucial for the support of equine conceptus development after 6<sup>th</sup> day of pregnancy. Different methods of twin pregnancy management and early embryonic mortality are also discussed.

**Keywords:** pregnancy, twins, early embryonic death.

8–10 godzin po kryciu lub unasienianiu oraz płukanie macicy i podanie antybiotyku (np. 1 g Ceftifur w 20 ml płynu). Płukanie macicy i podanie antybiotyków może być powtórzone w 24. i 48. godzinie po kryciu.

Po przedostaniu się zarodka do macicy interakcja zarodka z błoną śluzową narządu odbywa się w różnych miejscach w czasie jego przemieszczania się z jednego do drugiego rogu i trzonu macicy. Ten proces migracji przebiega szczególnie aktywnie pomiędzy 9 a 16 dniem po zapłodnieniu, póki nie nastąpi umiejscowienie w jednym z rogów macicy. Mechanizm tego zjawiska związany jest z produkcją przez zarodek estrogenu, którego sekrecja rozpoczyna się w 12 dniu po owulacji. Estrogen powoduje zwiększenie napięcia *endometrium* i zmniejszenie światła macicy, dlatego powiększający się zarodek nie jest w stanie dalej przemieszczać się w obrębie macicy. Umiejscowienie zarodka u klaczy następuje w 17 dniu po owulacji (11).

Wymienione zjawiska związane z mobilnością i umiejscowieniem zarodka mają istotne znaczenie praktyczne, szczególnie w przypadku diagnozowania ciąży bliźniaczych. Są także kolejnym etapem rozpoznawania ciąży przez organizm klaczy. Wędrówka zarodka w obrębie macicy ma bezpośredni związek z obniżeniem sekrecji PGE<sub>2α</sub>, co pozwala na utrzymanie ciała żółtego (12). U innych gatunków zwierząt, np. u owcy, wykazano, że zarodek wydziela białko zwane oTP1 (ovine trophoblast protein 1), które odgrywa rolę w rozpoznawaniu ciąży. Substancji takiej nie wyizolowano z zarodków klaczy.

Wędrówka zarodka w obrębie macicy klaczy opisana została po raz pierwszy przez Ginthera (11). Nie stwierdził on specjalnych preferencji do przebywania zarodka w określonych rejonach macicy.

W fazie mobilnej zarodek zmienia położenie z szybkością ok. 3,4 mm/min, zatrzymując się w poszczególnych miejscach na 5–25 min. Zdecydowanie dłużej pozostaje w okolicy torbieni macicznych oraz szyjki. Torbiele maciczne utrudniają wędrowkę i odżywiane zarodka oraz jego identyfikację. Zatem dokładna lokalizacja i opisanie torbieni przed kryciem ułatwiają diagnozę ciąży we wczesnym okresie. Pęcherzyk zarodkowy można zdiagnozować za pomocą usg już ok. 10 dnia po owulacji. Praktycznie pierwsze badania wykonuje się około 14 dnia po owulacji, szczególnie u klaczy z historią ciąży bliźniaczej i owulacji mnogich.

Ciąże bliźniacze, które u klaczy pochodzą z mnogich owulacji, są przyczyną stosunkowo największych strat ekonomicznych w hodowli koni. Spośród 41 klaczy, u których stwierdzono ciążę bliźniaczą, u 38 (93%) zdiagnozowano wcześniej podwójne owulacje. U pozostałych 3 stwierdzono jednakże 2 ciała żółte (13). Częstotliwość występowania mnogich owulacji uzależniona jest od rasy, wieku i stanu klaczy. Najczęściej owulacje mnogie spotyka się u koni pełnej krwi angielskiej. U klaczy czystej krwi arabskiej, a także takich jak quarter horse, mnogie owulacje występują rzadziej. U małych, prymitywnych klaczy, np. koników polskich, takie owulacje występują wyjątkowo. Na podstawie obecności ciałek żółtych w badaniach poubojowych stwierdzono, że spośród 588 klaczy w typie pogrubionym, owulacje mnogie wystąpiły u 100 (17%), w tym podwójne u 92 klaczy, potrójne u 7 i poczwórna u jednej. W 64% owulowały pęcherzyki na obydwu jajnikach, w 20% na lewym i w 16% na prawym jajniku. Stosunkowo częściej owulacje mnogie występowały u klaczy, powyżej 10-letnich (76/100) niż u klaczy młodszych (24/100; 14).

Owulacje mnogie i ciążę bliźniacze częściej występują u klaczy, u których były diagnozowane wcześniej. Komórki jajowe z podwójnych owulacji są w takim samym stopniu zdolne do zapłodnienia, jak z owulacji pojedynczych. Stąd wskaźniki ciążowe u klaczy z owulacjami mnogimi są wysokie (12, 13, 15).

Klaczki powinny być kryte, pomimo obecności pęcherzyków mnogich, a 12–14 dni po owulacji dokładnie badane w kierunku ciąży. Te, u których zostaną stwierdzone ciążę bliźniacze, powinny być traktowane tak, aby doprowadzić do rozwoju pojedynczego płodu. Wykazano jednoznacznie, że zarodki pochodzące z owulacji asynchronicznych, zróżnicowane pod względem wielkości i wieku, częściej spotyka się w jednym rogu. Zarodki jednakowego wieku i wielkości z równą częstotliwością spotyka się w obydwu rogach, jak i w jednym. W przypadku jednoróżnej

fiksacji zarodki często stykają się ze sobą, ograniczając w ten sposób powierzchnię wymiany składników odżywczych pomiędzy błoną śluzową macicy a zarodkiem. Taki kontakt bliźniaczych zarodków osłonkami zewnętrznymi z reguły prowadzi do obumarcia jednego z nich przed 40 dniem. W przeciwnieństwie do tego zarodki rozwijające się w obydwu rogach przeżywają powyżej 40 dnia. W dalszym przebiegu ciąży, w miarę rozwoju błon płodowych, może dojść jednak do kontaktu między płodami i w efekcie do obumarcia jednego lub obydwu płodów (16). U klaczy stwierdza się naturalną tendencję do redukcji ciąży bliźniaczych i utrzymania ciąży pojedynczej. W okresie fazy mobilnej, tj. do 17 dnia, redukcja spontaniczna występuje sporadycznie – 1,3% (16). Także samostne obumarcie jednego zarodka przy ciąży bliźniaczej oburożnej, po zakończeniu fazy mobilnej wynosi tylko 6%. Takie ciążę rozwijają się prawidłowo do 40 dnia, chociaż z reguły kończą się poronieniem w okresie późniejszym. W przypadku jednoróżnych ciąż bliźniaczych współczynnik spontanicznych redukcji po okresie mobilnym jest stosunkowo wysoki. Spośród 50 klaczy z ciążą bliźniaczą zdiagnozowaną po 17 dniu, u 68% (34/50) stwierdzono naturalną redukcję do ciąży pojedynczej, u 18% (9/50) nastąpiło obumarcie obydwu zarodków, a u 14% (7/50) ciąża bliźniacza rozwijała się dalej (17).

Naturalna redukcja jednego z zarodków zależy od 3 podstawowych czynników:

- 1) wzajemnego położenia zarodków względem siebie, w następstwie czego ściany zarodków (ektoderma, mezoderma, endoderma), obejmujące pęcherzyki żółtkowe mają ograniczony lub brak kontaktu z endometrium,
- 2) stopnia synchronizacji owulacji,
- 3) różnicy wielkości zarodków.

Spontaniczna redukcja następuje częściej, gdy różnica w wielkości między zarodkami wynosi  $\geq 4$  mm, a owulacje były asynchroniczne (między jedną a drugą upłynęły co najmniej 24 godziny). W przypadku stwierdzenia jednoróżnej ciąży bliźniaczej, w 17 dniu po zakończeniu fazy mobilnej istnieje 52% szans, że nastąpi redukcja do pojedynczej. Jeżeli ciążę bliźniaczą stwierdzimy w 30 dniu po owulacji, szanse na redukcję do ciąży pojedynczej wynoszą tylko 16% (18). Takie wyjaśnienie lekarz weterynarii może przekazać właścicielowi klaczy, sugerując podjęcie decyzji co do dalszego postępowania. Usunięcie jednego lub obu pęcherzyków zarodkowych można przeprowadzić zarówno przed, jak i po umiejscowieniu zarodka. Powodzenie zabiegu zależy w dużym stopniu od warunków, w jakich jest przeprowadzany. Klacz powinna być umieszczona w poskromie, ultrasonograf najlepiej

z głowicą endorektalną o częstotliwości 5 MHz powinien być ustawiony tak, aby ekran był na poziomie oczu wykonującego zabieg, a pomieszczenie odpowiednio przyciemnione. Efektywność takich zabiegów zależy w dużym stopniu od doświadczenia lekarza.

W okresie fazy mobilnej, tj. do 16 dnia po owulacji, można przy stwierdzeniu ciąży mnogiej i stykających się zarodkach odczekać kilka godzin i ponowić próbę, licząc na korzystniejsze usytuowanie zarodków. Można też przystąpić do próby ich rozdzielenia, manipulując ostrożnie sondą. Do likwidacji wybiera się mniejszy zarodek. Trzeba pamiętać, że zbyt mały zarodek, 10–12 mm średnicy, jednak stosunkowo trudno zgnieść, stąd w takich przypadkach zabieg należy przesunąć o 24 lub 48 godz. Po zabiegu redukcji ciąży mnogiej w okresie fazy mobilnej uzyskuje się bardzo dobre wyniki, a przeżywalność sięga nawet 90%. W ciągu kolejnych 5 sezonów rozrodnych po manualnej redukcji ciąży bliźniaczej uzyskano 91% (209/229) prawidłowo rozwijających się ciąż pojedynczych, a po umiejscowieniu 36% (54/148) (17). McKinnon (19) przedstawia wyniki dotyczące krycia 1716 klaczy pełnej krwi i 1294 półkrwi. Ciążę bliźniacze zdiagnozowano u 245 (14,3%) klaczy pełnej krwi i u 46 (3,5%) klaczy półkrwi.

Po manualnej redukcji jednego zarodka w fazie mobilnej klaczki były powtórnie badane pomiędzy 21 a 25 dniem. U 10 (4%) z 245 klaczy pełnej krwi oraz 8 z 46 (17,4%) klaczy półkrwi, doszło do zaniku ciąży. Skuteczność zabiegu wynosiła odpowiednio 96 i 82,6%. Z praktycznego punktu widzenia przy stwierdzonej ciąży bliźniaczej dwurożnej, po zakończeniu fazy mobilnej, tj. po 17 dniu, należy bezzwłocznie przystąpić do likwidacji jednego z zarodków. Przy ciąży bliźniaczej jednoróżnej efektywność redukcji manualnej nie przekracza 50% i jest porównywalna z prawdopodobieństwem redukcji spontanicznej. Jeżeli do 30 dnia nie nastąpi obumarcie jednego z zarodków, należy ponowić próbę redukcji manualnej bądź podać prostaglandynę  $F_{2\alpha}$  i ponownie zażrebić klacz, jeżeli do zakończenia sezonu rozrodczego pozostaje wystarczająco dużo czasu. Próby redukcji ciąży bliźniaczej jednoróżnej po 30 dniu są stosunkowo trudne. Około 35 dnia w macicy klaczy ciężarnej zaczynają tworzyć się kubki endometrialne produkujące gonadotropinę (ECG) i eliminacja ciąży w tym okresie, opóźnia zdecydowanie wejście klaczy w fazę rujową. McKinnon (19) donosi jednak o stosunkowo dobrych wskaźnikach przeżywalności płodów, sięgających nawet 50%, przy ciążach jednoróżnych w okresie 30–40 dnia po owulacji. Stosowane metody likwidacji jednego z płodów polegają na wywieraniu ucisku

i uszkodzaniu omocznio-kosmówki, a nie bezpośrednim zgniataniu zarodka. Takie próby można powtarzać kilkakrotnie, aż do stwierdzenia zaniku pracy serca płodu.

Opinie odnośnie do stosowania środków przeciwwzapalnych w trakcie i po likwidacji ciąży mnogiej są podzielone. W praktyce własnej, przy manualnej redukcji ciąży w okresie od 15 do 27 dnia, uzyskiwane wskaźniki przeżywalności utrzymywały się w granicach 80–85%. Po zabiegach tych z reguły podawana jest finadyna w ilości 10 ml w iniekcji jednorazowej w celu ograniczenia procesu zapalnego macicy. Przyjmuje się, że okres rozwoju zarodkowego trwa do 40 dnia po owulacji. A zatem, jeżeli po tym okresie utrzyma się ciąża mnoga, istnieje prawdopodobieństwo, że zakończy się ona poronieniem lub urodzeniem obydwu lub jednego martwego źrebięcia. Prawdopodobieństwo urodzenia i odchowania obydwu źrebiąt z ciąży bliźniaczej nie przekracza 5–10%. Wyjątkowo czynione są próby eliminacji jednego z płodów nawet w ciągu 100 dni. Polegają one na nakłuciu płodu igłą, aspiracji płynów bądź iniekcji, najczęściej penicyliny, do serca, płuc czy jamy brzusznej jednego z płodów. Manipulacje te powinny się odbywać pod kontrolą usg z torem wizyjnym. Często jednak takie zabiegi kończą się obumarciem także drugiego płodu.

Oprócz strat wynikających z obecności ciąży bliźniaczej, poważnym problemem w okresie zarodkowym u klaczy jest wczesna zamieralność zarodków (early embryonic death – EED). Brak jednoznacznej definicji, ale pod tym pojęciem określane są straty ciążowe na skutek obumierania zarodków do 40 dnia po owulacji. Stosowanie usg umożliwiło precyzyjną ocenę częstotliwości występowania tego zjawiska, szczególnie powyżej 14. dnia ciąży, odkąd obecność zarodka jest możliwa do zdiagnozowania.

Dane na temat EED do 14 dnia pochodzą z prac eksperymentalnych związanych z pozyskiwaniem i transplantacją zarodków. W drugim dniu po owulacji wskaźniki zapłodnień u młodych klaczy sięgają 91%, a u starszych około 85%. Odzysk zarodków pomiędzy 6 a 9 dniem był zdecydowanie niższy u klaczy starszych. Wskaźnik zamieralności zarodków u klaczy młodych do 14 dnia ciąży wynosi 10%, u klaczy starych nawet 60–70% (20, 21).

Podawane wskaźniki EED różnią się w zależności od metod wykrywania ciąży, okresu w którym przeprowadzono pierwszą diagnozę, a także liczby zwierząt. U 3,7% (63/1716) klaczy pełnej krwi angielskiej, z potwierdzoną ultrasonograficznie pomiędzy 13 a 15 dniem po owulacji ciążą pojedynczą, stwierdzono obumarciem zarodka przed 25 dniem. W tych samych badaniach procent EED u klaczy

rasy półkwi wynosił 7,1%. Większość autorów podaje, że wskaźniki wczesnej obumieralności zarodków do 40 dnia wynoszą 5–24% dla klaczy zdrowych, a sięgają nawet 70% u starych klaczy (19, 20, 22).

Wczesna zamieralność zarodków ma różnorakie podłoże. Wpływ ze strony klaczy dotyczy zaburzeń endokrynologicznych, jajowodowych, macicznych oraz wieku klaczy, a także laktacji i krycia w rui źrebięcej. Do grupy przyczyn zewnętrznych należy stres (transport), sposób żywienia, stosowanie hormonów anabolicznych i leków. Stosunkowo słabo poznany jest też wpływ ogiera na zamieralność zarodków, w tym przenoszenie z nasieniem bakterii, takich jak *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. i *Taylorella*.

Ostatnia grupa przyczyn związana jest z zarodkiem i dotyczy m.in. obniżonej jakości oocytów, mniejszych rozmiarów i defektów morfologicznych zarodków, zaburzeń chromosomalnych i immunologicznych, w tym obecności antygenów skierowanych przeciw trofoblastowi i osłonce przejrzystej (23). Do tej pory jednoznacznie wykazano korelację pomiędzy obumieralnością zarodków a kryciem klaczy powyżej 6 godz. po owulacji. Inne powody wczesnego obumierania nie są tak jednoznaczne. Być może nakłada się działanie kilku czynników równocześnie, jak ruja źrebięcia, laktacja czy pora roku. Ich poznanie umożliwi bardziej racjonalne postępowanie. Wczesna diagnoza tych zaburzeń to możliwość ponownego zażebienia.

Na obumarciu zarodka wskazują:

- 1) obecność płynu w macicy,
- 2) nieregularny kształt zarodka,
- 3) wydłużony >17 dnia okres mobilności zarodka,
- 4) zbyt mały pęcherzyk zarodkowy,
- 5) brak pracy serca.

Ponieważ nie jest jednoznacznie określona przyczyna EED, brak skutecznych metod zapobiegania i leczenia. Spadek poziomu progesteronu <4 ng/ml w dwóch kolejnych badaniach jest dobrym wskaźnikiem EED.

W metodach, które mają zapobiegać zamieralności zarodków uwzględnia się podawanie bezpośrednio po zapłodnieniu progesteronu w ilości 150 mg/dzień *i.m.* codziennie, do 100 dnia ciąży. Wykazano również, że iniekcje HCG – 1000 j.m. w 3, 5 i 9 dniu po kryciu podnoszą poziom progesteronu do 30 dnia ciąży. Jednocześnie stwierdzono, że niesteroidowe leki przeciwwzapalne, takie jak finadyna (flunixin meglumine) w dawce 1,1 mg/kg m.c./dzień od 10 do 60 dnia zapobiegają luteolizie, blokując wydzielanie PGF<sub>2α</sub> (24, 25).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że stosując właściwą kontrolę lekarsko-weterynaryjną u klaczy, począwszy od 13–15 dnia po owulacji, jesteśmy w stanie

prawie wszystkie przypadki ciąży bliźniaczej zredukować do właściwie rozwijającej się ciąży pojedynczej, a tym samym zwiększyć całkowity wskaźnik zażebień o ok. 5%.

## Pismnictwo

1. Hunter RHF: Differential transport of fertilised and unfertilised eggs in equine fallopian tubes: A straightforward explanation. *Vet. Rec.* 1989, **125**, 304.
2. Freeman D.: Oviductal transport in the mare. *Equine Reprod. Proc. Ann. Sem. Equine Branch. NZVA.* 1992, **143**, 17-21.
3. Van Niekerk C., Gerneke W.: Persistence and parthenogenetic cleavage of tubal ova in the mare. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1966, **33**, 195-232.
4. Okólski A.: Sezonowa czynność jajników i zatrzymywanie niezapłodnionych komórek jajowych w jajowodach klaczy. *Rozpr. habil.* 1981, AR Kraków.
5. Okólski A.: Mares ovarian function and unfertilized egg retention. *Int. Cong. Anim. Reprod. Artif. Insem., Urbana.* 1984, **3**, 484.
6. Gidley-Baird A., Teisner B., Hau J., Grudzinskas J.: Immunohistochemical demonstration of a new pregnancy protein in the mare. *J. Reprod. Fert.* 1983, **67**, 129-132.
7. Vandeplassche M., Henry M.: Salpingitis in the mare. *Proc. Ann. Conv. Amer. Assoc. Equine Pract.* 1977, 123-131.
8. Fiala S., Amaral M., Pimentel C., Rosa P., Costa G., Oliveira G., Ceretta R., Mattos R.: Inflammatory lesions in the mare's oviducts. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, **94**, 265-267.
9. Bennett S., Griffin R., Rhoads W.: Surgical evaluation of oviduct disease and patency in the mare. *Proc. 48th Ann. Conv. Amer. Assoc. Equine Pract.* 2002, 347-349.
10. Allen W., Wilsher S., Morris L., Crowhurst J., Hillier M., Neal H.: Re-establishment of oviductal patency and fertility in infertile mares. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, **94**, 242-243.
11. Ginther O.: Intrauterine movement of the early conceptus in barren and postpartum mares. *Theriogenology* 1984, **21**, 633-644.
12. Ginther O.: Mobility of twin embryonic vesicles in mares. *Theriogenology* 1984, **22**, 83-95.
13. Ginther O.: Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos, and type of embryo fixation in mares. *J. Equine Vet. Sci.* 1987, **7**, 82-88.
14. Okólski A.: Częstotliwość owulacji mnogich u klaczy. *Medycyna Wet.* 1985, **41**, 492-495.
15. Ginther O.: *Ultrasonic Imaging and Reproductive Events in the Mare.* Equiservices, Cross Plains, Wisconsin. 1986, ss. 378.
16. Jeffcott L., Whitwell K.: Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the Thoroughbred mare. *J. Comp. Pathol.* 1973, **83**, 91-106.
17. Pascoe D.: The origin and management of twin pregnancy between 14 and 60 days. *Equine Reprod. Proc. Ann. Sem. of the Equine Branch, NZVA.* 1992, **143**, 23-32.
18. Ginther O.: Postfixation embryo reduction in unilateral and bilateral twins in mares. *Theriogenology* 1984, **22**, 213-223.
19. McKinnon A.O.: Twin reduction techniques. W: *Current Therapy in Equine Reproduction.*, Saunders, Elsevier. 2007, s. 357-373.
20. Ball B.: Embryonic loss in mares. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 1988, **4**, 263-290.
21. Carnevale E., Ramirez R., Squires E.: Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology* 2000, **54**, 965-979.
22. Vanderwall D., Newcomb J.: Early embryonic loss. W: *Current Therapy in Equine Reproduction*, Saunders Elsevier, 2007, s. 374-383.
23. Oriol J., Poleman J., Antczak D., Allen W.: A monoclonal antibody specific for equine trophoblast. *Equine Vet. J.* 1989, Suppl. **8**, 14-18.
24. Deales P., Stabenfeldt G., Hughes J., Odensvik K., Kindahl K.: Effects of flunixin meglumine on endotoxin-induced prostaglandin F<sub>2α</sub> secretion during early pregnancy in mares. *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**, 276-281.
25. Deales P., Stabenfeldt G., Hughes J.: Evaluation of progesterone deficiency as a cause of fetal death in mares with experimentally induced endotoxemia. *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**, 282-288.

Prof. dr hab. Adam Okólski, Katedra Rozrodu i Anatomii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków