



Embryo Migration in Mares

Buşra ÖZMEN^{1,a}, İbrahim DOĞAN^{1,b,*}

¹Department of Reproduction and Artificial Insemination, Faculty of Veterinary Medicine, Uludag University, Bursa, Türkiye

*Corresponding author

Review Article

History

Received: 29/04/2024

Accepted: 10/06/2024

ABSTRACT

A number of complex interrelated biological mechanisms exist between the equine embryo and the uterus. In mares, fertilization occurs between the ampulla and isthmus sections of the oviduct, and 5-6 days after ovulation, the embryo crosses the oviduct and comes to the uterus. Prostaglandin E2 and prostaglandin F2 α secreted by the embryo allow the passage of the embryo through the uterotubular junction. The embryonic vesicle is mobile in the uterine lumen from days 9 to 14, and from days 15 to 17 it is fixed in the caudal of the flexure zone between the corpus and any uterine horn, and immediately after which orientation is formed. It provides an operational solution to physicians in the migration of the horse embryo in the uterine lumen and further elucidation of the fixation processes, in cases of twin embryos, which is a chaotic problem in pregnant mares, and in the supervision of reproduction such as intrauterine device applications.

Keywords: Mare, Embryo migration, Mobility, Fixation, Uterus

Kısraklarda Embriyo Migrasyonu

Süreç

Geliş: 29/04/2024

Kabul: 10/06/2024

Copyright



This work is licensed under
Creative Commons Attribution 4.0
International License

ÖZ

At embriyosu ile uterus arasında birbirile ilişkili bir dizi karmaşık biyolojik mekanizma mevcuttur. Kısraklarda fertilizasyon oviduktun ampulla ile istmus bölümleri arasında meydana gelir ve ovulasyondan 5-6 gün sonra embriyo ovidukt kanalını geçerek uterusu gelir. Embriyo tarafından salgılanan prostaglandin E2 ve prostaglandin F2 α uterotubuler kavşaktan embriyonun geçişine izin verir. Embriyonik vezikül uterus lümeninde 9-14. günler arasında mobildir ve 15-17. günler arasında korpus ile herhangi bir kornu uteri arasındaki fleksür bölgesinin kaudalinde sabitlenir ve hemen sonra oryantasyon şekillenir. At embriyosunun uterus lümeninde migrasyonu ve fiksasyon süreçlerinin daha fazla aydınlatılması, gebe kısraklarda kaotik bir sorun olan ikiz embriyo olgularında ve intrauterin cihaz uygulamaları gibi üremenin denetlenmesi konularında hekimlere operasyonel bir çözüm sunar.

Anahtar Kelimeler: Kısrak, Embriyo migrasyonu, Mobilite, Fiksasyon, Uterus

^a busraozmen094@gmail.com

^{id} 0009-0004-2970-7277

^b idogan@uludag.edu.tr

^{id} 0000-0003-1976-1814

How to Cite: Özmen B, Doğan İ (2024) Embryo Migration in Mares, Turkish Veterinary Journal, 6(1): 23-30

Giriş

Kısrakların üreme sistemi, yaşamları boyunca fizyolojik ve endokrinolojik olarak ritmik değişikliklere uğrar ve bu da onları diğer türler arasında benzersiz kılar. Kısraklarda embriyo migrasyonu ve ikiz embriyolar uzun yıllar boyunca birçok araştırmacının dikkatini çeksede bu alandaki birçok konu 1980'lere kadar belirsizliğini korumuştur. Transrektal ultrasonografiyle 1980'lerden sonra kısrakların genital organlarının gerçek zamanlı görüntülenmesi bu alanda pek çok dinamiğin anlaşılmasını sağlasa da (Betteridge, 2000) çoğu fenomen hala aydınlatılamamıştır. Ancak yapılan birçok araştırma sonucunda, günümüzde kısraklarda reproduksiyon artık daha iyi kontrol edilebilmektedir (Ginther, 2021a).

Kısraklarda üremeyi kontrol etmeye yönelik girişimler üreme sezonunun başında veya üreme sezonunda yapılabilir. Üremenin denetlenmesinde hem aşım sezonuna giriş süresini hemde gebelik başına düşen aşım

sayısını azaltmak ve ayrıca embriyo transferinde alıcı ve verici hayvanları senkronize etmek gibi birçok farklı amaç bulunsa da gösteri ve yarış atları için en önemli hedef östrusların baskılanmasıdır (Gradil ve ark., 2021). Bu hedef gerek yarış öncesi gerek yarış esnasında koordinasyonu sağlamak gerekse ovulasyon kaynaklı ağrıyla oluşabilecek topallıkları engellemek amacıyla son derece önemlidir. Bu nedenlerle kullanılan intrauterin cihazlar ve uterus bilyeleri uzun yıllar araştırma konusu olmuştur. Ancak bu uygulamaların temel prensibi, kısraklara özgü bir fenomen olan ve fiksasyona kadar devam eden embriyo hareketliliğini ve sinyallerini taklit etmeleridir (Piotrowska-Tomala ve ark., 2024). Bunlara ek olarak at yetiştiriciliğinde ikiz embriyolar da istenmeyen bir durumdur çünkü hem kısrakta hem de doğan taylarda pek çok soruna neden olur (Ginther, 2022). Bu yüzden kısraklarda ikizliği azaltmak veya önlemek için çeşitli yetiştirme stratejileri geliştirilmiştir (McKinnon ve ark.,

1988). Bu derleme kapsamında kısırlıklarda erken embriyo gelişimi ve hareketliliği, fiksasyon fizyolojisi, ikiz embriyolar konularına değinilecek, ardından ikiz embriyoların manipülasyonu ve östrusun ertelenmesinde intrauterin cihazlar hakkında kısaca bilgi verilecektir.

Embriyonun ovidukt-uterus migrasyonu

Atlarda ovulasyon ve fertilize olan ve olmayan oositlerin taşınması, diğer evcil türlerle karşılaştırıldığında dikkat çeken bazı farklılıklar içerir. Kısırlıklarda ovulasyonu tetikleyen kesin bir hormonal uyarı yoktur. Atlarda preovulatör folikülün çapı 39-45 mm'dir (Pierson ve Ginther, 1985) ve her bir ovaryumdaki ortalama antral folikül sayısı 6,5'tir (Hinrichs, 1991). Diğer türlerden farklı olarak kısırak, belirgin bir luteinize edici hormon (LH) piki yaşamaz (Eser ve ark., 2023); bunun yerine LH konsantrasyonu östrus sırasında pulsatif olarak yükselir ve ovulasyondan 8-10 gün sonra zirveye ulaşır (Aurich, 2011).

Kısırak oositinin ovulasyon sırasındaki maturasyon aşaması uzun yıllar belirsizliğini korumuş ve kısırakların preovulatör foliküllerindeki oositlerin çoğunluğunun metafaz-II aşamasında olduğunun ve primer oositlerin ovule olduğunun belirlenmesiyle durum netlik kazanmıştır (Palmer ve ark., 1987). Kısırlıklarda ovulasyon (0 gün), östrus bitiminden yaklaşık 1-2 gün önce spontan olarak meydana gelir (Aurich, 2011) ve fertilizasyon, canlı bir oosit ve spermatozoonların bulunduğu oviduktun ampulla ile istmusun birleşme yerinde şekillenir (Varışlı, 2023). Kısırak oositlerinin bölünme süreci diğer evcil memelilere benzerdir (Hunter, 1991). Fertilizasyondan sonra at zigotunun ilk bölünmesi ovulasyondan yaklaşık 20 saat sonra gerçekleşir (Meira ve ark., 2012). Sonraki hücre bölünmeleri her 12 saatte bir meydana gelir (Antczak ve Allen, 2021; Özdaş, 2023) ve kısırak embriyosu ovulasyondan 2 ve 3 gün sonra sırasıyla 4-8 ve 8-16 hücre aşamasındadır (Hunter, 1991; Betteridge, 2000). Gebeliğin yaklaşık 4. gününde 12-32 hücreli evreye, 5. veya 6. günde ise kompakt morula veya erken blastosist evresine ulaşır (Antczak ve Allen, 2021; Özdaş, 2023). Morula uterus yıkantı solüsyonlarında gözlenen 32 hücreli embriyo aşamasıdır (Allen ve Wilsher, 2020; Nieto-Olmedo ve ark., 2020).

Kompakt morula veya erken blastosist evresindeki embriyonun oviduktan uterusu göçü gebeliğin 5-6. günler arasında gerçekleşir (Antczak ve Allen, 2021; Hunter, 1991). Kısırak embriyosu ovulasyondan 4 gün sonra hem prostaglandin F2 α (PGF2 α) hem de prostaglandin E2'yi (PGE2) pulsatif olarak salgılar ve bunlar kasları peristaltik olarak uyararak, embriyonun uterotubuler kavşaktan geçişine hem sinyal hem de izin verir ve aynı zamanda önceki östrus döngülerinden dejenere olmuş oositleri de hareket ettirir (Antczak ve Allen, 2021; Budik ve ark., 2021). Böylece, ovulasyon sonrası 4. günden itibaren, at embriyosu kendi ileri geçişinin itici gücü haline gelir ve bu kendiliğinden güdümlü hareketlilik, embriyo uterusu girdikten sonra da hız kesmeden devam eder (Smits ve ark., 2018). Genellikle 6 günlük at embriyoları geç morula veya blastosel boşluğunun geliştiği erken blastosist evresindedir

(Betteridge, 2000). Blastosel boşluğu veya yolk kesesi sıvıyla doludur ve bu yapının sürekli gelişimi, ovulasyondan 9-10 gün sonra ultrasonografi ile gebeliğin erken bir zamanda saptanmasına olanak tanır (Ginther, 2021a,b).

Embriyonik kapsül

Embriyo, gebeliğin yaklaşık 21. gününe kadar trofoblastik veya endometriyal proteolitik enzimlerin dejenerasyonuna katkıda bulunduğu kapsülle sarılıdır. At embriyosunun uterus lümeninde hareketini sürdürebilmesi için esas olan küresel şeklidir ve bu, kapsül ile sağlanır (Jones ve ark., 2020), aksi takdirde embriyonun uterusu yaşama ve hareket etme şansı yoktur (Aurich, 2015). Küresel blastosisti tamamen çevreleyen, zona pellusida (ZP) ile trofoblastik hücreler arasında bulunan ve embriyonun 6. günde uterusu girmesinden hemen sonra oluşmaya başlayan embriyonik kapsül, trofoblast hücreleri tarafından salgılanan yarı saydam bir membrandır (Meira ve ark., 2012). Ayrıca embriyonik kapsül hem embriyonun parçalanmasını hem de endometriyal epitel ile doğrudan teması sayesinde konseptusun uzamasını önler (Geisert ve ark., 2017). Başlangıçta 3 μ m kalınlığında, sert yapıyı önleyen (müsinöz) bir glikoprotein tabakası olan kapsül, daha sonra önemli ölçüde elastikiyet ve esneklik kazanarak embriyonun mobilitesini ve fiksasyonu destekleyen bir ambalaj halini alır. Kapsülün yapısında bu dönüşüm gerçekleşmezse mobilitenin oluşması olası değildir. Esnek ve elastik bir yapıya sahip olan kapsül, embriyonun uterus lümeni boyunca hareket etmesini ve aynı zamanda gebeliğin anne tarafından tanınmasını sağlar (Ginther, 2021a).

Gebeliğin Maternal Kabulü

Kısırta gebeliğin oluşması ve devamı için uterus ile embriyo arasındaki ilişkinin kesintisiz ve tam olması gereklidir. Kısırlıklarda ilk maternal tanınma ovulasyondan 48 saat sonra gerçekleşir ve gebeliğe özgü bir protein olarak tespit edilmiş erken gebelik faktörü (EGF) olarak tanımlanan immünsüpresif bir ajanın üretimi ile ilişkilidir (Hunter, 1991).

Kısırlıklarda ovulasyondan 5-6 gün sonra fertilize oositin ovidukt kanalını geçerek uterusu gelmesi ikinci maternal tanınma olarak kabul edilir (McKinnon ve ark., 1988). Bu dikkat çekici olgunun açıklaması genellikle kısırakların fertil/fertil olmayan oositleri aktif olarak ayırt edebildiği anlamına gelir. Bu iki tip oositin taşınmasının altında yatan mekanizmalar; fertil/fertil olmayan oositlerin zona pellusidalarının farklı yüzey özellikleri sergilemesidir, bu da oviduktta taşınmaları sırasında ayrılmalara neden olur veya embriyo tarafından salgılanan hücresel maddeler veya metabolitler unfertilize oositlerin göçüne yol açar (Hunter, 1991).

Gebe olmayan kısırlıklarda siklusun 13. gününde uterusu salgılanan PGF2 α , sistemik dolaşım yoluyla ovaryuma giderek korpus luteumun (KL) regresyonuna neden olur (Aurich, 2011; Eser ve ark., 2023). Aksine gebelik boyunca PGF2 α sentezi azalır veya kısıtlanır ve böylece KL'dan progesteron (P4) sentezi devam eder (Ginther, 2021a,b). Üçüncü maternal tanınma, uterusu girdikten sonra, sürekli olarak genişleyen ve hala küresel olan embriyonun, miyometriyumun peristaltik

kontraksiyonlarını uyararak için PGF2 α ve PGE2'nin sürekli pulsatil salınımları tarafından yönlendirilerek sonraki 10 gün boyunca tüm uterus lümeni içinde hareket etmeye devam etmesi olarak kabul edilir (Ginther, 2021b). Dahası, embriyonik vezikülün uterus boyunca mobilitesi, endometriyal hücrelere PGF2 α üretimini azaltan sinyal göndererek KL'un prematür regresyonunu önlemektedir. Ancak herhangi bir nedenle mobilite engellenirse KL'un erken luteolizi nedeniyle embriyonun kaybıyla sonuçlanır (McDowell ve ark., 1988). Diğer taraftan, şimdiye kadar hücrel mesajların kısırlarda gebeliğin tanınmasına nasıl yol açtığı belli değildir (Meira ve ark., 2012). Öte yandan, kısırlarda erken gebelik döneminde hem uterusun hem de embriyonun KL'un ömrünü ve salgı fonksiyonunu sağladığı görülmüştür (Silva ve ark., 2005). Embriyo ile anne arasındaki etkileşim ovulasyonu izleyen ilk haftalar boyunca endometrial oksitosin reseptörlerinin düşük konsantrasyonuna ve dolayısıyla uterusun PGF2 α 'nın düşük sentezine bağlıdır. Gebe kısırların uterus lümeninde PGF2 α konsantrasyonları azalmış olsa da bu dönemde hem endometriyum hem de konseptus, PGF2 α sentezler (Stout ve Allen, 2001). Konseptus tarafından üretilen PGF2 α sistemik dolaşıma girmez, uterus lümeni içinde kalır ve bu da embriyo mobilitesi için gerekli olan lokal uterus kontraksiyonlarını uyarır (Gastal ve ark., 1998). Hem konseptus hem de endometriyum PGE2'yi sentezler (Ginther, 2021a) ve konseptus tarafından fazla miktarda sentezlenen PGE2 ovulasyondan sonra 10-16. günler arasında miyometriyal kontraksiyonları indükler (Castro ve ark., 2022). Prostaglandin E2 sentezinin embriyonik diskin karşı kutbu ile sınırlı olduğu ve diskin kutbunda biriken PGE2'nin PGF2 α 'ya dönüştüğü ve bu dönüşümün embriyo hareketinin yönünü etkileyebileceği öne sürülmüştür (Budik ve ark., 2021). Ayrıca genç mobil at embriyosu tarafından salgılanan östrojenler, siklik KL'un ömrünü veya üretkenliğini etkilemez. Östrojen, oksitosin, PGF2 α ve PGE2'nin hepsi miyometriyal kontraksiyonları ve ardından embriyo mobilitesini tetiklemede önemlidir, ancak bunlar gebeliğin anne tarafından tanınması için gerekli sinyaller gibi görünmemektedir (Katila, 2011). Kısırlarda gebeliğin 16-22. günleri arasında iki tür at interferon delta1 ve delta2 (EqIFN- δ 1 ve EqIFN- δ 2) geni tanımlanmıştır. Bu durum, attaki konseptus-anne etkileşimlerinde IFN δ 'nın rol oynadığını düşündürür, ancak bu ifade, gebeliğin anne tarafından fark edildiği zamanın ötesinde ortaya çıkar (Cochet ve ark., 2009). Bu nedenle, kısırta "gebeliğin maternal tanınması" olarak adlandırılan sinyalin başlatılmasında, biyokimyasal metabolitlerden ziyade embriyonik kapsül ile endometriyum arasındaki yani embriyonun trofoblast hücreleri ile endometriyum arasındaki bir tür fiziksel etkileşimin rol oynadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, atlarda "gebeliğin maternal tanınması"nın mekanizması ve etki şekli henüz kanıtlanmamıştır ve şu anda önemli bir araştırma konusudur (Smits et al. 2018).

Embriyonun Ultrasonografik Muayenesi

Kısırların genital organlarının ultrasonografik cihazlarla görüntülenmesi, gebeliğin erken dönemleri

hakkındaki bilgilerimizi güncellemiş, arttırmış ve aynı zamanda ikiz veziküllerin tanısında ve manipülasyonunda çok faydalı olmuştur (Ginther, 2021a). Kısırlarda içi sıvıyla dolu embriyonik vezikülün küresel şeklinin ve boyutunun diğer türlere göre daha büyük olması nedeniyle ultrasonografik görüntüleme ile gebelik ruminantlara göre daha erken teşhis edilir (Meira ve ark., 2012). At embriyosu ultrasonografik olarak, embriyonik vezikülün 2-3 mm çapında olduğu ve ekojenik bir kapsülle çevrelenmiş küresel şekilde gebeliğin 9. gününden itibaren görüntülenir (Ginther, 2021b) ve 9-10. günler arasında genellikle korpus uteride bulunur (Ginther, 1983). Görüntülediği ilk günden fiksasyona kadar, vezikül küresel şeklini korur ve günde ortalama 3,2 mm büyür (Meira ve ark., 2012). Ayrıca gebe ve gebe olmayan kısırlarda uterusun tonusu siklusun 10. gününde artmaya başlarken (Bonafos ve ark., 1994), gebe olmayan kısırlarda siklusun 13. gününde luteolizis nedeniyle azalmaya başlar. Öte yandan, gebe kısırlarda maksimum embriyo hareketliliği boyunca ve fiksasyondan birkaç gün sonra da tonus artmaya devam eder (Ginther, 2021a,b). Embriyo 12. günde 9 mm çapındadır ve kornu uterilere girişi daha fazladır, fiksasyona kadar devam eden maksimum mobilite evresi başlar. Hareketliliğin bitmesinden hemen sonra vezikül küresel şeklini kaybeder ve vezikülün bulunduğu uterusun dorsalinde kalınlaşma oluşur (Aurich ve Budik, 2015; Ginther, 1983).

Embriyonik Vezikülün Fiksasyonu ve Oryantasyonua

Embriyonik vezikülün uterus lümenine sabitlenene (fiksasyona) kadar hareketliliği, tek tırnaklılara özgü bir paradokstur (McKinnon ve ark., 1988); atlar, midilliler ve eşekler arasında ve hatta at embriyosu taşıyan katırlarda bile benzerdir (Ginther, 2021a,b). Embriyo hareketliliği genç (ortalama 6 yaş) kısırlarda yaşlı (15 \geq yaş) kısırlara göre daha fazladır (Ferreira ve ark., 2019) ve benzer durum genç ve yaşlı midilli kısırlar arasında da gözlenir (Carnevale ve Ginther, 1992). Embriyo uterus lümeninde ileri-geri salınımlar ve kısa turlar sergiler ve en sık görülen pozisyon değişiklikleri korpus uteride kraniyal yönde ve kornu uteride kaudal yöndedir (Ginther, 1983). Embriyonun hareket yönüne nasıl karar verdiği bilinmemektedir ancak uterus çapının artması bir seçenek gibi görünmüştür (Ginther, 2021a,b). Hareketliliğe neden olan mekanizma hala bir sırdır, ancak vezikülün küresel şekli ve esnekliği ile endometriyal kıvrımların longitudinal olması hareketliliğe neden olan fiziksel faktörler olarak tanımlanmıştır (Derar ve Ali, 2016). Mobil embriyonun önemli bir işlevi, uterus boyunca metabolitlerin uterusun emilmesi-verilmesi yoluyla embriyonun büyümesini ve gelişmesini destekleyecek uterus ortamını yaratmaktır (Ginther, 2021a).

Ferlilizasyon hangi taraftan olursa olsun at embriyosu, uterus lümeninde sürekli hareket eder ve ovulasyondan 15-17 gün sonra genellikle korpus ile kornu uteri arasındaki fleksürün kaudalinde ya da daha düşük oranda (%7) korpus uteride sabitlenir (Aurich ve

Budik, 2015; Ginther, 2022). Embriyonik vezikülün uterus lümeninde mobilitesini kaybetmesi sabitlenme (fiksasyon) olarak tanımlanır (Ginther, 2021a,b). Konseptus tarafından üretilen fibrinojen spesifik endometrial integrinlere bağlandığında, vezikülün endometriuma yapışmasıyla fiksasyon meydana gelir (Grant ve ark., 2020). Vezikülün sabitlenmesi midillilerde yaklaşık 15. günde, kısrağ ve eşeklerde ise 16. günde gerçekleşir (Ginther, 2021a,b).

At embriyosunun bir kornudan diğer kornu uteriye hareket sayısı saatte 0,5-0,9 kez (günde 12-22 kez) (Ginther, 1983) veya mobilite evresinde yaklaşık 100 kezdir (Leith ve Ginther, 1984). Bu dönemde embriyonik vezikülün çapı ortalama 22 mm'dir (Ginther, 2021a), fiksasyondan önce 2-4 saatten daha kısa aralıklarla uterus içinde hareket eder (Ginther, 1983), 17. günden sonra transuterin göç artık tespit edilmez (McKinnon ve ark., 1988) ve fiksasyon şekillenir. Vezikül, ovulasyondan 16-17 gün sonra uterus tonusunun daha fazla artması, uterus duvarının kalınlaşması ve hızlı büyümesi sonucunda sabitlenir (Ginther, 1983). Aynı zamanda uterus tonusunun daha da artması, vezikülün şeklini değiştirir. Öte yandan vezikülün anormal fiksasyonu veya korpus-kornu uteriler arasında endometriyal kistler gibi dejeneratif lezyonlar gebeliğin devamını olumsuz yönde etkileyebilir (Ferreira ve ark., 2008). Mobil vezikül, fiksasyon bölgesindeki konumunu 2 saat boyunca değiştirmese embriyonun sabitlendiği ve hareketliliğinin sona erdiği kabul edilir (Wilsher ve ark., 2020).

Mobil embriyo, kornu uterilere kıyasla zamanının %50'sinden fazlasını korpus uteride geçirir (Griffin ve ark., 1993). Embriyonun çapı, hareket şekli ve uterusun kontraksiyonları postpartum ve barren (bir önceki sezon gebe kalmamış) kısrağlar arasında benzerdir (Ginther, 1984). Bunun bir istisnası, doğumdan sonra kornu uteriler arasındaki boyut farkının fiksasyonun yönünü belirlemesidir. Postpartum ovulasyon sonrasında kornu uteriler arasında genellikle bir önceki gebeliğin oluşmadığı tarafta fiksasyon meydana gelir ve belirleyici faktör, kornu uterinin diğerine göre daha küçük ve daha kavisli olmasıdır (Griffin ve Ginther, 1991; Ginther, 2021a).

Fiksasyondan bir gün önce vezikül, diğer kornu uteriye göre gelecekte sabitleneceği kornu uteriye daha sık girer ve hareketliliği daha fazla artar. Mobilite aşamasının bitiminden kısa bir süre sonra (15-17. günler arasında), dorsal uterus duvarı genişlemeye ve yolk kesesine doğru ilerlemeye başlar ve artan uterus tonusu bu süreci hızlandırır (Ginther, 2021b). Mobilite fazının sona ermesinden hemen sonra embriyonik vezikülün rotasyonu olarak tanımlanan oryantasyon meydana gelir (Silva ve Ginther, 2005). Böylece embriyonik vezikül, embriyonun bulunduğu kutup mezometrial bağlantının tersi olacak şekilde döndürülür veya yönlendirilir ya da embriyo, yolk kesesinin ventraline doğru hareket eder (Ginther, 2022). Bu durum, endometriyumun dorsal 1/4'ünün daha yoğun bir hipertrofinine ve giderek artan uterus tonusuna neden olur (Derar ve Ali, 2016). Uterus

tonusunun artması, duvarının aşırı kalınlaşması ve veziküle uygulanan basınç, vezikülün dönmeye neden olur; sonunda vezikül yolk kesesinin en kalın kısmı olan ventrale konumlanır (Ginther, 2022).

Mobil embriyo, uterus kontraktilesinin (Griffin ve Ginther, 1991), tonusunun (Bonafos ve ark., 1994), vaskülaritesinin (Silva ve ark., 2005) ve endometriyal ödemin (Griffin ve ark., 1993) artmasına neden olur. Vaskülarite dışındaki (Silva ve ark., 2005) bu uterus fonksiyonları yalnızca embriyonun bulunduğu kornu uteride görülür (Ginther, 2021a). Uterus kontraksiyonları, embriyonun uterotubal kavşaktan korpus uteriye doğru hareket ettiği 6-9. günler arasında artar (Ginther, 1983) ve geçici kontraksiyonlar embriyonun korpus uteriye doğru ilerlemesini sağlar. Uterus kontraksiyonlarının ve tonusunun 10-11. günler arasında artışı, embriyonun korpus uteriden kornu uterilere daha sık girmesine neden olur (Ginther, 2021a,b). Uterus kontraksiyonları 11. veya 12. günde zirveye ulaşır ve 15. güne kadar hem kontraksiyonlar hem de embriyo hareketliliği maksimum düzeyde devam eder ve fiksasyon gününde hem mobilite hem de kontraksiyonlar azalır (Griffin ve Ginther, 1991). Sabitlenmiş embriyonun oryantasyonunda rol oynayan kontraksiyonlar (Ginther, 1998), fiksasyondan sonra birkaç gün daha azalarak devam eder (Griffin ve Ginther, 1991). Sabitlemenin gerçekleşmesi için uterus tonusu gereklidir (Ginther, 2021b). Embriyo korpus uteriye girdikten bir gün sonra kornu uterilerde tonus artmaya başlar ve fiksasyon sonrasında da tonus artışı devam eder (Bonafos ve ark., 1994), bu da embriyonun sabitlendiği alandan ayrılmasını engeller (Ginther, 2021a,b). Fiksasyonun olduğu gün embriyonun bulunduğu tarafta uterus arterinde kan akımı (Ginther, 1984) ve endometriyumda vasküler perfüzyon (Silva ve ark., 2005) daha fazladır ki bu değişiklikler sayesinde Doppler ultrason ile 7-8 gün içerisinde gebelik tanısı konulabilmektedir. Sonuç olarak, embriyo mobilitesi, uterus kontraksiyonlarına, vezikülün küresel şekline, kapsül kaynaklı vezikülün şişkinliğine, yapışmamasına ve uterus kıvrımlarının longitudinal olmasına bağlıdır (Nieto-Olmedo ve ark., 2020).

İkiz Embriyolar

At yetiştiriciliğinde ikizlik genellikle abort, güç doğum, tayların ölü doğması veya yaşama şansının düşük olması, gelişme geriliği ve enfeksiyonlara daha duyarlı olması gibi birçok nedenden dolayı istenmeyen bir durumdur (Crabtree, 2018). İkiz gebelikler, kısrağlarda nonenfeksiyöz abortların nedenleri arasında endometritten sonra ikinci sırada yer alır (McKinnon ve ark., 1988). Kısrağlarda ikiz embriyo oluşumu, ovulasyon oranı, ovulatör model, reproduktif durum, yaş, mevsim, östrus döngüsünün hormonal manipülasyonu ve aygırın etkisi gibi birçok faktöre bağlıdır (Özdaş, 2023; Tan ve Krekeler, 2014). Çoğu türde ikiz embriyolar doğal iki mekanizmanın biri ile gerçekleşir; fertilize bir oositin daha sonraki gelişim aşamalarında kendiliğinden bölünmesi ya da eşzamanlı iki ovulasyonun meydana

gelmesidir (McKinnon ve ark., 1988). Kısırlarda ikizlik genellikle dizigotik olduğundan birinci seçenek göz ardı edilebilir (Crabtree, 2018). Kısırlarda spontan çift ovulasyonlar meydana gelebilir ve olgu iki fenomenle açıklanmıştır; bir günden daha kısa bir sürede her iki ovaryumda senkronize iki ovulasyonun ya da aynı östrus periyodunda 2 ila 10 gün arayla asenkron ovulasyonların meydana gelmesidir (Aurich, 2011). İkinci durumda, P4 konsantrasyonu ikinci ovulasyona kadar yükselmez ve buna bağlı olarak ikinci ovulasyon vaktinde steroidin negatif baskısı henüz oluşmamaktadır. (Okada ve ark., 2020, 2022). Majör foliküler dalgada 28 mm üzerinde iki adet dominant folikülün varlığında çift ovulasyon görülme oranı %40'tır (Aurich, 2011). Ayrıca ovulasyondan sonra bütün oositler, fertilizasyon gününden mobilite ve fiksasyon tamamlanincaya kadar benzer embriyo gelişimi ve gebelik şansına sahiptir (Ginther, 1998).

Kısırlarda ikizlik insidansı kalıtsaldır ve ırklara göre değişkenlik gösterir. Üstelik çift ovulasyon veya ikiz gebelik bazı aile soylarında daha yaygındır. Spontan çift ovulasyon oranı farklı at ırklarında %2-25 arasında değişir (Lebedeva ve Solodova, 2021). Çift ovulasyonların Safkan İngiliz ve İrlanda yük atlarında, Arap ve midillilere göre daha yüksek oranda rastlanması bu duruma örnek olarak gösterilebilir (Tan ve Krekeler, 2014). Ayrıca Barren ve maiden (ilk kez çiftleştirilen) kısırlarda çift ovulasyon ve ikiz gebelik oranları, laktasyondaki kısırlara göre daha yüksektir ve bu durum, laktasyonun hipotalamik-hipofiz eksenine negatif feedback etkisinden kaynaklanır (Ginther, 2021a). İnsan koryonik gonadotropini (hCG) gibi ovulasyon indüksiyon ajanlarının kullanımı, uygulanan dozlara ve uygulama sürelerine bağlı olarak ikizlik insidansını etkileyebilir (Allen ve Wilsher, 2020). Ayrıca üreme sezonunun sonuna doğru çift ovulasyon ve ikizlik insidansı artar (Özdaş, 2023; Tan ve Krekeler, 2014).

Kısırlarda ortalama ikiz gebelik oranı %3,6 olup, bunların %85'i üçüncü trimesterde abortla, %5'i ise ölü doğumla sonuçlanır (Whitwell, 2011). İkiz embriyo taşıyan kısırların %60'ında tek tayın doğumu gerçekleşirken %31'inde her iki embriyonun kaybı ve sadece %9'unda ikiz tay doğumu gözlenir (McKinnon ve ark., 1988). Bu aynı zamanda kısırların ikiz embriyolardan birinin kaybına veya ölümüne yol açan doğal bir biyolojik mekanizmaya sahip olduğunu da gösterir (Ginther, 2022).

Kısırlarda doğal embriyo indirgeme mekanizmasının fiksasyonun başlangıcı (16-17. gün) ile embriyonik evrenin (40. gün) sonu arasında gerçekleştiğini göstermektedir (Ginther, 2021a). Kısırlarda doğal embriyo indirgeme mekanizmasının nasıl oluştuğu tam olarak bilinmese de veziküllerin uterusu sabitlemesiyle ilişkili olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır (McKinnon ve ark., 1988). Kornu uterusunun kaudaline aynı anda iki vezikül sabitletirse, veziküllerden biri beslenme rekabeti nedeniyle redüksiyona uğrayacak, diğer embriyo ise gelişimini sürdürecektir. Öte yandan, veziküllerin fiksasyonu her iki kornu-uterinin kaudalinde birbirinden

ayrı gerçekleşirse, doğal redüksiyon nadirdir (Ginther, 2021a). Bu durum at sahipleri ve hekimler açısından endişe yaratmaktadır. Dolayısıyla ikiz embriyo taşıyan kısırlarda üremenin kontrolüne farklı bir stratejik yaklaşımı gerektirir.

İkiz embriyo gelişen kısırların yetiştirme programından çıkarılmasını önlemek için bazı manipülatif yaklaşımlar önerilmiştir. Diğer seçeneklerle karşılaştırıldığında embriyolardan birinin manuel olarak redüksiyonu günümüzde hekimlerin en çok tercih ettiği yöntemdir (Tan ve Krekeler, 2014). Bu yöntem, parmak/başparmak (Schnobrich ve ark., 2013), transüder ile kompresyonu veya ülkemizdeki tabiri ile 'ikizlik sıkma/ezme' olarak da adlandırılır ve bu uygulamanın gebeliğin 30. gününden önce yapılması gerekir (Lebedeva ve Solodova, 2021; Sielhorst ve ark., 2024).

Ultrasonografik görüntüleme, hekimlerin manuel redüksiyon uygulamasını kolaylaştırmıştır; iki vezikülden birinin işaret parmağı ile başparmak arasına sıkıştırılarak veya transüder ile üzerine baskı uygulanarak erken indirgenmesini sağlayan bir yöntemdir. Ultrason rehberliğinde manuel redüksiyon işleminden önce diğerine göre daha küçük olan vezikül tespit edilir ve daha sonra vezikül kornu uterusunun ucuna doğru yönlendirilerek başparmak ve işaret parmakları ile vezikül üzerine baskı uygulanarak ezilir ve hemen sonra patlama hissi algılanır ya da transüder ile embriyolar birbirinden ayrıştırılır ve daha sonra embriyoya baskı uygulanarak patlatılır ancak bu işlem klinik tecrübe gerektirir (Schnobrich ve ark., 2013; Sielhorst ve ark., 2024).

Eliminasyon metodunda embriyoların birinin veya ikisinin birden yok edilmesi için kısırağa abort yaptırılması, embriyonun aspire edilmesi, kısırağın aç bırakılarak bir veya iki embriyonun rezorbe olmalarının sağlanması, operasyonla abdominal duvardan uterusu ulaşılarak küçük olan embriyonun dışarıya alınması, hormon uygulaması gibi birçok farklı metod bulunmaktadır (Whitwell, 2011). Bu uygulamalardan hangisinin tercih edileceği ise hekimin tecrübesi, kısırağın ve embriyoların durumuna göre değişiklik göstermektedir.

Intrauterin Cihazlar

Embriyo migrasyonu kısırlara özgü bir fenomendir ve bu da gebeliğin şekillendiğini anneye bildirerek lüteolizisi engeller. Bu dönemde embriyo, kapsülünden kaynaklanan yuvarlak yapısını korur. Embriyonun şeklini ve uterus içindeki hareketliliğini taklit etme prensibiyle çalışan uterus bilyeleri ve intrauterin cihazlar kısırlarda östrusu baskılayabilmektedir (Gradil ve ark., 2021). Hem embriyonun yuvarlak şeklini hem hareketliliği taklit ederek endometriyum ile temas halinde olan bu cihazlar PGF2α salınımını engelleyebilmekte ve östrusu baskılayabilmektedir. Ancak yapılan çalışmalar özellikle uterus bilyelerinin kısırlarda piyometra insidansını yükselttiğini ve sadece sağlıklı uterusu olan kısırlara

uygulanması gerektiğini ortaya koymuştur (Piotrowska-Tomala ve ark., 2024). Bu nedenle cihazların kullanımı kısıtlı kalmıştır.

Sonuç

Embriyo-uterus arasındaki dinamik ilişki, kısıraklarda erken gebelik sırasında benzersiz ve spesifik özellikler gösterir. Küresel kısarak embriyosu uterusu girdikten sonra oluşmaya başlayan aselüler bir kapsül ile kuşatılır. Embriyo ve uterus tarafından sentezlenen prostaglandinler (PGF2 α , PGE2) sayesinde uterus kontraksiyonları, embriyoyu fiksasyona kadar tüm uterus boyunca hareket ettirir ve bu sırada uterusu kontraksiyon, tonus, ödem ve vaskülaritede bir dizi değişiklikler gözlenir. Embriyo herhangi bir kornu uterin kaudalindeki fleksürde sabitlenir. Sonuç olarak ultrasonografik görüntüleme, uterus-konseptus arasındaki fizyolojik ilişki düzeyinde birçok konunun daha da netleşmesine olanak sağlamış ve ikiz embriyo manipülasyonu, intrauterin cihaz araştırmaları gibi birçok uygulamaya fırsat yaratmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Kaynaklar

- Allen (Twink), W. R., & Wilsher, S. (2020). Historical aspects of equine embryo transfer. *Journal of Equine Veterinary Science*, 89, 102987. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102987>
- Antczak, D. F., & Allen (Twink), W. R. (2021). Placentation in equids. İçinde Rodney D. Geisert & Thomas Spencer (Eds.), *Placentation in Mammals* (ss. 91-128). Division of Animal Sciences, University of Missouri.
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124(3-4), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.005>
- Betteridge, K. J. (2000). Comparative aspects of equine embryonic development. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 691-702. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00075-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00075-0)
- Bonafos, L. D., Carnevale, E. M., Smith, C. A., & Ginther, O. J. (1994). Development of uterine tone in nonbred and pregnant mares. *Theriogenology*, 42(8), 1247-1255. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90244-D](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90244-D)
- Budik, S., Walter, I., Leitner, M.-C., Ertl, R., & Aurich, C. (2021). Expression of enzymes associated with prostaglandin synthesis in equine conceptuses. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/ani11041180>
- Carnevale, E. M., & Ginther, O. J. (1992). Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, 37(5), 1101-1115. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(92\)90108-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(92)90108-4)
- Castro, T., Jacob, J. C., Domingues, R. R., & Ginther, O. J. (2022). Local embryo-mediated changes in endometrial gene expression during embryo mobility in mares. *Theriogenology*, 182, 78-84. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.032>
- Cochet, M., Vaiman, D., & Lefèvre, F. (2009). Novel interferon delta genes in mammals: cloning of one gene from the sheep, two genes expressed by the horse conceptus and discovery of related sequences in several taxa by genomic database screening. *Gene*, 433(1-2), 88-99. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.11.026>
- Crabtree, J. R. (2018). Management of twins in horses. *In Practice*, 40(2), 66-74. <https://doi.org/10.1136/inp.k181>
- Derar, D.R., & Ali, A. (2016). Conceptual Orientation: A unique phenomenon of the equine pregnancy. *Anatomy & Physiology*, 06(02). <https://doi.org/10.4172/2161-0940.1000200>
- Eser, A., Ak, K., & Mersin, S. (2023). Kısıraklarda reproduktif siklus. İçinde M. K. Soylu, K. Ak, E. Akçay, A. Baran, M. Evecen, & M. B. Tırpan (Eds.), *Hayvanlarda Reproduksiyon, Androloji ve Yardımcı Üreme Teknikleri* (ss. 575-577). Ankara Nobel Tıp Kitabevleri.
- Ferreira, J. C., Linhares Boakari, Y., Sousa Rocha, N., Saules Ignácio, F., Barbosa da Costa, G., & de Meira, C. (2019). Luteal vascularity and embryo dynamics in mares during early gestation: Effect of age and endometrial degeneration. *Reproduction in Domestic Animal*, 54(3), 571-579. <https://doi.org/10.1111/rda.13396>
- Gastal, M. O., Gastal, E. L., Torres, C. A. A., & Ginther, O. J. (1998). Effect of PGE2 on uterine contractility and tone in mares. *Theriogenology*, 50(7), 989-999. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00202-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00202-7)
- Geisert, R. D., Whyte, J. J., Meyer, A. E., Mathew, D. J., Juárez, M. R., Lucy, M. C., Prather, R. S., & Spencer, T. E. (2017). Rapid conceptus elongation in the pig: An interleukin 1 beta 2 and estrogen-regulated phenomenon. *Molecular Reproduction and Development*, 84(9), 760-774. <https://doi.org/10.1002/mrd.22813>
- Ginther, O. J. (1983). Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and embryo attachment in mares. *Theriogenology*, 20(4), 383-395. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(83\)90199-1](https://doi.org/10.1016/0093-691X(83)90199-1)
- Ginther, O. J. (1984). Mobility of twin embryonic vesicles in mares. *Theriogenology*, 22(1), 83-95. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90476-X](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90476-X)
- Ginther, O. J. (1998). Equine pregnancy: Physical interactions between the uterus and conceptus. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, 44, 73-104.
- Ginther, O. J. (2021a). Equine embryo mobility. A friend of theriogenologists. *Journal of Equine Veterinary*

- Science, 106, 103747. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103747>
- Ginther, O. J. (2021b). Equine embryo mobility. A game changer. *Theriogenology*, 174, 131-138. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.08.006>
- Ginther, O. J. (2022). The dynamic equine embryo from postfixation (Day 17) to the end of the embryo stage (Day 40). *Journal of Equine Veterinary Science*, 108, 103808. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103808>
- Gradil, C., Joone, C., Haire, T., Fowler, B., Zinchuk, J., Davies, C. J., & Ball, B. (2021). An intrauterine device with potential to control fertility in feral equids. *Animal Reproduction Science*, 231, 106795. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106795>
- Grant, D. M., Macedo, A., Toms, D., & Klein, C. (2020). Fibrinogen in equine pregnancy as a mediator of cell adhesion, an epigenetic and functional investigation. *Biology of Reproduction*, 102(1), 170-184. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioz157>
- Griffin, P. G., Carnevale, E. M., & Ginther, O. J. (1993). Effects of the embryo on uterine morphology and function in mares. *Animal Reproduction Science*, 31(3-4), 311-329. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90015-J](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90015-J)
- Griffin, P. G., & Ginther, O. J. (1991). Uterine morphology and function in postpartum mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 11(6), 330-339. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)81262-1](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)81262-1)
- Hinrichs, K. (1991). The relationship of follicle atresia to follicle size, oocyte recovery rate on aspiration, and oocyte morphology in the mare. *Theriogenology*, 36(2), 157-168. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(91\)90375-n](https://doi.org/10.1016/0093-691x(91)90375-n)
- Hunter, H. F. (1991). Fertilization in the pig and horse. İçinde Dunbar B.S. & O'Rand M.G. (Eds.), *A Comparative Overview of Mammalian Fertilization* (ss. 329-346). Springer Science+Business Media, LLC.
- Jones, C. J. P., Aplin, J. D., Allen, W. R. T., & Wilsher, S. (2020). The influences of cycle stage and pregnancy upon cell glycosylation in the endometrium of the mare. *Theriogenology*, 154, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.007>
- Katila, T. (2011). Maternal recognition of pregnancy in the horse. *Pferdeheilkunde Equine Medicine*, 27(3), 261-264. <https://doi.org/10.21836/PEM20110309>
- Lebedeva, FL. F., & Solodova, E. V. (2021). Technological approaches to the problem of double ovulation and twin pregnancies in mares. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Leith, G. S., & Ginther, O. J. (1984). Characterization of intrauterine mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology*, 22(4), 401-408. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(84\)90460-6](https://doi.org/10.1016/0093-691x(84)90460-6)
- McKinnon, A. O., Squires, E. L., & Pickett, B. W. (1988). *Equine Reproductive Ultrasonography*. İçinde *Animal Reproduction Laboratory Bulletin No.04* (ss. 11-20). Colorado State University.
- Meira, C., Ferreira, J. C., Silva, E. S. M., & Ignácio, F. S. (2012). Developmental aspects of early pregnancy in mares. *Animal Reproduction*, 9(3), 166-172.
- Nieto-Olmedo, P., Martín-Cano, F. E., Gaitskell-Phillips, G., Ortiz-Rodríguez, J. M., Peña, F. J., & Ortega-Ferrusola, C. (2020). Power Doppler can detect the presence of 7–8 day conceptuses prior to flushing in an equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 145, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.015>
- Okada, C. T. C., Kaps, M., Reichart, U., Walter, I., Gautier, C., Aurich, J., & Aurich, C. (2022). Low plasma progesterone concentration during the early luteal phase delays endometrial development and the beginning of placentation in mares. *Animal Reproduction Science*, 247, 107149. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.107149>
- Okada, C. T. C., Kaps, M., Scarlet, D., Handschuh, S., Gautier, C., Melchert, M., Aurich, J., & Aurich, C. (2020). Low plasma progestin concentration during the early postovulatory phase impairs equine conceptus development in the late preimplantation phase. *Reproduction, Fertility and Development*, 32, 1156-1167.
- Özdaş, Ö. B. (2023). Atlarda embriyo transferi. İçinde M. K. Soylu, K. Ak, E. Akçay, A. Baran, M. Evecen, & M. B. Tirpan (Eds.), *Hayvanlarda Reprodüksiyon, Androloji ve Yardımcı Üreme Teknikleri* (ss. 596-599). Ankara Nobel Tıp Kitabevleri.
- Palmer, E., Duchamp, G., Bezaud, J., Magistrini, M., King, W. A., Bousquet, D., & Betteridge, K. J. (1987). Non-surgical recovery of follicular fluid and oocytes of mares. *Journal of Reproduction and Fertility*, 35, 689-690.
- Pierson, R. A., & Ginther, O. J. (1985). Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. *Theriogenology*, 24(3), 359-368. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(85\)90228-6](https://doi.org/10.1016/0093-691x(85)90228-6)
- Piotrowska-Tomala, K. K., Jonczyk, A. W., Szóstek-Mioduchowska, A., Hojo, T., Żebrowska, E., Katila, T., Ferreira-Dias, G., & Skarzynski, D. J. (2024). Intrauterine devices influence prostaglandin secretion by equine uterus: in vitro and in vivo studies. *BMC Veterinary Research*, 20(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-03889-0>
- Schnobrich, M. R., Riddle, W. T., Stromberg, A. J., & LeBlanc, M. M. (2013). Factors affecting live foal rates of Thoroughbred mares that undergo manual twin elimination. *Equine Veterinary Journal*, 45(6), 676-680. <https://doi.org/10.1111/evj.12074>
- Sielhorst, J., Baade, S., Neudeck, K., Tönissen, A., Rohn, K., Hollinshead, F., & Sieme, H. (2024). Success rates and factors influencing pregnancy outcome after 464 transvaginal ultrasound-guided twin reductions in the mare. *Equine Veterinary Journal*. <https://doi.org/10.1111/evj.14071>
- Silva, L. A., Gastal, E. L., Beg, M. A., & Ginther, O. J. (2005). Changes in vascular perfusion of the

- endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biology of Reproduction*, 72(3), 755-761. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036384>
- Smits, K., Willems, S., Van Steendam, K., Van De Velde, M., De Lange, V., Ververs, C., Roels, K., Govaere, J., Van Nieuwerburgh, F., Peelman, L., Deforce, D., & Van Soom, A. (2018). Proteins involved in embryo-maternal interaction around the signalling of maternal recognition of pregnancy in the horse. *Scientific Reports*, 8(1), 5249. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23537-6>
- Stout, T. A., & Allen, W. R. (2001). Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction (Cambridge, England)*, 121(5), 771-775.
- Tan, D. K. S., & Krekeler, N. (2014). Success rates of various techniques for reduction of twin pregnancy in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245(1), 70-78. <https://doi.org/10.2460/javma.245.1.70>
- Varışlı, Ö. (2023). Kısıraklarda reproduktif anatomi. İçinde M. K. Soylu, K. Ak, E. Akçay, A. Baran, M. Evecen, & M. B. Tırpan (Eds.), *Hayvanlarda Reprodüksiyon, Androloji ve Yardımcı Üreme Teknikleri* (ss. 570-572). Ankara Nobel Tıp Kitabevleri.
- Whitwell, K. E. (2011). Abortion and stillbirths: A pathologist overview. İçinde A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, & D. D. Varner (Eds.), *Equine Reproduction (second, C. 2, ss. 2339-2349)*.
- Wilsher, S., Rigali, F., Kovacsy, S., & Allen, W. T. (2020). Puncture of the equine embryonic capsule and its repair in vivo and in vitro. *Journal of Equine Veterinary Science*, 93, 103194. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103194>