






## Direkt Embriyo Transferi: Azot Tankından Uterusa

Şöhret GÜLER<sup>1</sup>  Mehmet YILDIZ<sup>2,\*</sup>  Yunus ÇETİN<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Genetics and Embryo Technologies Application and Research Center, 15030, Burdur, Turkey

<sup>2</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Health Sciences Institute, Department of Obstetrics and Gynecology, 15030, Burdur, Turkey

<sup>3</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, 15030, Burdur, Turkey

Received: 27.05.2021

Accepted: 13.07.2021

### ÖZ

Sunulan çalışmanın amacı taşıyıcı düvelere yapılan direkt embriyo transferinde bazı parametrelerin gebelik oranları üzerine etkisini ortaya koymaktır. Çalışmanın hayvan materyalini 89 baş düve oluşturdu. Gebe kalmayanlara tekrar transfer uygulandığı için toplam 138 embriyo transferi yapıldı. Transferlerin 91'i direkt transfer, 47'si ise su banyosunda çözündürüldükten sonra 2 medyumda sırasıyla 5'er dk bekletildikten sonra, tekrar payetlenerek yapıldı. Östrus - ovulasyon zaman aralığı, ovulasyonun meydana geldiği ovaryum tarafı, ovulasyondan sonra transfer gününe kadar geçen zaman aralığı, embriyo pratişyenleri, direkt veya aşamalı çözündürülerek yapılan transferlerin gebelik oranı üzerine etkisi önemli bulunmadı ( $P>0.05$ ). Embriyonun aşamasına göre değerlendirildiğinde morula, erken blastosist ve blastosistlerde gebelik oranları sırasıyla %64.3 ( $n=27$ ), %44.3 ( $n=27$ ) ve %74.3 ( $n=26$ ) olarak tespit edildi. Morula ve blastosistlerin transferi sonrası gebelik oranları, erken blastosist aşamasında yapılanlara göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $P<0.05$ ). Gebe düvelerde embriyonik ve fetal ölüme bağlı olarak %17.5 ( $n=14$ ) kayıp yaşandı. Transfer edilen embriyoların morula ve blastosist aşamasında olması, transfer öncesi aktif bir korpus luteumun varlığının tespit edilmesi, direkt transferlerin hızlı yapılması, embriyonun bilinen pratişyenden temin edilmesi ve transferlerin aşamalı çözündürülerek yapılmasının gebelik oranlarını arttırabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Embriyo nakli, Gebelik, Korpus luteum, Ovulasyon.

### ABSTRACT

## Direct Embryo Transfer: From Nitrogen Tank to Uterus

The aim of this study was to determine the effect of some parameters on pregnancy rates in direct embryo transfer to recipient heifers. Animal material of the study consisted of 89 heifers. A total of 138 embryos were transferred because the heifers that did not conceive were retransferred. Ninety one of the transfers were performed directly, 47 of them were performed after being thawed in the water bath and being held in 2 medium for 5 minutes. Estrus - ovulation time interval, the side of the ovary where ovulation occurred, the time interval from ovulation to the day of transfer, embryo practitioners, direct or gradually thawed transfers had no effect on the pregnancy rate ( $P> 0.05$ ). When evaluated according to the stage of the embryo, pregnancy rates in morula, early blastocysts and blastocysts were 64.3% ( $n=27$ ), 44.3% ( $n=27$ ) and 74.3% ( $n=26$ ), respectively. Pregnancy rate after transfer of blastocysts and morula was significantly higher than those of the early blastocyst stage ( $P<0.05$ ). There was a 17.5% ( $n=14$ ) loss due to embryonic and fetal death in pregnant heifers. It is thought that transferring embryos at the morula and blastocyst stage, the presence of an active corpus luteum before the transfer, rapid direct transfers, the procurement of the embryo from the known practitioner and the gradually thawing of the transfers can increase the pregnancy rates.

**Keywords:** Corpus luteum, Embryo transfer, Ovulation, Pregnancy.

### GİRİŞ

Günümüzde hayvan ıslahının ilerlemesi için süperovulasyon, suni tohumlama ve embriyo transferi gibi biyoteknolojik yöntemler kullanılmaktadır (Seidel 2007; Gadisa ve ark. 2019). Embriyo transferi ile üstün genetik özelliklere sahip donörlerden tüm hayatı boyunca üretilebilecek yavru sayısı, ortalama bir siklusta elde

edilebilmektedir (Gadisa ve ark. 2019; Haji 2020). Embriyo transferi, in vivo veya in vitro üretilen embriyoların taşıyıcı hayvanlara nakledilmesidir. İn vitro yöntemde canlı hayvanlardan ovum pick up (OPU) yöntemiyle veya mezbaha materyalinden oositlerin toplanmasıyla embriyolar üretilmektedir. İn vivo yöntemde ise, embriyolar tamamen dişi genital sistemde gelişmekte ve



östrüstan 7 gün sonra kornular yıkanarak toplanmaktadır. İn vivo veya in vitro olarak üretilen embriyolar taze veya dondurulup çözündürülerek transfer edilebilmektedir (Sağırkaya 2009).

Siğirlerde ilk başarılı embriyo transferi Willett ve ark. (1951) tarafından gerçekleştirilmiştir. Embriyonun ticari bir değer kazanmasına bağlı olarak embriyo üretiminde artış görülmüştür. Son yıllarda in vivo ve in vitro üretilen embriyo sayısı yaklaşık 1.5 milyona ulaşmış durumdadır. Uluslararası Embriyo Teknoloji Derneği (IETS) tarafından 2018 yılına ait anket sonuçlarına göre dünya çapında in vivo 469.967 (%31.3) ve in vitro 1.023.400 (%68.7) olmak üzere toplam 1.493.367 embriyo üretilmiştir (Viana 2019).

Embriyo kriyoprezervasyon teknolojisi, siğir embriyo transferinde önemli gelişmelerden biridir (Hasler 2014). Dondurulan embriyolar laboratuvar ortamında aşamalı olarak çözündürülüp tekrar payetlendikten sonra transfer edilebildiği gibi, payet içerisinde çözündürülüp direkt olarak da transfer edilebilmektedir (Mollo ve ark. 2007). Direkt embriyo transferi, dondurulmuş embriyoların su banyosu içerisinde çözündürülüp, aynı payette taşıyıcı hayvanların uterusuna nakil işlemidir. Willadsen ve ark. (1978) dimetil sülfoksit (DMSO) kullanarak ilk kez direkt transfer uygulamasını gerçekleştirmiştir. Yapılan çalışmada 20 hayvana embriyo transferi sonrası sadece bir inekte gebelik tespit edilmiştir. İlerleyen yıllarda başarılı çalışmalar yapılmış, süzkroz (0.25 M) ve gliserol (1.4 M) kullanılarak dondurulan embriyoların direkt transferlerinde %51.8 gebelik oranı bulunmuştur (Massip ve Van der Zwahlen 1984). Daha sonraki çalışmalarda süzkroz + propilen glükol (PG), etilen glükol (EG) gibi farklı kriyoprotektanlar kullanılarak yapılan direkt transferlerde %50-69 gebelik oranları tespit edilmiştir (Suzuki ve ark. 1990; Voelkel ve Hu 1992; Dochi ve ark. 1995). Günümüzde EG ile dondurulan embriyoların direkt transferinin saha koşulları için uygun ve pratik olduğu yaygın olarak kabul görmektedir. Direkt transfer yönteminde transfer öncesi çözündürme solüsyonlarına, embriyoların değerlendirilmesi için deneyimli kişilere ve laboratuvar ortamlarına gereksinim duyulmamaktadır (Dochi 2019).

Embriyo transferinin başarısı; donör ve taşıyıcı hayvan arasındaki senkronizasyon, embriyonun kalitesi, taşıyıcı hayvanların luteal yeterliliği, beslenme ve çevre koşulları gibi birçok parametreye bağlı olarak değişmektedir (Dochi 2019).

Çalışmanın amacı, taşıyıcı düvelere yapılan embriyo transferinde; östrus-ovulasyon zaman aralığı, ovulasyonun meydana geldiği ovaryum tarafı, ovulasyondan sonra transfer gününe kadar geçen zaman aralığı, embriyo aşaması, embriyo pratisyenleri, direkt veya aşamalı çözündürülerek yapılan transferlerin gebelik oranı üzerine etkisini ortaya koymaktır.

## MATERYAL VE METOT

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 17.02.2021 tarih ve 733 sayılı izin alınarak yapılmıştır.

Çalışmanın hayvan materyalini 89 baş düve oluşturdu. İnek ve düvelerden kaynaklanabilecek varyasyonu ortadan kaldırmak için taşıyıcı olarak sadece düveler kullanıldı. Transfer için kullanılan in vivo embriyolar Amerikan Embriyo Transfer Derneği tarafından yetkilendirilmiş iki farklı embriyo pratisyeni (A ve B) tarafından elde edilmiştir. Transfer edilen embriyoların 56 adedi A

pratisyeni, 82 adedi B pratisyeni tarafından elde edilerek dondurulmuştu. Embriyoların 1,5 M EG ile direkt transfere uygun olarak yavaş dondurma yöntemiyle dondurulduğu belgenmiştir. Gebe kalmayanlara tekrar transfer uygulandığı için toplam 138 embriyo transferi yapıldı. Embriyoların 91'i direkt transfer yöntemiyle, 47'si ise aşamalı çözündürülerek yapıldı.

Direkt transfer yönteminde azot tankından alınan payet 10 saniye havada tutulduktan sonra 30 °C'deki su banyosunda 20 saniye bekletildi. Su banyosundan alınan payet kağıt havlu ile kurutulduktan sonra embriyo transfer kateterine yerleştirildi ve embriyo taşıyıcı düveye transfer edildi. Embriyonun azot tankından alındıktan sonra transfer edilmesine kadar geçen zaman aralığının 5 dakikayı aşmamasına özen gösterildi.

Aşamalı çözündürülerek yapılan transfer yönteminde, azot tankından alınan payet 10 saniye havada tutulduktan sonra, 30°C'deki su banyosunda 20 saniye bekletildi. Su banyosundan alınan payet kağıt havlu ile kurutuldu ve payet içeriği 0.3 M süzkroz ve %10 fetal siğir serumu (FBS) içeren Dulbecco'nun fosfat tamponlu solüsyonuna (DPBS) aktarılarak 5 dk bekletildi. Daha sonra embriyo %10 FBS içeren DPBS ve transfer medyumlarında 5'er dk bekletilerek yeni bir payete yüklendi. Payet transfer kateterine yerleştirilerek daha önceden belirlenen taşıyıcı düveye embriyo transfer edildi.

Taşıyıcı düvelerde östrüs klinik gözlemler, uterus tonisitesi ve ovaryumlardaki graff folikülünün ultrason muayenesi ile tespit edildi. Östrüs tespitinden sonra muayeneler ovulasyona kadar günlük tekrarlandı. Graff folikülünün görülmediği gün ovulasyon günü olarak kabul edildi. Östrüs - ovulasyon zaman aralığı; östrüs başlangıç günü ile ovulasyon gününe kadar geçen zaman aralığı olarak belirlendi. Ovulasyondan sonra transfer gününe kadar geçen zaman aralığı; ovulasyon gününden (0. gün) transfer gününe kadar geçen zaman aralığı olarak hesaplandı. Taşıyıcı düvelerde korpus luteumun varlığı ve ovaryum tarafı (sağ-sol), transfer işleminden 1 gün önce belirlendi. Embriyolar korpus luteumun bulunduğu ovaryum tarafındaki kornu uteriye transfer edildi. Düvelerin gebelik muayenesi 30 ve 60. günlerde ultrasonografi ile yapıldı. İlk veya ikinci gebelik muayenesi sırasında embriyo kalp atımının görülememesi, yavru keselerinin bütünlüğünün bozulması, yavru kesesine ait hiperekojen alanın büzüşmesi (regresyona uğraması) ya da tamamen kaybolması embriyonik ölüm veya fetal kayıp olarak kabul edildi.

## İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen veriler Excell programında tablo haline getirildikten sonra Minitab programında Ki-kare testi ile analiz edildi. Testlerin anlamlılık düzeyi için  $P < 0.05$  değeri kabul edildi.

## BULGULAR

Yapılan toplam 138 embriyo transferi sonucunda %58 (n=80) gebelik oranı elde edildi. Östrüs - ovulasyon zaman aralığı, ovulasyonun meydana geldiği ovaryum tarafı, ovulasyondan sonra transfer gününe kadar geçen zaman aralığı, embriyo aşaması, embriyo pratisyeni ve transfer şekli (direkt veya aşamalı) parametrelerine göre gebelik oranları Tablo 1'de verilmiştir. Gebe düvelerde %17.5 (n=14) oranında embriyonik ölüm veya fetal kayıp görüldü. Serviks kateterizasyon işleminin uzamasından (10 ve 17 dk) kaynaklı iki transfer sonucunda gebeliğin şekillenmediği tespit edilmiştir.

**Tablo 1.** Embriyo transferinde çeşitli parametrelere göre gebelik oranları.**Table 1:** Pregnancy rates according to various parameters in embryo transfer.

| Gruplar   | Gebe değil | Gebe | Toplam | Gebelik oranı (%) | P     |
|---|------------|------|--------|-------------------|-------|
| <b>Östrus - ovulasyon zaman aralığı</b>                             |            |      |        |                   |       |
| 1 gün   | 32         | 43   | 75     | 57.3              | >0.05 |
| 2 gün   | 26         | 37   | 63     | 58.7              |       |
| <b>Ovulasyonun meydana geldiği ovayum tarafı</b>                    |            |      |        |                   |       |
| Sağ   | 34         | 51   | 85     | 60.0              | >0.05 |
| Sol   | 24         | 29   | 53     | 54.7              |       |
| <b>Ovulasyondan sonra transfer gününe kadar geçen zaman aralığı</b> |            |      |        |                   |       |
| 5 gün   | 16         | 19   | 35     | 54.3              | >0.05 |
| 6 gün   | 42         | 61   | 103    | 59.2              |       |
| <b>Embriyonun aşaması</b>   |            |      |        |                   |       |
| Morula  | 15         | 27   | 42     | 64.3              | <0.05 |
| Erken blastosist  | 34         | 27   | 61     | 44.3              |       |
| Blastosist  | 9          | 26   | 35     | 74.3              |       |
| <b>Embriyo pratisyeni</b>   |            |      |        |                   |       |
| A   | 28         | 28   | 56     | 50.0              | >0.05 |
| B   | 30         | 52   | 82     | 63.4              |       |
| <b>Transfer şekli</b>   |            |      |        |                   |       |
| Direkt  | 41         | 50   | 91     | 54.9              | >0.05 |
| Aşamalı çözündürme  | 17         | 30   | 47     | 63.8              |       |

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Dondurulan embriyoların taşıyıcı hayvanlara direkt transferi embriyo naklini daha pratik hale getirmektedir. Direkt transfer yöntemi laboratuvar ortamı ve deneyimli personele gereksinimi ortadan kaldırmaktadır. Başka bir deyişle, embriyo transferini suni tohumlama gibi pratik hale getirmektedir. İn vitro veya in vivo üretilen embriyoların ticari boyutu direkt transfer yöntemiyle artmaktadır.

Suni tohumlama veya embriyo transferinin doğru zamanda yapılması için östrus zamanının tespiti önemlidir. Östrus - ovulasyon zaman aralığı bireysel farklılık göstermekte ve gebelik oranlarını etkilemektedir. Suni tohumlama uygulanan ineklerde östrus - ovulasyon zaman aralığının 24 veya 48 saat sürmesi gebelik oranlarını etkilemezken, 48 saatin üzerine çıkması gebelik oranlarını düşürmektedir (Van Eerdenburg ve ark. 2002). Embriyo transferi öncesinde alıcının östrus süresinin gebelik oranlarına etkisi araştırılmamıştır. Çalışmamızda östrus - ovulasyon zaman aralığının 24 veya 48 saat sürmesi gebelik oranlarını etkilememiştir ( $P>0.05$ ).

Transferlerin ovulasyonun olduğu ovaryum tarafındaki kornuya (ipsilateral) yapılmasının, zıt kornuya göre daha yüksek gebelik oranı verdiği bildirilmektedir (Cerbito ve ark. 1994). Korpus luteumun bulunduğu ovaryum tarafı, progesteronun uterusda dağılımını ve korpus luteum fonksiyonunu etkilemektedir (Cerbito ve ark. 1994; Beal ve ark. 1998). Embriyoların sağ veya sol ipsilateral kornuya transfer edilmesinin gebelik oranlarını etkilemediği bildirilmektedir (Alkan ve ark. 2020). Sunulan araştırmanın bulguları da embriyoların sağ veya sol ipsilateral kornuya transferinin Alkan ve ark. (2020)'na benzer şekilde gebelik oranlarını etkilemediğini göstermiştir ( $P>0.05$ ).

Spell ve ark. (2001) taze veya dondurulmuş embriyoların östrus sonrası 6. ya da 7. günde transferinin gebelik

oranlarını etkilemediğini bildirmektedir. Ancak alıcıların donörlerden 12 saat önce kızgınlık göstermesi gebelik oranlarını sayısal olarak arttırmaktadır (Schneider ve ark. 1980; Spell ve ark. 2001). Araştırmacılar östrus sonrası transfer gününe kadar geçen zaman aralığını belirlemesine rağmen ovulasyon takibi yapmamıştır. Spell ve ark. (2001)'ni destekler nitelikte, ovulasyon sonrası 5. veya 6. günde yapılan embriyo transferlerinin, gebelik oranlarını değiştirmediği belirlendi ( $P>0.05$ ).

Süperovulasyon uygulanan donörlerden toplanan embriyoların normal siklustaki embriyolara göre daha hızlı gelişebileceği ve farklı aşamalarda olabileceği bildirilmektedir (Hasler ve ark. 1987). Embriyo transferinde embriyo aşamasının (morula, erken blastosist, blastosist) gebelik oranlarını etkilemediği bildirilmektedir (Spell ve ark. 2001). Çalışmamızda morula ve blastosist aşamasındaki embriyoların transferi sonrası gebelik oranları, erken blastosist aşamasına göre daha yüksek bulundu ( $P<0.05$ ). Erken blastosist aşamasındaki embriyoların transferi sonrası gebelik oranlarının düşük bulunmasının nedeni ortaya konulamamıştır.

Günümüzde embriyo üretimi ticari bir hal almış durumdadır. Embriyo üretiminin ticari bir hal alması farklı embriyo pratisyenleri tarafından embriyoların üretilip satılmasına imkan sağlamaktadır (Hasler 2003). Farklı embriyo pratisyenleri tarafından üretilen embriyoların, transfer sonrası gebelik oranlarının değerlendirildiği bir araştırmaya literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamızda iki farklı embriyo pratisyeni tarafından üretilen embriyoların, transfer sonrası gebelik oranları istatistikî açıdan farklı bulunmadı.

Direkt transferlerde gebelik oranları %39-62.5 arasında değişmektedir (Voelkel ve Hu 1992; Nibart ve Humblot 1997; Kızıl ve ark. 2011; Sanches ve ark. 2016). Çalışmamızda ise direkt transfer sonucunda bulduğumuz %54.9 (50/91) gebelik oranı, diğer araştırmacıların sonuçlarına paralellik göstermektedir. Embriyoların EG

kullanılarak yavaş dondurma ile direkt transfer yöntemine uygun bir şekilde dondurulabildiği kanıtlanmıştır. Direkt transfer yönteminde embriyonun rehidrasyonu payet içerisinde gerçekleşmektedir. Direkt transfer yöntemine uygun yavaş dondurma, prosedürleri standardize hale getirdiğinden daha tutarlı gebelik oranları vermektedir (Kızıl ve ark. 2011; Gomez ve ark. 2020).

Aşamalı çözündürülen embriyoların kriyoprotektandan uzaklaştırılması ve rehidrasyonu işlemi, laboratuvar ortamında gerçekleştirilmektedir. Ismirandy ve ark. (2020) DMSO ile dondurulan in vitro embriyoların, aşamalı çözündürülerek transfer edilmesinde gebelik oranlarını %12.5, Gomez ve ark. (2020) ise EG ile dondurulan embriyoların transferi sonucunda %57 olduğunu bildirir. Çalışmamızda ise, aşamalı çözündürülerek yapılan transferlerde gebelik oranı, Gomez ve ark. (2020)'na benzer bulundu. Embriyolar dondurma sırasında kullanılan kriyoprotektandan etkilenmektedir. Toksikite ve difüzyonu açısından EG'nin en iyi kriyoprotektan olduğu bildirilmektedir (Kasai 1996). Ayrıca in vivo embriyoların kriyotoleransının in vitro embriyolardan daha iyi olduğu bilinmektedir (Fair ve ark. 2001). Gebelik oranlarının Ismirandy ve ark. (2020)'dan yüksek bulunması, araştırmamızda kullanılan embriyoların in vivo olması ve EG'nin DMSO'ya göre üstün olma özelliklerinden kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda direkt ve aşamalı çözündürülerek yapılan transferlerde gebelik oranları istatistiki açıdan farklı bulunmadı ( $P>0.05$ ). Ancak aşamalı çözündürülerek yapılan transferlerde gebelik oranı sayısal olarak artış gösterdi. Bu artışın, aşamalı çözündürülen embriyolarda kriyoprotektanın hızlı uzaklaştırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Direk transferde embriyo transferinin 5 dk içerisinde tamamlanması önerilmektedir. Ancak, bu süre 10 dakikayı aşmamalıdır (Dursun ve ark. 2014). Serviks kataterizasyon süresinin uzaması, embriyonun daha uzun süre kriyoprotektana maruz kalmasına neden olmaktadır. Oda ısısından yüksek sıcaklıklarda kriyoprotektan, embriyolar için daha toksik hale gelebilmektedir (Gordon 2003). Kriyoprotektanın sitotoksik etkisi serviks ısısında daha fazla olduğu için direkt transferlerde sürenin uzaması oransal düşüşe neden olabilmektedir. Direkt transfer işleminin 10 dakikanın üzerine çıkmasının gebelik oranlarını aşırı düşürmesi de bu görüşü desteklemektedir (Dursun ve ark. 2014; Curtis 2015).

Embriyonik ölümler; genetik, stres, yaş, çevresel faktörler, endokrin, beslenme ve kromozom anomalileri gibi birçok nedenden kaynaklanmaktadır (Gordon 2003). İn vitro üretilen embriyolarda kromozom anomalilerinin şekillenmesi embriyonun yavaş gelişmesine ve embriyonik ölümlere neden olmaktadır (Kawarsky ve ark. 1994). Uterusa kan veya vaginal yolla giren spesifik bakteri, virüs ve protozoalar embriyonik ölüm oluşturabilmektedir. Enfeksiyöz etkenler endometritise veya embriyo üzerinde doğrudan sitolitik etkiye neden olarak embriyonik ölümlerin şekillenmesine yol açmaktadır. Ancak, enfeksiyöz nedenler embriyonik ölümlerin %30'luk kısmını oluşturmaktadır (Vanroose ve ark. 2000). Embriyo transfer sonrası embriyonik ölüm oranlarının suni tohumlamaya göre daha fazla olduğu bildirilmektedir (Demetrio ve ark. 2007). İn vitro üretilen embriyoların transferi sonrasında %20-25 allantoik malformasyon oranı görülmektedir. Allantoik malformasyonlar ise embriyonik ölümlere ve fetal kayıplara yol açmaktadır (Peterson ve ark. 2000; Thompson ve Peterson 2000). Embriyo transferi sırasında uterusun irritasyonu, serviks kataterizasyon zorluğu ve sürenin uzaması durumunda

PGF $_{2\alpha}$  salınımı uyarılarak embriyonik ölüm ve fetal kayıplara neden olunabileceği bildirilmektedir (Schrack ve ark. 1993; Purcell ve ark. 2005; Scenna ve ark. 2005). Sanches ve ark. (2016) embriyo transferi sonrası 60. gün gebelik kontrollerinde embriyonik ve fetal kayıp oranları direkt transfer için %13.6 (17/125), aşamalı çözündürülerek yapılan transferlerde ise %13.1 (11/84) olduğunu bildirilmiştir. Çalışmamızda embriyonik veya fetal ölümlere bağlı kayıp oranı, Sanches ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışma sonuçlarıyla paralel bulundu. Embriyo transfer sonrası embriyonik ölümleri azaltmak için GnRH, progesteron veya hCG gibi uygulamalar yapılabilmektedir (Ergene 2011).

Direkt transfer saha koşulları için uygun ve pratik bir yöntem olup laboratuvar ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır. Ancak direkt transferin mümkün olduğunca kısa sürede tamamlanması gerekmektedir. Aşamalı çözündürme ile yapılan transferler zaman problemini ortadan kaldırmaktadır. Fakat çözündürme solüsyonlarına, laboratuvar ortamına ve deneyimli kişilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak; transfer öncesi aktif bir korpus luteumun varlığının tespit edilmesi, direkt transferlerde çözüme işleminden nakilin tamamlanmasına kadar geçen sürenin 5 dakikayı aşmamasına özen gösterilmesi ve teknik olarak varsa transferlerin aşamalı çözündürülerek yapılmasının gebelik oranlarını arttırabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, embriyo transfer sonrası, embriyonik ölüm ve fetal kayıpları azaltan girişimlerin uygulanması da düşünülebilir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## BİLGİLENDİRME VE TEŞEKKÜR

Bu çalışma Cumhurbaşkanlığı Strateji ve Bütçe Başkanlığı & Yüksek Öğretim Kurulu tarafından 2017K12-41003-01 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir

Bu çalışmanın ön verileri Türk Veteriner Jinekoloji Derneği 8. Ulusal ve 2. Uluslararası kongrede sözlü sunu olarak sunulmuş, kongre kitabına özet metin olarak basılmıştır.

## YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: YÇ  
Denetleme/Danışmanlık: YÇ, ŞG, MY  
Veri Toplama ve/veya İşleme: YÇ, ŞG, MY  
Analiz ve/veya Yorum: YÇ, ŞG, MY  
Makalenin Yazımı: YÇ, ŞG, MY  
Eleştirel İnceleme: YÇ, ŞG, MY

## KAYNAKLAR

- Alkan H, Karşahin T, Dursun Ş, Satılmış F, Erdem H, Güler M (2020). Evaluation of the factors that affect the pregnancy rates during embryo transfer in beef heifers. *Reprod Dom Anim*, 55(4), 421-428.
- Beal WE, Hinshaw RH, Whitman SS (1998). Evaluating embryo freezing method and the site of embryo deposition on pregnancy rate in bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 1(49), 241.
- Cerbito WA, Miyamoto A, Ootani M, Torres JF, Sato K (1994). Spatial distribution of progesterone in bovine uterus in relation to corpus luteum location. *J Reprod Dev*, 40, 35.
- Curtis JL (2015). Cattle Embryo Transfer Procedure. I. Edition. K.S. Manhattan, USA
- Demetrio DGB, Santos RM, Demetrio CGB, Vasconcelos JLM (2007). Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*, 90(11), 5073-5082.

- Dochi O (2019)**. Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos and its application in cattle reproduction management. *J Reprod Dev*, 65(5), 389-396.
- Dochi O, Imai K, Takakura H (1995)**. Birth of calves after direct transfer of thawed bovine embryos stored frozen in ethylene glycol. *Anim Reprod Sci*, 38(3), 179-185.
- Dursun Ş, Köse M, Kırbuş M, Bülbül B, Ümütlü S (2014)**. Etilen glikolle direkt transfer metoduna göre dondurulmuş siğir embriyolarının transferinde çözündürme-transfer aralığının gebelik oranı üzerine etkisi. *Eurasian J Vet Sci*, 30(2), 48-52.
- Ergene O (2011)**. İneklere embriyonik yaşamın desteklenmesine yönelik hormonal girişimler. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 8(2), 127-137.
- Fair T, Lonergan P, Dinnyes A, Cottell DC, Hyttel P, Ward FA, Boland MP (2001)**. Ultrastructure of bovine blastocysts following cryopreservation: Effect of method of blastocyst production. *Mol Reprod Dev*, 58(2), 186-195.
- Gadisa M, Furgasa W, Duguma M (2019)**. Review on Embryo Transfer and It's Application in Animal Production. *AJMS*, 1(1), 4-12.
- Gomez E, Carrocera S, Martin D, Perez-Janez JJ, Prendes J, Prendes JM, Vazquez A, Murillo A, Gimeno I, Munoz M (2020)**. Efficient one-step direct transfer to recipients of thawed bovine embryos cultured in vitro and frozen in chemically defined medium. *Theriogenology*, 146, 39-47.
- Gordon I (2003)**. Laboratory production of cattle embryos. Persley GJ (Ed). *Culturing and Evaluating the Early Bovine Embryo* (pp. 112-302). Cromwell Press, Trowbridge.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF, Foote RH (1987)**. Effect of donor-recipient interactions on pregnancy rate in a large - scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27(1), 139-168.
- Hasler JF (2003)**. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Anim Reprod Sci*, 79(3-4), 245-264.
- Hasler JF (2014)**. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology*, 81(1), 152-169.
- Ismirandy A, Sonjaya H, Hasbi H (2020)**. The Outcome of in Vitro Embryo Transfer on Bali Cattle by Utilizing Fresh and Frozen Embryos. *IJSBAR*, 50(1), 200-206.
- Kasai M (1996)**. Simple and efficient methods for vitrification of mammalian embryos. *Anim Reprod Sci*, 42(1-4), 67-75.
- Kawarsky SJ, Hansen PJ, Stubbings RB, Basrur PK, King WA (1994)**. Influence of chromosomal make-up on growth rate of bovine embryos. *BOR*, 50(1), 88.
- Kızıl HS, Akyol N, Kardeşin T, Satılmış M (2011)**. Etilen glikol ile direkt transfer metoduna göre dondurulan in vivo siğir embriyolarının transferi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(5), 721-724.
- Massip A, Van Der Zwalmen P (1984)**. Direct transfer of frozen cow embryos in glycerol-sucrose. *Vet Rec*, 115(13), 327-328.
- Mollo A, Lora M, Faustini M, Romagnoli S, Cairoli F (2007)**. Some factors affecting embryo transfer success in dairy cows. *J Anim Vet Adv*, 6(4), 496-499.
- Nibart M, Humblot P (1997)**. Pregnancy rates following direct transfer of glycerol sucrose or ethylene glycol cryopreserved bovine embryos. *Theriogenology*, 47(1), 371.
- Peterson AJ, McMillan WH, Thompson JG (2000)**. Various allantoic pathologies are associated with malformation of allantoic development of the IVP bovine embryo. In: *Proceedings 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction*, Stockholm, Sweden.
- Purcell SH, Beal WE, Gray KR (2005)**. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. *Theriogenology*, 64(4), 867-878.
- Haji SA (2020)**. Breed, party and frequency of collection influences on quality and quantity of oocytes obtained through ultrasound guided transvaginal follicular aspiration in dairy cattle. M.Sc. Thesis, Addis Ababa University, College of Veterinary Medicine and Agriculture, Department of Clinical Studies, Bishoftu, Ethiopia.
- Sağırkaya H (2009)**. Siğirlerde embriyo transfer uygulaması ve Türkiye açısından önemi. *Uludağ Üniv J Fac Vet Med*, 28(2), 11-20.
- Sanchez BV, Lunardelli PA, Tannura JH, Cardoso BL, Pereira MHC, Gaitkoski D, Basso AC, Arnold DR, Seneda, MM (2016)**. A new direct transfer protocol for cryopreserved IVF embryos. *Theriogenology*, 85(6), 1147-1151.
- Scenna FN, Hockett ME, Towns TM, Saxton AM, Rohrbach NR, Wehrman ME, Schrick FN (2005)**. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. *Prostag Oth Lipid M*, 78(1-4), 38-45.
- Schneider HJ, Castelberry RS, Griffen JL (1980)**. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13(1), 73-85.
- Schrick FN, Inskip EK, Butcher RL (1993)**. Pregnancy rates for embryos transferred from early postpartum beef cows into recipients with normal estrous cycles. *BOR*, 49(3), 617- 621.
- Seidel GE (2007)**. New technologies for reproduction in cattle. In: *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, Billings, Montana.
- Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC (2001)**. Evaluating Recipient and Embryo Factors That Affect Pregnancy Rates of Embryo Transfer in Beef Cattle. *Theriogenology*, 56(2), 287-297.
- Suzuki T, Yamamoto M, Ooe M, Sakata A, Matsuoka M, Nishikata Y, Okamoto K (1990)**. Effect of sucrose concentration used for one-step dilution upon in vitro and in vivo survival of bovine embryo refrigerated in glycerol and 1, 2- propanediol. *Theriogenology*, 34(6), 1051-1057.
- Thompson JG, Peterson AJ (2000)**. Bovine embryo culture in vitro: New developments and post-transfer consequences. *Hum Reprod*, 15(5), 59-67.
- Van Eerdenburg FJCM, Karthaus D, Taverne MAM, Mercis I, Szenci O (2002)**. The relationship between estrous behavioral score and time of ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85(5), 1150-1156.
- Vanroose G, de Kruif A, Van Soom A (2000)**. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Anim Reprod Sci*, 60(61), 131-143.
- Viana J (2019)**. 2018 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Technology Newsletter*, 36(4), 1-26.
- Voelkel SA, Hu YX (1992)**. Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 37(1), 23-37.
- Willadsen S, Polge C, Rowson LEA (1978)**. The viability of deep-frozen cow embryos. *J Reprod Fertil*, 52(2), 391-393.