



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2014; 28 (1): 35 - 39
http://www.fusabil.org

Düvelerde Dondurulmuş Embriyoların Transferinde Embriyonun Uterusta Bırakıldığı Kornu Uteri ve Derinliğinin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi*

Şükrü DURSUN¹
Mehmet KÖSE²
Mesut KIRBAŞ¹
Bülent BÜLBÜL¹
Mehmet ÇOLAK³

¹ Bahri Dağdaş Uluslararası
Tarımsal Araştırma
Enstitüsü,
Konya, TÜRKİYE

² Dicle Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji
Anabilim Dalı,
Diyarbakır, TÜRKİYE

³ Mehmet Akif Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Zootekni Anabilim Dalı,
Burdur, TÜRKİYE

Bu çalışma, düvelerde dondurulmuş embriyoların transferinde embriyonun korpus luteumun bulunduğu ovaryuma göre bırakıldığı kornu uteri (ipsilateral/kolleteral) ve derinliğinin (derin/yüzeysel) gebelik oranı üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapıldı. Derin transfer, embriyonun kornu uterinin, bifurkasyo bölgesinden sonraki üçüncü 1/3'lük kısmına bırakılması olarak tanımlanırken, yüzeysel transfer ise embriyonun kornu uterinin bifurkasyo bölgesinden sonraki ilk 1/3'lük kısmına bırakılması olarak tanımlandı. Bu tanımlamalara ve korpus luteumun lokalizasyonuna göre taşıyıcılar rasgele dört gruba ayrıldı. Etilen glikolle direk transfer metoduna göre dondurulmuş birinci kalite embriyolar taşıyıcılara östrüs (0. gün) sonrası 7. günde; Grup I'de derin-ipsilateral (n=12), Grup II'de yüzeysel-ipsilateral (n=13), Grup III'de derin-kolleteral (n=13), Grup IV'te ise yüzeysel-kolleteral (n=12) olarak transfer edildi. Taşıyıcıların gebelik muayeneleri 28. günde trans-rektal ultrasonografi ile yapıldı. Gebelik oranları gruplarda (Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV) sırasıyla %41.7 (5/12), %61.5 (8/13), %30.8 (4/13) ve %25 (3/12) tespit edildi. Grupların gebelik oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmadı (P>0.05). Yapılan transferler sadece derin ve yüzeysel olarak gruplandırıldığında gebelik oranları sırasıyla; %36 (9/25) ve %40 (11/25) oldu, fakat gebelik oranları arasındaki farklılık önemli olarak tespit edilmedi (P>0.05). Transferler sadece ipsilateral ve kolleteral olarak gruplandırıldığında ise gebelik oranları sırasıyla %52 (13/25) ve %28 (7/25) oldu. İstatistiksel olarak ipsilateral transfer grubunda elde edilen gebelik oranı, kolleteral transferlerden yüksek olma eğiliminde olduğu görüldü (P=0.07). Sonuç olarak, etilen glikolle dondurulmuş birinci kalite embriyoların korpus luteumla aynı taraftaki kornu uteriye bırakılması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Derin-yüzeysel, ipsilateral-kolleteral, embriyo transfer, gebelik oranı, düve.

Effect of the Depth and Site of Embryo Deposition on Pregnancy Rate after Embryo Transfer in Heifers

This study was conducted to determine the effects of both the uterine horn of the cryopreserved embryo placement according to corpus luteum, ipsilateral or colleteral, and the depth of embryo placement in the uterine horn on pregnancy rates in heifers. Deep transfer was defined as the injection of the embryo in third one-third of the cornu uterine, while shallow transfer was defined as the injection of embryo in first one-third stage of the cornu uterine. According to this definition and location of the corpus luteum, recipients were divided into four different groups. On day 7 after oestrus, embryos, grade1 embryos frozen with ethylene glycol by direct transfer method, were transferred deep-ipsilateral in Group I (n=12), shallow-ipsilateral in Group II (n=13), deep-collateral in Group III (n=13) or shallow-collateral in Group IV (n=12). Pregnancies were examined 28 days after transfer by ultrasonography. Pregnancy rates in Group I, II, III and IV were 41.7% (5/12), 61.5% (8/13), 30.8% (4/13), and 25% (3/12), respectively. The differences among groups were non-significant (P>0.05). When transfers are analyzed as deep and shallow groups, the pregnancy rates were 36% (9/25) in deep group, 40% (11/25) in shallow group, but the difference was not significant. If transfers are evaluated as ipsilateral and colleteral, pregnancy rates were 52% (13/25) in ipsilateral group and 28% (6/25) in collateral group. Pregnancy rate in ipsilateral transfers tended to be higher than in collateral transfers (P=0.07). It is concluded that the embryo should be placed in the uterine horn ipsilateral to the corpus luteum in direct transfer.

Key Words: Deep-shallow, ipsilateral-colleteral, embryo transfer, pregnancy rate, heifer.

Giriş

Günümüzde embriyo transferi çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde genetik ilerlemeyi hızlandırmak ve kaliteli damızlıkların sayısını arttırmak amacıyla ineklerde rutin olarak kullanılan biyoteknolojik yöntemlerden biridir (1). Ancak embriyo transferi sonrasında elde edilen gebelik oranı üzerine birçok faktörün etkisi olduğu ve bu faktörlere bağlı olarak gebelik oranlarının çok değişken olduğu bilinmektedir (2). Düşük gebelik oranlarında embriyo transferinin maliyetinin daha da yükseleceği ve özellikle ülkemizde bu tekniğin çoğunlukla ithal edilen dondurulmuş embriyolar kullanılarak yeni kullanmaya

* Bu çalışma, Ekim 2007 Antalya'da düzenlenen IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi'nde "Sığır Embriyo Transferinde Embriyonun Bırakıldığı Derinlik ve Yerin Gebelik Oranına Etkisi" başlığıyla poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi : 03.01.2014
Kabul Tarihi : 24.03.2014

Yazışma Adresi Correspondence

Şükrü DURSUN
Bahri Dağdaş Uluslararası
Tarımsal Araştırma
Enstitüsü,
Konya - TÜRKİYE

sukrudursun70@hotmail.com

başlandığı göz önüne alındığında gebelik başına oluşan maliyetin düşürülebilmesi için gebelik oranlarının arttırılmasının öncelikli hedefler arasında olmasının gerekliliği daha iyi anlaşılmaktadır (3, 4).

İneklerde gebeliğin oluşumu ve devamlılığı için uterus, embriyo ve ovaryum arasında bir seri kompleks olayların gerçekteşmesi gerekmektedir. Fertilizasyon sonrası embriyo ovidukt kanalından geçerek ovulasyon sonrası takriben 3-4. günlerde uterusu ulaşmaktadır (5). Ovulasyonu izleyerek ovaryum üzerinde şekillenen ve olgunlaşan korpus luteumdan (KL) salgılanan progesteronun etkisi ile uterus; embriyonun implantasyona kadar yaşaması için gerekli sekresyonları yapmakta ve büyüyüp gelişmesine ev sahipliği yapmaktadır (6, 7). İzleyen günlerde ise zonasından çıkarak elips tarzında uzamaya başlayan embriyonun trofoblast hücrelerinden 15-16. günlerde ise gebeliğin maternal kabulü için sinyal niteliğinde olan interferon-tau (IFN- τ) üretilmeye başlanmaktadır (8, 9). Gebeliğin maternal kabulü sonrası embriyo uterus duvarına implante olmakta ve yavru zarlarının gelişimi ile gebelik devam etmektedir. Bu sürecin fizyolojik düzeninde işlemin için embriyo transferinde embriyonun gelişme evresine uygun siklus yaşında olan taşıyıcıların uteruslarının uygun lokalizasyonuna bırakılması önemli olabilir. Zira daha önce ineklerde ve insanlarda yapılan bazı çalışmalarda embriyonun KL'a göre transfer edildiği kornu uteri tarafının ve transfer derinliğinin gebelik oranı üzerine etkili olduğu bildirilmiştir (10-12).

Günümüzde yaygın olarak tercih edilen non-şirurjikal embriyo transfer metodu, transfer kateterine yerleştirilen embriyonun rekto-vajinal yolla reproduktif organlar üzerinde elle yapılan manipilasyonlarla uterusu bırakılmasıyla gerçekteşirilmektedir (3). Reproduktif sistem genel olarak ovaryum dışındaki organların tubuler bir kanal oluşturacak şekilde birbiriyle bağlamasından oluşmaktadır. İneklerde serviks ve uterusun anatomik yapısının diğer türlere göre bazı farklılıkları bulunmaktadır. Bu farklılıklar suni tohumlama ve embriyo transferi pratiği için oldukça önemlidir. Serviks uteri, yaklaşık 8-10 cm uzunluğunda olup kanalı mukozanın oluşturduğu enine kıvrımlar nedeniyle özellikle siklusun diöstrüs döneminde sirküler tarzda tamamen kapanmaktadır (14). Bununla birlikte düvelerde daha ince yapılı olup dar bir lumene sahiptir. Uterus ise nispeten kısa bir korpus uteri ve birbirinden uzaklaşan uzun iki kornu uteriden oluşmaktadır. Diöstrüs döneminde kornu uteriler progesteronun etkisiyle yumuşak hamur kıvamını almakta ve ventrale doğru yönelerek kendi üzerinde kıvrılmaktadırlar (14, 15). Bu farklılıklara bağlı olarak embriyo transferi uygulamalarında güçlükler oluşabildiğinden embriyo transferinde gebelik oranını etkileyen faktörlerden biri de pratisyenin tecrübe düzeyidir (13, 16, 17). Çünkü embriyonun transferinin diöstrüs döneminde yapılmasının gerekliliği, düvelerde transfer işleminin sırasında kateterinin kapalı ve dar bir serviks kanalındaki sirküler plikalardan geçilmesini bunu takiben kornu uterilerden birine yönlendirilmesi ve ilerletilebilmesi için kendi üzerine katlanmış yumuşak kıvamlı ve küçük hacimli kornu uterinin mümkün olan en

az travma oluşturacak el maniplasyonlarıyla düzeştirilmesini gerektirmektedir (18).

Sunulan bu çalışmada etilen glikolle direk transfer metoduna göre dondurulmuş embriyoların, ipsilateral (KL bulunduğu ovaryum tarafındaki kornu uteri)/kolleteral (KL bulunduğu ovaryumun aksi tarafındaki kornu uteri) ve/veya derin (kornu uterinin bifurkasyo bölgesinden itibaren son 1/3'lük kısmı)/yüzeysel (kornu uterinin bifurkasyo bölgesinden itibaren ilk 1/3)/ transfer edilmesinin gebelik oranı üzerine etkisinin tespit edilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsünde bulunan serbest dolaşımlı yarı açık ahırlarda aynı bakım-besleme şartlarında barındırılan, en az 24 aylık yaşta olan 50 baş İsviçre Esmeri taşıyıcı düve üzerinde Nisan – Temmuz 2006 tarihinde yürütüldü.

Taşıyıcı düveler, düzenli siklik aktivite gösteren düveler; 14 gün ara ile çift doz PGF $_{2\alpha}$ ile senkronize edildiler. Senkronize edilen taşıyıcılar sabah 07:00–08:00 ve 19:00–20:00 saatlerinde gözlemlerle östrüsler tespit edilmiştir. Östrüs gösteren taşıyıcılar rektal palpasyonda reproduktif organlarında herhangi bir klinik bozukluk belirlenmeyen ve referans östrüs sonrası 6. günde (östrüs=0. gün) yapılan rektal ve ultrasonografik muayenede ovaryumlarında en az 2 cm çapında, sert yapılı ve tercihen taçlı KL bulunan ve kornu uterilerinde asimetri, fluktasyon vb. bozukluk saptanmayan düvelerden seçildi.

Etilen glikolle direkt transfer metoduna göre dondurulmuş birinci kalite embriyolar, taşıyıcının östrüs siklusunun 7. gününde (embriyonun ve taşıyıcının siklus yaşları birbirine ± 24 saat sınırları içerisinde paralel olacak şekilde) transfer edildi. Transfer öncesi taşıyıcılara bağırsak peristaltiğini önlemek amacıyla üst epidural anestezi (lidokain HCl, 5-7 mL, Vilsain®, Vilsan, Ankara, Türkiye) yapıldı. Embriyolar, payet azot tankından çıkarıldıktan sonra 5 sn havada bunu takiben 25 sn 25°C'deki su banyosunda tutularak çözdürüldü ve aşağdaki tanımlamalara göre dört gruba ayrılan taşıyıcılara transfer edildi.

Grup I (n=12); derin-ipsilateral transfer: Embriyonun KL'un bulunduğu ovaryum tarafındaki kornu uterinin apeks bölgesine (kornu uterinin bifurkasyo bölgesinden itibaren son 1/3'lük kısmı) bırakılması.

Grup II (n=13); yüzeysel-ipsilateral transfer: Embriyonun KL'un bulunduğu ovaryum tarafındaki kornu uterinin basis bölgesine (kornu uterinin bifurkasyo bölgesinden itibaren ilk 1/3'lük kısmı) bırakılması.

Grup III (n=13); derin-kolleteral transfer: Embriyonun KL'un bulunduğu ovaryumun aksi tarafındaki kornu uterinin apeks bölgesine bırakılması.

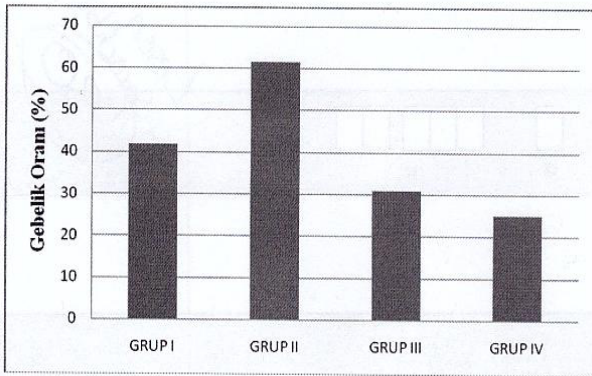
Grup IV (n=12); yüzeysel-kolleteral transfer: Embriyonun KL'un bulunduğu ovaryumun aksi tarafındaki kornu uterinin basis bölgesine bırakılması.

Gebelik muayeneleri östrüs sonrası 28. günde transrektal yolla ultrason cihazı kullanılarak yapıldı.

Çalışmada gruplarda elde edilen gebelik oranlarının istatistiki yönden karşılaştırılması bilgisayar SPSS paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Çalışmada Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV'te elde edilen gebelik oranları sırasıyla %41.7 (5/12), %61.5 (8/13), %30.8 (4/13) ve %25 (3/12) oldu (Tablo 1). Buna göre gruplarda elde edilen gebelik oranları arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmadı ($P>0.05$; Şekil 1).

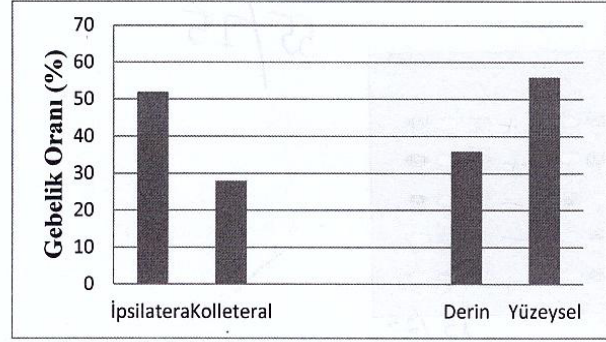


Şekil 1. Gruplarda elde edilen gebelik oranları

Tablo 1. Gruplarda elde edilen gebelik oranları

Gruplar	Transfer Tanımı	Gebelik Oranı (%)
Grup I	Derin-ipsilateral	41.7 (5/12)
Grup II	Yüzeysel-ipsilateral	61.5 (8/13)
Grup III	Derin-kolleteral	30.8 (4/13)
Grup IV	Yüzeysel-kolleteral	25 (3/12)

Çalışmada embriyoların kornu uteriye bırakıldığı transfer derinliği dikkate alınmaksızın yapılan ipsilateral transferlerde elde edilen gebelik oranı %52, kolleteral transferlerde ise %28 olarak tespit edildi (Tablo 2). Ipsilateral transferlerde elde edilen gebelik oranının, kolleteral transferlerdekinden istatistiki olarak daha yüksek olma eğiliminde olduğu tespit edildi ($P=0.07$; Şekil 2). Embriyoların CL'nin bulunduğu ovaryum tarafı dikkate alınmaksızın derin ve yüzeysel olarak kornu uteriye transferlerinde elde edilen gebelik oranları ise sırasıyla %36 ve %44 bulundu (Tablo 2). Transfer derinliğine göre tespit edilen gebelik oranları arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmadı ($P>0.05$; Şekil 2).



Şekil 2. Embriyoların ipsilateral-kolleteral veya derin-yüzeysel transferlerinde elde edilen gebelik oranları

Tablo 2. Embriyoların ipsilateral-kolleteral veya derin-yüzeysel transferlerinde elde edilen gebelik oranları

Transfer Tanımı	Gebelik Oranı (%)
İpsilateral	52 (13/25)
Kolleteral	28 (7/25)
Derin	36 (9/25)
Yüzeysel	40 (11/25)

Tartışma

Çalışmada gruplar (Grup I, II, III ve IV), derin ve yüzeysel transferler ve ipsilateral kolleteral transferlerde elde edilen gebelik oranları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamakla birlikte ipsilateral transferlerden elde edilen gebelik oranının, kolleteral transferlerden istatistiki olarak önemli olma eğiliminde olduğu tespit edildi ($P=0.07$).

İneklere gebeliğin oluşumu için öncelikle progesteron üretiminin devamlılığını sağlayan CL'nin uterus venasından ovaryum arterine difüzyon yoluyla geçerek regresyonuna neden olan $PGF_{2\alpha}$ 'nın pulsatif salınımının durdurulması gerekmektedir (19). Gebeliğin maternal kabulü olarak tanımlanan bu olaylar zinciri embriyonun trofoblastik hücrelerinden üretilen interferon-tau (IFN- τ) adı verilen bir sitokin aracılığıyla varlığını anneye bildirmesiyle başlamaktadır. Genel olarak IFN- τ 'nin luteolizisin önlenmesinde fonksiyonunu uterus endometriyumunda östradiol reseptörlerini baskılayarak oksitosin reseptörlerinin artışına engel olmak suretiyle gerçekleştirdiği kabul edilmektedir (19, 20). Embriyo transferi çalışmalarında genel olarak embriyonun CL'nin lokalizasyonuna göre ipsilateral olarak transfer edildiğinde daha yüksek gebelik oranları elde edildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte kolleteral transferlerde de ipsilateral transferlere benzer (11, 21) hatta daha yüksek (22) oranlarda gebelik elde edildiği bildirilmiştir. Gebeliğin maternal kabul sürecinde IFN- τ 'nin uterustaki lokal fonksiyonlarına ilave olarak sistemik etkilerinin olabileceği belirtilmektedir ki Spencer ve ark (20) eksojen IFN- τ uygulamasının uterusta oksitosin ve östradiol reseptörlerinin ekspresyonunu baskılamakla birlikte

CL'de Mx ve UCRP genlerinin ekspresyonunda artış oluşturduğunu ve bu etkisinin; IFN- γ 'nın kendisinin doğrudan oluşturduğu bir etki, vücutta sistemik etki oluşturan maddelerin indüklenmesi veya luteal fonksiyonlar üzerine etkileri ilerleyen süreçte oluşan savunma hücreleri aracılığıyla oluşabileceğini belirtmişlerdir. Uterus dışı dokularda da (CL ve periferik beyaz kan hücreleri) bazı genlerin ekspresyonunda da gebeliğe bağlı artış olduğunun tespiti sistemik bir düzenlemenin de olabileceği görüşünü desteklemektedir (23-26). Sunulan çalışmanın sonuçları; Grup I, II, III ve IV'teki gebelik oranları arasındaki farklılıklar önemli olmamakla birlikte transferlerin ipsilateral olarak yapıldığı Grup I ve Grup II'de gebelik oranlarının kolleteral yapıldığı Grup III ve IV'ten rakamsal olarak fazla olması ve transferlerin ipsilateral ve kolleteral değerlendirildiğinde gebelik oranlarındaki arasındaki istatistiksel farklılığın önemlilik düzeyine yakın olması ($P=0.07$) ve gruplardaki transfer sayılarının düşüklüğü beraber değerlendirildiğinde embriyonun ipsilateral kornuya yapılması gerekliliğini desteklemektedir.

Sunulan çalışmada elde edilen gebelik oranları embriyonun sadece kornu uteriye bırakıldığı derinliğe göre değerlendirildiğinde derin ve yüzeysel transferler sonrası elde edilen gebelik oranları açısından farklılık tespit edilememiştir. Beal ve ark. (10) ise bu sonuçlarımızın aksine derin transferlerde elde edilen gebelik oranının yüzeysel transferlerden elde edilen gebelik oranından yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Hasler (17) ise transfer derinliğinin embriyoların kalitesinin bizim çalışmamızda olduğu gibi birinci kalite olması halinde gebelik oranı üzerine etkisinin olmadığını bildirmektedir. Embriyo transferi tekniğinde genel olarak embriyonun mümkün olduğunca, yaşına göre muhtemel olabileceği bölgenin kornu uterinin apikal 1/3-1/2'lik kısmı olması

nedeniyle apeks kısmına bırakılması tavsiye edilmektedir. Ancak uzun süreli manipülasyonun embriyo için toksik olduğu daha önce yapılan çalışmalarda belirtilen PGF $_{2\alpha}$ 'nın salınımına neden olduğu için transfer işleminin en kısa sürede tamamlanması gerekmektedir. Sunulan çalışmada da birinci kalite embriyoların çözündürüldükten sonraki 5 dk içerisinde uterusa bırakılmasının derin ve yüzeysel transferlerde gebelik oranlarında farklılığın oluşmamasının nedeni olabileceği düşünülmektedir. İkinci bir neden olarak embriyonun beslenmesinin kornu uterideki lokalizasyonundan etkilenmemesi sonucunu sağlamak suretiyle ineklerde endometrial bezlerin dağılımının kornu uteriler boyunca aynı homojenlikte olması (28) düşünülmektedir. Üçüncü olarak çalışmada transfer işleminin daha önce ki bazı çalışmalarda embriyoların korpus uteriye yakın şekilde kornu uteriye bırakılmasının mikrobiyal kontaminasyona yol açma riskini (29) en bazal seviyede tutacak şekilde hijyenik koşulların oluşturulması suretiyle gerçekleştirilmesi varsayılmaktadır. Ayrıca yüzeysel transferlerin mikrobiyal kontaminasyon için bir risk faktörü olmadığı da Looney ve ark. (18) tarafından belirtilmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmanın sonuçlarına göre istatistiksel anlamda önemlilik olmamakla birlikte embriyonun CL'nin lokalizasyonuna göre ipsilateral kornu uteriye transfer edilmesi gerektiği ve embriyonun kornu uterinin bifurkasyon bölgesi geçildikten sonra bırakılmasının kabul edilebilir düzeyde gebelik oranı elde edilmesi için yeterli olduğu kanısına varıldı. Bu çalışmanın sonuçlarının gruplardaki transfer sayısının düşüklüğüne rağmen henüz ülkemizde yaygınlaşmamış olan embriyo transferi tekniğinin yaygınlaşabilmesi için saha pratisyenlerine transfer tekniğinin uygulanmasında katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Hasler JF. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 2001; 56: 1401-1415.
2. Gali C, Duchi R, Crotti G, et al. Bovine embryo technologies. *Theriogenology* 2003; 59: 599-616.
3. Sağırkaya H, Bağış H. Memeli embriyolarının kriyoprezervasyonu. *Uludağ Univ J Fac Vet Med* 2003; 22: 127-135.
4. Kızıl SH, Akyol N, Kardeşahin T, Satılmış M. Etilen glikol ile direkt transfer metoduna göre dondurulan in vivo siğir embriyolarının transferi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17: 721-724.
5. Gordon IR. Culturing and evaluating the early bovine embryo. In: Gordon IR. (Editor). *Laboratory Production of Cattle Embryos*. 2nd Edition, Trowbridge, England: Cromwell Press 2003: 220-276.
6. Spencer TE, Johnson GA, Burghardt RC, Bazer FW. Progesterone and placental hormone actions on the uterus. *Insights from domestic animals*. *Biol Reprod* 2004; 71: 2-10.
7. Spencer TE, Bazer FW. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. *J Anim Sci* 2004; 82: 4-13.
8. Thatcher WW, Meyer MD, Danet-Desnoyers G. Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil (Suppl)* 1995; 49: 15-28.
9. Spencer TE, Bazer FW. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinology* 2004; 2: 49.
10. Beal WE, Hinshaw RH, Whitman SS. Evaluating embryo freezing method and the site of embryo deposition on pregnancy rate in bovine embryo transfer. *Theriogenology* 1998; 49: 241.
11. Hernandez-Fonseca HJ, Sayre BL, Butcher RL, Inskeep EK. Embryotoxic effects adjacent and opposite to the early regressing bovine corpus luteum. *Theriogenology* 2000; 54: 83-91.
12. Mohammed MAS. The influence of the depth of embryo transfer into the uterine cavity on implantation rate. *Middle East Fertility Society Journal* 2010; 15: 174-178.

13. Gordon IR. Embryo transfer. In: Gordon IR. (Editor). *Reproductive Technologies in Farm Animals*. Cambridge: CAB International: 82-107.
14. Pineda MH. Female reproductive system. In: Pineda MH. (Editor). *McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 5th Edition, Iova: Blackwell Publishing Company 2003: 283-340.
15. Gürler H, Fındık M. Dişi üreme sisteminin morfolojisi. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A. (Editörler). *Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji*. 1.Baskı, Malatya: Medipress Matbaacılık 2012: 3-14.
16. Schneider HJ, Castleberry RS, Griffin JL. Commercial aspects of bovine embryo transfer (abstract). *Theriogenology* 1980; 13: 73-85.
17. Hasler JF. Bovine embryo transfer: Are efficiencies improving? *Applied Reproductive Strategies Conference Proceedings*, Nashville, TN, August 5th & 6th, 2010; 265-282.
18. Looney CR, Nelson JS, Schneider HJ, Forrest DW. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology* 2006; 65: 201-209.
19. Güzeloğlu A. İneklerde gebeliğin maternal kabulü sürecinde anti-luteolizisin moleküler mekanizması. *Eurasian J Vet Sci* 2006; 22: 83-88.
20. Spencer TE, Stagg AG, Ott TL, et al. Differential effects of intrauterine or subcutaneous administration of recombinant ovine interferone tau on endometrium of cyclic ewes. *Biol Reprod* 1999; 61: 464-470.
21. Del Campo MR, Rowe RF, French LR, Ginther OJ. Unilateral relationship of embryos and corpus luteum in cattle. *Biol Reprod* 1977; 16: 580-585.
22. Callesen H, Greve T, Avery B. Embryo technology in cattle: brief review. *Acta Agriculturae Scandinavica, (Section A, Animal Science Supp.)* 1998; 29: 19-29.
23. Yankey SJ, Hicks BA, Carnahan KG, et al. Expression of the antiviral protein Mx in peripheral blood mononuclear cells of pregnant and bred, non-pregnant ewes. *J Endoc* 2001; 170: 7-11.
24. Gifford CA, Racico K, Clarck DS, et al. Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90: 274-280.
25. Köse M, Görgülü M, Kaya MS, et al. Expression profiles of interferon-tau stimulated genes (ISGs) in peripheral blood leucocytes (PBLs) and milk cells in pregnant dairy cows. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2014; 20: 189-194.
26. Oliveria JF, Henkes LE, Ashley RL, et al. Expression of interferon (IFN)-stimulated genes in extrauterine tissues during early pregnancy in sheep is the consequence of endocrine IFN- τ release from the uterine vein. *Endocrinology* 2008; 149: 1252-1259.
27. Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet J* 2006; 171: 206-228.
28. Gray CA, Bartol FF, Tarleton BJ, et al. Developmental biology of uterine glands. *Biol Reprod* 2001; 65: 1311-1323.
29. Hussain AM, Jillella D, Daniel RCW, Frost AJ. Studies on some bacteriological aspects of non-surgical embryo transfer in cattle. *Reprod Dom Anim* 1994; 29: 55-60.