



Tác giả: Vương Tuấn Phong

Đơn vị công tác: Phòng thí nghiệm Sinh sản động vật, trường Thú y, Đại học Hokkaido, Nhật Bản

Email:

[vtphong.spova@vetmed.hokudai.ac.jp](mailto:vtphong.spova@vetmed.hokudai.ac.jp)

Vương Tuấn Phong tốt nghiệp bậc Cử nhân tại Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam (VNUA) với sự hướng dẫn của PGS.TS. Sĩ Thanh Long trong đề tài "Nghiên cứu và sản xuất vòng tâm progesterone trong nâng cao khả năng sinh sản đàn bò sữa". Từ năm 2017 đến 2019, anh là nghiên cứu viên tại Viện nghiên cứu bảo tồn đa dạng sinh học và bệnh nhiệt đới (BIOD), tham gia trong các dự án với mục tiêu ứng dụng công nghệ sinh sản trong phát triển đàn bò sữa tại Việt Nam. Từ năm 2019 anh là nghiên cứu sinh Tiến sĩ tại phòng thí nghiệm Sinh sản gia súc, trường Thú y, Đại học Hokkaido, dưới sự hướng dẫn của GS. Seiji Katagiri trong đề tài nghiên cứu cải thiện khả năng sinh sản trên đàn bò sữa có yếu tố tăng trưởng thượng bì nội tử cung (EGF) thay đổi.

<https://doi.org/10.15625/vap.2021.0025>

## Hội chứng không có chữa sau nhiều lần thụ tinh trên bò sữa và tiềm năng ứng dụng công nghệ protein tái tổ hợp trong điều trị

Vương Tuấn Phong

PTN Sinh sản động vật, trường Thú y, Đại học Hokkaido, Nhật Bản

### TÓM TẮT:

Quản lý sinh sản góp phần quan trọng đảm bảo hiệu quả kinh tế trong ngành chăn nuôi bò sữa; khi đàn bò mang thai đều đặn theo chu kỳ sinh sản (trung bình 12 tháng đẻ một bê); sản lượng sữa, theo lý thuyết, sẽ đạt năng suất tối ưu. Nhưng trong thực tế, sản lượng sữa trên mỗi cá thể tăng nhanh trong những thập kỷ qua đã làm giảm khả năng mang thai thành công của đàn bò. Đặc biệt, sản lượng sữa cao là một trong những yếu tố nguy cơ dẫn tới hội chứng không có chữa sau nhiều lần thụ tinh nhân tạo (repeat breeder syndrome - RBs), gây thiệt hại kinh tế đáng kể cho các trang trại chăn nuôi. Những cá thể bò này, mặc dù vẫn có chu kỳ động dục đều đặn (trung bình 21 ngày/chu kỳ), không phát hiện các bất thường trong đặc điểm giải phẫu cơ quan sinh dục; tuy nhiên, không mang thai sau 3 (hoặc nhiều hơn) lần thụ tinh nhân tạo liên tiếp. Các nghiên cứu trên nhóm bò này cho thấy, bên cạnh sự bất thường trong nồng độ các hormone steroid: progesterone, estradiol (đỉnh nồng độ hình thành sau thời gian gian dài hơn và có giá trị thấp hơn); còn ghi nhận sự thay đổi trong nồng độ của yếu tố tăng trưởng thượng bì nội tử cung (endometrial epidermal growth factor - EGF), một hợp chất chính tham gia điều tiết môi trường tử cung và quá trình phát triển của phôi. Khoảng 70% bò sữa không có chữa sau nhiều lần thụ tinh nhân tạo (bò sữa RB) có nồng độ EGF giảm mạnh vào các ngày 2-4 và 13-14 trong chu kỳ động dục; trong khi đó, đây là thời điểm nồng độ đạt đỉnh trên những bò sữa sinh sản bình thường. Cho tới nay, phòng thí nghiệm Sinh sản động vật, trường Thú y, Đại học Hokkaido đã nghiên cứu và ứng dụng phương pháp điều trị bằng hormone ngoại lai (progesterone kết hợp với estradiol) đem lại kết quả khả quan với 70% bò phục hồi nồng độ EGF và 60% các bò mang thai trở lại. Tuy nhiên, việc sử dụng hormone estradiol trên bò sữa bị hạn chế ở nhiều quốc gia, do những lo ngại liên quan tới sự tồn dư của hormone trong sản phẩm sữa bò. Với những nỗ lực nhằm phát triển các phương pháp điều trị thay thế, nhóm nghiên cứu đã ứng dụng hợp chất seminal plasma (tách chiết từ tinh dịch bò đực) trong điều trị bò sữa RB. Kết quả cho thấy, 60% bò điều trị có nồng độ EGF hồi phục tương đương với bò bình thường và 60% số bò này mang thai trở lại. Quan trọng hơn, nhóm nghiên cứu đang tiếp tục phát triển ứng dụng công nghệ protein tái tổ hợp để sản xuất hợp chất osteopontin, một thành phần trong seminal plasma có triển vọng lớn trong ứng dụng nâng cao khả năng sinh sản của đàn bò sữa.

**Từ khoá:** bò sữa, hội chứng không có chữa sau nhiều lần thụ tinh (repeat breeder syndrome), yếu tố tăng trưởng thượng bì nội tử cung (endometrial epidermal growth factor), seminal plasma, osteopontin

### 1. Hội chứng không có chữa sau nhiều lần thụ tinh (repeat breeder syndrome - RBs) trên bò sữa

Hội chứng không có chữa sau nhiều lần thụ tinh (RBs) xảy ra trên các bò sữa có chu kỳ động dục đều đặn (trung bình 19 - 21 ngày), không có các đặc điểm giải phẫu bất thường hay viêm nhiễm cơ quan sinh dục, nhưng không thể có chữa sau ít nhất 3 lần thụ tinh nhân tạo (TTNT) [1]. Tỷ lệ mắc hội chứng này trên đàn bò sữa tại Nhật là 12% [2], tại Anh là 9% [3], tại Thụy Điển là 10% [4], tại Tây Ban Nha là 25% [5], và tại Mỹ là 22% [6]. Hội chứng RBs gây ra nhiều thiệt hại kinh tế đối với ngành chăn nuôi bò sữa do làm gia tăng chi phí thụ tinh nhân tạo, chi phí nhân công và chi phí phát sinh khi khoảng cách lứa đẻ của bò kéo dài, kéo theo sản lượng sữa giảm.

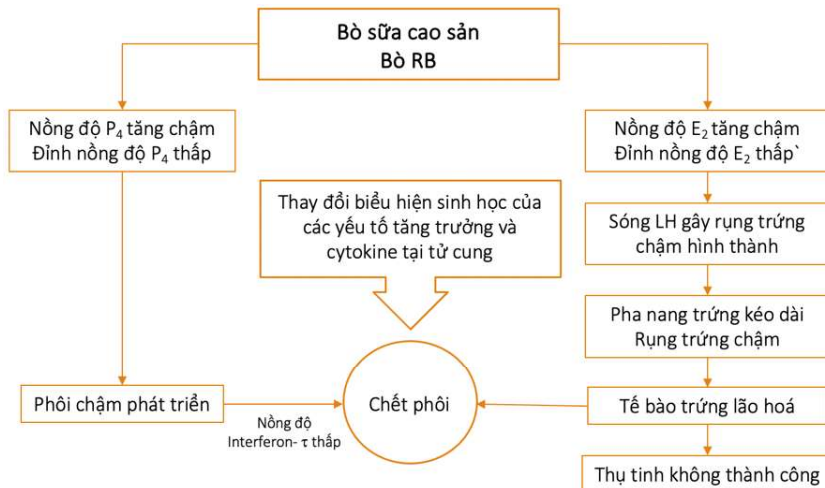
Cho tới nay, nguyên nhân gây ra RBs trên đàn bò sữa được xác định có tính chất đa yếu tố. Ví dụ như khi việc phát hiện động dục không chính xác [7], dẫn tới thụ tinh nhân tạo sai thời điểm hoặc trên những bò chưa động dục. Các nguyên nhân khác như chất lượng tinh trùng và kỹ thuật thụ tinh nhân tạo không chính xác, tình trạng viêm nhiễm của cơ quan sinh dục [8], rối loạn hệ thống nội tiết [9] cũng đã được chứng minh. Mặc dù việc xác định một nguyên nhân cụ thể dẫn tới hội chứng RBs vẫn chưa được làm rõ, nhưng nhiều nghiên cứu đã cho thấy điểm tương đồng trong sự biến đổi nồng độ và hoạt động của hệ nội tiết sinh sản giữa bò sữa RB và bò cao sản [10]. Mối liên quan giữa sự gia tăng sản lượng sữa trên đầu bò với khả năng sinh sản suy giảm được ghi nhận [11], do sản lượng sữa cao sẽ dẫn tới sự thay đổi của các hormone steroid quan trọng đối với quá trình sinh sản như progesterone ( $P_4$ ) và estradiol ( $E_2$ ) [12], khiến cho tỷ lệ có chữa giảm theo và làm gia tăng số lượng bò sữa RB.

### 2. Sự tương đồng trong cơ chế nội tiết sinh sản giữa bò sữa RB và bò sữa cao sản

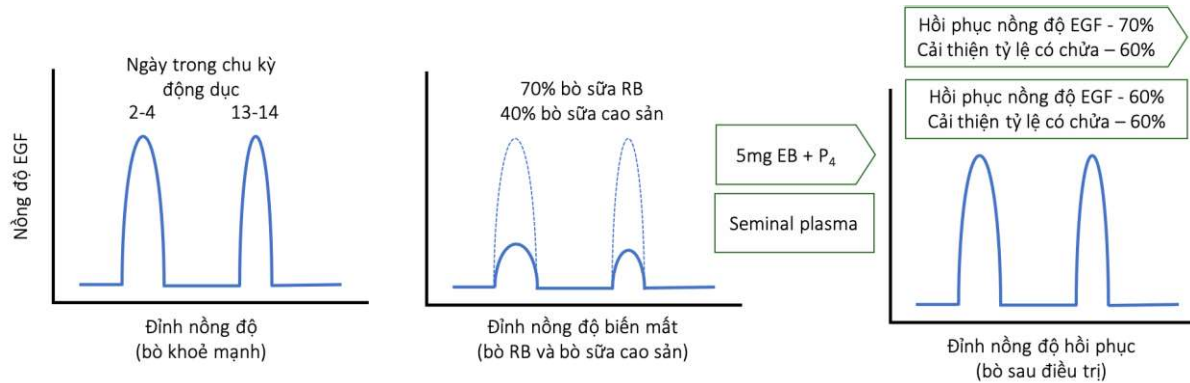
Một trong những nỗ lực nghiên cứu trong sinh sản học nhằm giải thích cho mối liên hệ giữa sự suy giảm tỷ lệ có chữa và sản lượng sữa cao là mô hình về sự gia tăng

chuyển hoá hormone steroid [12, 13]. Bò sữa trong chu kỳ tiết sữa có nhu cầu năng lượng lớn hơn bò cặn sữa; dẫn tới lượng thức ăn thu nhận cao hơn và lưu lượng mạch máu tới gan tăng; sau cùng dẫn tới gia tăng quá trình chuyển hoá của  $E_2$  và  $P_4$ . Điều này khiến cho nồng độ hai hormone này trong cơ thể giảm sút, thậm chí ở thời điểm chúng được tổng hợp nhiều từ nang trứng và thể vàng.

Trong nhiều báo cáo, tỷ lệ chết phôi tăng cao trên bò sữa RB; mặc dù những bò này không tiết nhiều sữa nhưng lại có sự thay đổi trong nồng độ của các hormone steroid tương tự như trên bò cao sản [10]. Các thay đổi đã được nghiên cứu trên bò sữa RB bao gồm sự tăng chậm sau rụng trứng và nồng độ thấp của  $P_4$  [9]; nồng độ  $E_2$  giảm trước và sau khi rụng trứng [14]. Các thay đổi này liên quan tới nguyên nhân dẫn tới chết phôi, như thể vàng thoái hoá sớm [15] và sự không đồng pha giữa môi trường tử cung và giai đoạn phát triển của phôi [10]. Quan trọng hơn, các dữ liệu về nồng độ hormone steroid trên bò gặp vấn đề sinh sản không thống nhất giữa các nghiên cứu, một phần do sự thay đổi của nồng độ  $E_2$ ;  $P_4$  khó phát hiện và thường không có sự khác biệt rõ ràng so với giữa các bò ở trạng thái sinh lý bình thường. Tuy nhiên, sự thay đổi của các hormone steroid này trên bò sữa cao sản và bò sữa RB có thể được khuếch đại, trở nên có thể nhận biết khi đánh giá thông qua sự thay đổi của môi trường tử cung như biểu hiện của các yếu tố tăng trưởng (growth factor) và cytokine - thành phần chủ yếu giúp điều hoà môi trường tử cung đối với phôi đang phát triển [16]. Giả thuyết này cho thấy sự tương đồng với cơ chế chết phôi trên các chuột chưa trưởng thành có hoạt động của insulin-like growth factor (IGF-I) mạnh hơn trong tử cung do nồng độ  $E_2$  tăng cao sau khi gây siêu bài noãn với gonadotropin nhau thai ngựa [17]. Khi hoạt động của IGF-I được bình thường hoá, tỷ lệ thụ tinh thành công được cải thiện. Thay đổi thành phần điện giải trong dịch nội tử cung là một ví dụ của sự thay đổi môi trường tử cung ảnh hưởng tới sự phát triển của phôi sau siêu bài noãn. Và



Hình 1. Cơ chế giải thích nguyên nhân của sự gia tăng tỷ lệ phôi chết do sự thay đổi của nồng độ hai hormone steroid ( $P_4$  và  $E_2$ ) trên bò sữa RB và bò sữa cao sản



**Hình 2.** Mối liên hệ giữa nồng độ EGF nội mạc tử cung và khả năng sinh sản. Nồng độ EGF đạt đỉnh ở các ngày 2-4 và 13-14 với nồng độ thấp hơn ở ngày 7. Sự biến mất của đỉnh nồng độ EGF ở các ngày 2-4 và 13-14 thể hiện sự khác biệt rõ ràng giữa bò sữa RB và bò sữa cao sản so với bò bình thường. Khoảng 70% và 40% bò sữa RB và bò cao sản, có sự thay đổi này. Điều trị với 5mg EB và vòng CIDR giúp phục hồi nồng độ EGF (70%) và khả năng sinh sản (60%) trên bò sữa RB có nồng độ EGF thay đổi. Trong khi đó, với phương pháp seminal plasma, nồng độ EGF và tỷ lệ có chửa lần lượt đạt 60% và 70% trên nhóm bò sữa RB sau điều trị.

đặc biệt, các thành phần điện giải này được điều tiết bởi các hormone steroid từ buồng trứng. Sự thay đổi thành phần điện giải đã được báo cáo và liên quan tới việc gia tăng tỷ lệ phôi chết trên bò sữa RB [18]. Đồng thời, những biến động mang tính chu kỳ của yếu tố tăng trưởng và cytokine có thể là cơ chế tiềm năng làm gia tăng tỷ lệ chết phôi do nồng độ hormone steroid từ buồng trứng bất thường.

### 3. Yếu tố tăng trưởng thượng bì nội tử cung (endometrial epidermal growth factor - EGF) trên bò sữa RB (và bò sữa cao sản)

Yếu tố tăng trưởng thượng bì nội tử cung (EGF) và thụ thể (receptor) của chúng đã được xác định trên nhiều loài động vật khác nhau bao gồm bò [19, 20], cừu [21], và lợn [22]. EGF và các phối tử (ligand) khác có khả năng liên kết với thụ thể EGF, có vai trò quan trọng trong quá trình mang thai [23]. Trong một chu kỳ động dục của bò sinh sản bình thường, nồng độ EGF đạt đỉnh hai lần, vào ngày 2-4 và 13-14 [24]. Các thay đổi của nồng độ EGF ở các thời điểm này đã được phát hiện trên 70% bò sữa RB và kéo dài qua nhiều chu kỳ động dục liên tiếp nếu như con vật không được điều trị [25]. Hơn nữa, sự thay đổi của nồng độ EGF được phát hiện trên 40% (55 trong tổng số 144 bò) và 20% (14 trên 71 bò) bò sữa cao sản (> 10,000kg sữa) trong khoảng thời gian từ ngày 60 - 90 và 90 - 120 sau khi

mang thai. Phần lớn các bò tiết ít hơn 30kg sữa/ngày có nồng độ EGF trong khoảng  $8.7 \pm 1.5$ ng/g mô tử cung (mean  $\pm$  SD), trong khi các bò sản xuất nhiều hơn 45kg sữa/ngày có nồng độ EGF gần bằng hoặc thấp hơn khoảng giới hạn trên ở ngày thứ 3 ( $5.1 \pm 0.4$  ng/g mô tử cung) [10]. Từ các kết quả này có thể nhận thấy rằng sản lượng sữa tăng cao và các đáp ứng sinh lý liên quan có thể đóng vai trò quan trọng dẫn tới sự thay đổi của nồng độ EGF trên bò sữa.

### 4. Phương pháp điều trị lâm sàng giúp phục hồi nồng độ EGF và khả năng sinh sản trên bò sữa RB

Sự thay đổi trong nồng độ EGF có liên quan tới giảm khả năng sinh sản và có thể phát hiện sự thay đổi này trên 70% bò sữa RB và 40% bò sữa cao sản. Cũng như phần lớn các vấn đề sức khỏe trên bò sữa, giải pháp căn bản để giải quyết vấn đề này có thể dựa trên việc tối ưu hoá quy trình quản lý đàn bò, bao gồm dinh dưỡng và điều kiện chuồng trại. Tuy nhiên, việc phát triển một phương pháp điều trị giúp đem lại hiệu quả trong thời gian ngắn là cần thiết không chỉ với tình trạng sức khỏe sinh sản của con vật, mà với cả lợi nhuận của chủ trang trại. Sử dụng hormone steroid ngoại lai để phục hồi nồng độ EGF trên bò sữa RB và bò cao sản có thể là một cách tiếp cận phù hợp, do các hormone này có vai trò điều hoà hoạt động của các yếu tố tăng trưởng nội tử cung, trong đó có EGF. Phòng thí

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của điều trị đối với việc phục hồi nồng độ EGF và tỷ lệ có chửa trên bò sữa RB [26]

Nhóm bò	Số (%) bò với nồng độ EGF sau điều trị	Số (%) bò có chửa	
		TTNT lần 1	Tổng 02 lần TTNT
Đối chứng	Bình thường	4 (13.3)	2 (50.0)
	Thay đổi	26 (86.7)	3 (11.5)
	Tổng	30 (100)	5 (16.7)
Điều trị 1mg EB	Bình thường	9 (30.0)	8 (88.9)
	Thay đổi	21 (70.0)	4 (19.0)
	Tổng	30 (100)	12 (40.0)
Điều trị 5mg EB	Bình thường	20 (66.7)	17 (85.0)
	Thay đổi	10 (33.3)	3 (30.0)
	Tổng	30 (100)	20 (66.7)



nghiệm Sinh sản gia súc, trường Thú y, đại học Hokkaido đã phát triển một phương pháp điều trị dựa trên estradiol benzoate (EB) liều cao và vòng tâm progesterone đặt âm đạo (CIDR). Đầu tiên, các bò sữa RB có nồng độ EGF thấp ở ngày 3 và 14 được điều trị với 1, 2.5 và 5 mg EB vào ngày đặt và PGF<sub>2α</sub> vào ngày rút vòng CIDR. Phương pháp điều trị trên bò sữa RB với 5 mg EB cho kết quả tương đương về nồng độ EGF với nhóm bò đối chứng tiêm 1mg EB trong 48h đầu tiên sau điều trị. Mặt khác, điều trị với 1 và 2.5 mg EB không cho thấy sự thay đổi trong nồng độ EGF. Trên nhóm bò sữa RB điều trị với 5mg EB cho thấy khả năng bò phục hồi nồng độ EGF đạt 66.7% và tỷ lệ có chữa đạt 66.7% sau 2 lần TTNT. Quan trọng hơn, bò ở cả hai nhóm 1 và 5 mg EB, có nồng độ EGF phục hồi sau điều trị đạt tỷ lệ có chữa cao hơn những cá thể có nồng độ EGF không thay đổi [26]. Các nghiên cứu này một lần nữa khẳng định mối liên hệ giữa nồng độ EGF và khả năng sinh sản của bò.

Bên cạnh các nghiên cứu đã thực hiện về hiệu quả khi ứng dụng hormone steroid trong điều trị bò sữa có nồng độ EGF thay đổi, các phương pháp thay thế cũng đang được nghiên cứu, do việc điều trị với liều cao EB kết hợp CIDR có thể bị hạn chế sử dụng trên đàn bò sữa tại một số khu vực. Seminal plasma (SP) là một thành phần trong tinh dịch của động vật trong quá trình giao phối tự nhiên, đã cho thấy khả năng cải thiện hiệu quả sinh sản bằng cách điều hoà chức năng và môi trường tử cung trên lợn và ngựa [27, 28]. Trên lợn, tỷ lệ có chữa và số lợn con trên lứa đẻ cao hơn trên những lợn mái được thụ tinh nhân tạo cùng với SP [29]. Tử cung những lợn được tác động bởi SP giúp tăng tỷ lệ phôi sống từ 77% lên 91% (so sánh giữa nhóm sử dụng phosphate-buffered saline, PBS với SP), trong quy trình thụ tinh vào ngày 5 và ngày 9 [30]. Trên ngựa, SP làm giảm số lượng tinh trùng kết dính với tế bào bạch cầu đa nhân sau khi TTNT [28]. Những nghiên cứu này cho thấy triển vọng sử dụng trên bò nhằm đánh giá khả năng điều hoà môi trường tử cung, trong đó có EGF.

Kết quả thử nghiệm bước đầu SP trên đàn bò sữa RB có nồng độ EGF thay đổi cho thấy, tỷ lệ phục hồi nồng độ EGF trên những bò được điều trị với SP cao hơn so với nhóm đối chứng (58.3% so với 22.6%,  $P < 0.05$ ). Trên những bò khoẻ mạnh, sau khi điều trị với SP không cho thấy sự thay đổi trong nồng độ EGF ở cả hai ngày 3 và 14. Tỷ lệ có chữa sau điều trị với SP ở nhóm bò thí nghiệm cao hơn so với nhóm đối chứng (44.4% so với 19.4%,  $P < 0.05$ ). Trong nhóm những bò được điều trị với SP, tỷ lệ có chữa ở nhóm bò có nồng độ EGF phục hồi vượt trội hơn so với nhóm không phục hồi (61.9% so với 20.0%,  $P < 0.05$ ) [31]. Với những kết quả nghiên cứu bước đầu này cho thấy SP có khả năng giúp nâng cao khả năng sinh sản trên những bò sữa RB hay bò sữa cao sản.

## 5. Triển vọng ứng dụng công nghệ protein tái tổ hợp trong phục hồi khả năng sinh sản trên bò sữa RB

Mặc dù vẫn tồn tại một số hạn chế, việc ứng dụng protein tái tổ hợp trong khoa học động vật đã tăng đáng kể trong thập kỷ vừa qua. Nếu thử nhìn vào danh sách những lĩnh vực đang áp dụng công nghệ này, có thể thấy rằng hệ thống nội tiết nhận được sự quan tâm lớn [32-34]. Thực tế, đã có một số sản phẩm hormone tái tổ hợp được thương mại hoá và nhiều nhóm nghiên cứu đang nỗ lực phát triển các phương pháp ứng dụng để nâng cao khả năng sinh sản của đàn gia súc [35]. Các hormone sinh sản này có vai trò chủ chốt trong quá trình điều hoà chức năng sinh sản của cả gia súc đực và gia súc cái. Follicle stimulating hormone (FSH) và luteinizing hormone (LH) là các gonadotropins được tiết ra bởi thùy trước tuyến yên dưới tác động của gonadotropin releasing hormone (GnRH) từ tuyến dưới đồi [36]. Các glycoprotein này, cùng với chorionic gonadotropin (CG) được tiết từ nhau thai của loài linh trưởng và ngựa, được sử dụng trong gây siêu bài noãn trên gia súc cái hay kích thích quá trình sinh tinh (spermatogenesis) và tổng hợp testosterone trên con đực. Ngoài ra, inhibin, được tiết bởi tuyến sinh dục của cả con cái và con đực, có vai trò rất quan trọng trong quá trình phản hồi ngược tới thùy trước tuyến yên nhằm kiểm chế quá trình tổng hợp gonadotropin cũng như hoạt tính sinh học của chúng.

Hiện nay, các hormone được sử dụng phổ biến nhất trong quy trình quản lý sinh sản chủ yếu được tinh sạch từ nguồn động vật như tuyến yên. Quy trình này gặp phải một số vấn đề như: 1) sự không đồng nhất giữa chất lượng các sản phẩm dẫn tới đáp ứng siêu bài noãn thay đổi trên động vật sử dụng [37], 2) độ tinh sạch hạn chế do sự tạp nhiễm của các loại hormone khác [38] và 3) khả năng chứa các yếu tố truyền nhiễm bệnh [39]. Chính vì vậy, việc phát triển và ứng dụng một phương pháp sản xuất trên quy mô lớn với độ tinh sạch cao là hoàn toàn cần thiết. Và, công nghệ protein tái tổ hợp hoàn toàn có thể giải quyết các vấn đề trên, thậm chí liều lượng hormone tái tổ hợp sử dụng để đem lại đáp ứng sinh học tương đương, còn thấp hơn so với các sản phẩm có nguồn gốc từ động vật, điều này cũng góp phần giải quyết những lo lắng về vấn đề tồn dư hormone trong sản phẩm có nguồn gốc từ động vật [40].

Osteopontin là một thành viên của gia đình protein SIBLING (small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein); một đơn phân có độ dài từ 264 - 301 amino acids; trải qua các quá trình biến đổi sau phiên mã như phosphorylation, glycosylation, và phân tách; khiến cho khối lượng phân tử dao động từ 25 - 75kDa [41]. OPN bò chứa một vị trí phân cắt thrombin, một vị trí liên kết calcium và gắn với nhiều integrin thông qua chuỗi amino acid RGD cho phép OPN tham gia quá trình kết dính tế bào và liên lạc nội bào [42].

Trên bò, osteopontin được phát hiện trong rất nhiều mô tế bào và dịch thể, như sữa [43], nội bì tử cung [44] hay ống dẫn trứng [45]. Ngoài ra, OPN đã được phát hiện trong seminal plasma của bò đực Holstein, với đồng phân 55kDA cho thấy mối liên quan tới khả năng sinh sản [46]. Các quá trình glycosylation, phosphorylation và sulfatation hay biểu hiện di truyền như biến đổi sau dịch mã của OPN mang tính đặc hiệu mô bào và được điều hoà bởi các hormone và yếu tố tăng trưởng [42].

Phân tích Western blot cho thấy rằng OPN xuất hiện trong màng plasma tinh trùng sau khi xuất tinh và tại mào tinh hoàn, dịch đuôi mào tinh hoàn (cauda epididymal fluid) và nhu mô tinh hoàn (testicular parenchyma). Sự có mặt của OPN có thể đóng vai trò quan trọng trong: 1) điều hoà nồng độ calcium của tinh trùng và trong dịch hoàn, ngăn ngừa tác động xấu của calcium tới khả năng sống và thụ tinh của tinh trùng; 2) thúc đẩy quá trình liên kết trứng - tinh trùng và hoạt hoá tế bào trứng, bằng việc liên kết với integrin của tế bào trứng; 3) tương tác với thụ thể CD44 trên tế bào trứng bò trong quá trình thụ tinh giúp hỗ trợ việc kết dính và tín hiệu tế bào; và 4) ức chế quá trình đa tinh theo con đường tương tác với màng plasma của tế bào trứng [47].

Với những kết quả ban đầu thu được từ việc ứng dụng seminal plasma trong phục hồi nồng độ EGF và khả năng sinh sản trên đàn bò sữa RB; cùng những nghiên cứu cho thấy vai trò của osteopontin như một thành phần trong seminal plasma đối với quá trình sinh sản, chúng tôi giả thuyết trong hướng nghiên cứu tiếp theo rằng 1) osteopontin có khả năng phục hồi nồng độ EGF trên bò sữa RB; 2) những bò có nồng độ EGF được phục hồi sẽ có đạt tỷ lệ có chửa cao hơn và 3) osteopontin có thể được sản xuất trên quy mô lớn với công nghệ protein tái tổ hợp, góp phần giảm thiểu việc sử dụng hormone ngoại lai trong quy trình quản lý sinh sản ở đàn bò sữa RB (và/hoặc bò sữa cao sản).

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Dochi, O., et al., *The use of embryo transfer to produce pregnancies in repeat-breeding dairy cattle*. 2008. **69**(1): p. 124-128.
- [2] Yusuf, M., et al., *Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds*. Theriogenology, 2010. **73**(9): p. 1220-9.
- [3] Bulman, D.C. and G.E. Lamming, *Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows*. J Reprod Fertil, 1978. **54**(2): p. 447-58.
- [4] Gustafsson, H. and U. Emanuelson, *Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle*. Acta Vet Scand, 2002. **43**(2): p. 115-25.
- [5] Garcia-Ispuerto, I. and F. Lopez-Gatius, *Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing dairy cows*. Theriogenology, 2017. **90**: p. 20-24.
- [6] Bartlett, P.C., J.H. Kirk, and E.C. Mather, *Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact*. Theriogenology, 1986. **26**(3): p. 309-22.
- [7] Pursley, J.R., R.W. Silcox, and M.C. Wiltbank, *Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows*. J Dairy Sci, 1998. **81**(8): p. 2139-44.
- [8] Moss, N., et al., *Risk factors for repeat-breeder syndrome in New South Wales dairy cows*. Prev Vet Med, 2002. **54**(2): p. 91-103.
- [9] Bage, R., et al., *Repeat breeding in dairy heifers: follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns*. Theriogenology, 2002. **57**(9): p. 2257-69.
- [10] Katagiri, S. and M. Moriyoshi, *Alteration of the endometrial EGF profile as a potential mechanism connecting the alterations in the ovarian steroid hormone profile to embryonic loss in repeat breeders and high-producing cows*. J Reprod Dev, 2013. **59**(5): p. 415-20.
- [11] Lonergan, P., et al., *Embryo development in dairy cattle*. Theriogenology, 2016. **86**(1): p. 270-7.
- [12] Wiltbank, M., et al., *Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism*. Theriogenology, 2006. **65**(1): p. 17-29.
- [13] Sangsritavong, S., et al., *High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17beta in dairy cattle*. J Dairy Sci, 2002. **85**(11): p. 2831-42.
- [14] Shelton, K., et al., *Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows*. J Reprod Fertil, 1990. **90**(1): p. 1-10.
- [15] Sreenan, J.M. and M.G. Diskin, *Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration*. Vet Rec, 1983. **112**(22): p. 517-21.
- [16] Brigstock, D.R., *Growth factors in the uterus: steroidal regulation and biological actions*. Baillieres Clin Endocrinol Metab, 1991. **5**(4): p. 791-808.
- [17] Katagiri, S., Y.S. Moon, and B.H. Yuen, *The role for the uterine insulin-like growth factor I in early embryonic loss after superovulation in the rat*. Fertil Steril, 1996. **65**(2): p. 426-36.
- [18] Ayalon, N., *A review of embryonic mortality in cattle*. J Reprod Fertil, 1978. **54**(2): p. 483-93.
- [19] Ohtani, S., et al., *Immunohistochemically-determined changes in the distribution of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and epidermal growth factor (EGF) in the bovine endometrium*

- during the estrous cycle. *J Vet Med Sci*, 1996. **58**(12): p. 1211-7.
- [20] Kliem, A., et al., *Epidermal growth factor receptor and ligands in elongating bovine blastocysts*. *Mol Reprod Dev*, 1998. **51**(4): p. 402-12.
- [21] Tamada, H., et al., *Epidermal growth factor (EGF) in the goat uterus: immunohistochemical localization of EGF and EGF receptor and effect of EGF on uterine activity in vivo*. *Theriogenology*, 2000. **54**(1): p. 159-69.
- [22] Kennedy, T.G., K.D. Brown, and T.J. Vaughan, *Expression of the genes for the epidermal growth factor receptor and its ligands in porcine oviduct and endometrium*. *Biol Reprod*, 1994. **50**(4): p. 751-6.
- [23] Paria, B.C., H. Song, and S.K. Dey, *Implantation: molecular basis of embryo-uterine dialogue*. *Int J Dev Biol*, 2001. **45**(3): p. 597-605.
- [24] Katagiri, S. and Y. Takahashi, *Changes in EGF concentrations during estrous cycle in bovine endometrium and their alterations in repeat breeder cows*. *Theriogenology*, 2004. **62**(1-2): p. 103-12.
- [25] Katagiri, S. and Y. Takahashi, *Potential relationship between normalization of endometrial epidermal growth factor profile and restoration of fertility in repeat breeder cows*. *Anim Reprod Sci*, 2006. **95**(1-2): p. 54-66.
- [26] Katagiri, S. and Y. Takahashi, *A progestin-based treatment with a high dose of estradiol benzoate normalizes cyclic changes in endometrial EGF concentrations and restores fertility in repeat breeder cows*. *J Reprod Dev*, 2008. **54**(6): p. 473-9.
- [27] Gooneratne, A.D. and P.A. Thacker, *Effect of intrauterine infusion of sperm antigens on gilt fertility*. *Theriogenology*, 1989. **31**(6): p. 1221-6.
- [28] Alghamdi, A.S., D.N. Foster, and M.H.T. Troedsson, *Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri*. *Reproduction*, 2004. **127**(5): p. 593-600.
- [29] Rozeboom, K.J., et al., *The importance of seminal plasma on the fertility of subsequent artificial inseminations in swine*. *J Anim Sci*, 2000. **78**(2): p. 443-8.
- [30] O'Leary, S., et al., *Seminal plasma regulates endometrial cytokine expression, leukocyte recruitment and embryo development in the pig*. *Reproduction*, 2004. **128**(2): p. 237-47.
- [31] Badrakh, D., et al., *Effect of seminal plasma infusion into the vagina on the normalization of endometrial epidermal growth factor concentrations and fertility in repeat breeder dairy cows*. *J Reprod Dev*, 2020. **66**(2): p. 149-154.
- [32] Bo, G.A. and R.J. Mapletoft, *Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle*. *Theriogenology*, 2014. **81**(1): p. 38-48.
- [33] Diskin, M.G., E.J. Austin, and J.F. Roche, *Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle*. *Domest Anim Endocrinol*, 2002. **23**(1-2): p. 211-28.
- [34] Jennings, M.W., et al., *The efficacy of recombinant equine follicle stimulating hormone (reFSH) to promote follicular growth in mares using a follicular suppression model*. *Anim Reprod Sci*, 2009. **116**(3-4): p. 291-307.
- [35] Gifre, L., et al., *Trends in recombinant protein use in animal production*. *Microbial Cell Factories*, 2017. **16**(1).
- [36] Cahoreau, C., D. Klett, and Y. Combarnous, *Structure-function relationships of glycoprotein hormones and their subunits' ancestors*. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2015. **6**: p. 26.
- [37] Murphy, B.D., et al., *Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response*. *Theriogenology*, 1984. **21**(1): p. 117-125.
- [38] Koning, W.J.D., et al., *Recombinant Reproduction*. *Bio/Technology*, 1994. **12**(10): p. 988-992.
- [39] Hesser, M.W., J.C. Morris, and J.R. Gibbons, *Advances in recombinant gonadotropin production for use in bovine superovulation*. *Reprod Domest Anim*, 2011. **46**(5): p. 933-42.
- [40] Meyers-Brown, G.A., et al., *Superovulation in Mares Using Recombinant Equine Follicle Stimulating Hormone: Ovulation Rates, Embryo Retrieval, and Hormone Profiles*. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2010. **30**(10): p. 560-568.
- [41] Fisher, L.W., et al., *Flexible structures of SIBLING proteins, bone sialoprotein, and osteopontin*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001. **280**(2): p. 460-5.
- [42] Denhardt, D.T. and X. Guo, *Osteopontin: a protein with diverse functions*. *FASEB J*, 1993. **7**(15): p. 1475-82.
- [43] Sørensen, E.S. and T.E. Petersen, *Purification and characterization of three proteins isolated from the proteose peptone fraction of bovine milk*. *J Dairy Res*, 1993. **60**(2): p. 189-97.
- [44] Kimmins, S., H.C. Lim, and L.A. MacLaren, *Immunohistochemical localization of integrin alpha V beta 3 and osteopontin suggests that they do not interact during embryo implantation in ruminants*. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2004. **2**(1): p. 19.
- [45] Gabler, C., D.A. Chapman, and G.J. Killian, *Expression and presence of osteopontin and integrins in the bovine oviduct during the oestrous cycle*. *Reproduction*, 2003. **126**(6): p. 721-9.



- [46] Cancel, A.M., D.A. Chapman, and G.J. Killian, *Osteopontin localization in the Holstein bull reproductive tract*. Biol Reprod, 1999. **60**(2): p. 454-60.
- [47] Erikson, D.W., et al., *Detection of osteopontin on Holstein bull spermatozoa, in cauda epididymal fluid and testis homogenates, and its potential role in bovine fertilization*. Reproduction, 2007. **133**(5): p. 909-917.