

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Văn Hạnh

**NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỘNG CỦA
GLYCOPROTEIN THỜI KỲ CÓ CHỮA VÀ
LACTOGEN NHAU THAI Ở TRÂU ĐÀM LẦY
VIỆT NAM (*BUBALUS BUBALIS*)**

Chuyên ngành: Mô - Phôi và Tế bào học

Mã số: 62.42.30.20

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội – 2010

Công trình được hoàn thành tại:

**Trường Đại học Khoa học Tự nhiên
Đại học Quốc gia Hà Nội**

Người hướng dẫn khoa học:

Hướng dẫn chính: TS. Bùi Xuân Nguyên

Hướng dẫn phụ: GS.TS. Jean Francois Beckers

Phản biện 1: PGS.TS. Phan Văn Chi

Phản biện 2: PGS. TS. Trần Tiến Dũng

Phản biện 3: PGS. TS. Trịnh Xuân Hậu

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng cấp Nhà nước chấm luận
án tiến sĩ họp tại: Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên –
ĐHQG Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi – Thanh Xuân – Hà Nội.
Vào hồi 14 giờ 00 ngày 05 tháng 03 năm 2010.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Trung tâm Thông tin – Thư viện, Đại học Quốc gia Hà nội

MỞ ĐẦU

Việt Nam là nước có nền kinh tế nông nghiệp (nguồn thu chủ yếu từ trồng trọt và chăn nuôi) và khoảng 60,5% lao động hoạt động trong lĩnh vực nông nghiệp. Sản lượng chăn nuôi chiếm khoảng 18,6% tổng sản phẩm nội địa (GDP) của Việt Nam. Đàn gia súc được chăn nuôi ở Việt Nam hiện chiếm khoảng 20% đàn trâu, 13% đàn bò và 5% đàn dê của các nước Đông Nam Á. Kỹ thuật thụ tinh nhân tạo, vốn đã được phổ biến ở bò nhưng chỉ được áp dụng rất hạn chế ở trâu. Tỷ lệ chết phôi ở trâu sau khi gây động dục đồng pha và thụ tinh nhân tạo cao từ 22,9 đến 49%. Đây là nguyên nhân chính làm cho tỷ lệ sinh sản ở trâu thấp và khoảng cách giữa hai lứa đẻ bị kéo dài. Gần đây, các protein giai đoạn mang thai đã được nghiên cứu và đã có những ứng dụng hiệu quả trong chẩn đoán mang thai và đánh giá trạng thái phát triển của thai trên bò, dê và cừu. Tuy nhiên, đối với trâu đầm lầy nói chung và trâu được chăn nuôi trong điều kiện Việt Nam nói riêng lĩnh vực này vẫn cần được nghiên cứu.

Mục tiêu của luận án:

Mục tiêu chung của luận án này là đánh giá khả năng áp dụng phương pháp định lượng hormone PAG và lactogen trên trâu đầm lầy Việt Nam nhằm mục đích chẩn đoán có chửa sớm và cung cấp thông tin về biến động của hormone này trong quá trình mang thai. Kết quả nghiên cứu về protein hormone thời kỳ có chửa và biểu hiện của chúng ở trâu là một đóng góp quan trọng liên quan đến kiến thức cơ bản của sinh sản trâu đầm lầy. Ngoài ra, luận án cũng nghiên cứu kết hợp việc áp dụng chẩn đoán mang thai sớm với các kỹ thuật gây động dục đồng loạt nhằm rút ngắn khoảng cách hai lứa đẻ và tăng hiệu quả kinh tế trong chăn nuôi trâu.

Nội dung nghiên cứu:

Luận án được thực hiện nhằm đạt các nội dung sau:

1. Hiểu được các mối quan hệ giữa các chỉ số đo kích thước thai: chiều dài, chu vi của đầu, thân, dài chân...trong quá trình phát triển của thai ở trâu đầm lầy.
2. Cung cấp thông tin về hàm lượng protein thời kỳ có chửa (PAG) trong huyết thanh trâu mẹ, thai, dịch ối, dịch niệu của trâu đầm lầy tại các thời điểm mang thai khác nhau. Tạo lập phương pháp ELISA cho định lượng PAG ở trâu đầm lầy Việt Nam.
3. Thu thập thông tin về hàm lượng lactogen nhau thai trong huyết thanh trâu mẹ, thai, dịch ối, dịch niệu, và nước tiểu trâu mẹ trong quá trình mang thai.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án:

Kết quả nghiên cứu của luận án không chỉ bổ sung những thông tin khoa học quan trọng liên quan đến sự phát triển trước sinh và biến động của hai hocmon protein quan trọng ở trâu đầm lầy mà còn mở ra khả năng ứng dụng những kết quả này vào việc nâng cao năng suất sinh sản trong chăn nuôi trâu. Ứng dụng thành công các kết quả nghiên cứu này góp phần hỗ trợ người chăn nuôi quản lý có hiệu quả hoạt động sinh sản của đàn trâu. Đóng góp quan trọng khác của kết quả luận án là giúp cho các bác sĩ thú y và các nhà nghiên cứu có thêm cơ sở khoa học cần thiết đối với những chẩn đoán liên quan đến trạng thái sinh lý và bệnh lý trong quá trình mang thai.

Những điểm mới của luận án:

1. Lần đầu tiên trình bày dữ liệu liên quan đến phát triển trước sinh ở trâu đầm lầy.
2. Lần đầu tiên có thông tin về hàm lượng PAG ở trâu đầm lầy trong các dịch phân tích khác nhau.
3. Trình diễn khả năng ứng dụng phương pháp ELISA vào định lượng PAG và áp dụng kết quả này vào chẩn đoán mang thai sớm ở trâu.

4. Cung cấp thông tin đầu tiên về hàm lượng PL trong các dịch phân tích khác nhau ở trâu đầm lầy.

Bố cục của luận án

Luận án gồm 141 trang, 38 bảng, 54 hình, 192 tài liệu tham khảo tiếng Việt, tiếng Anh và tiếng Pháp. Bố cục luận án gồm: Mở đầu (03 trang), tổng quan tài liệu (30 trang), vật liệu và phương pháp nghiên cứu (16 trang), kết quả nghiên cứu và thảo luận (62 trang), kết luận và kiến nghị (03 trang), danh mục công trình khoa học của tác giả liên quan đến luận án (2 trang) và tài liệu tham khảo (25 trang).

Chương 1. TỔNG QUAN TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU

1.1. Hoạt động sinh sản và mang thai ở trâu đầm lầy

Mặc dù trâu là động vật động dục quanh năm, tuy nhiên hiệu suất sinh sản của chúng khác biệt rất lớn vào các thời điểm khác nhau trong năm. Rất nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng biểu hiện động dục, tỷ lệ đậu thai và tỷ lệ đẻ của trâu thay đổi rõ ràng theo mùa. Điều này có thể do ảnh hưởng của thời kỳ “nghỉ” dài giữa hai lứa đẻ; trâu đẻ ngoài mùa sinh sản chỉ có thể khởi động lại hoạt động của buồng trứng vào mùa sinh sản tiếp theo. So với trâu sông, trâu đầm lầy cũng có chu kỳ động dục 21 ngày nhưng thời gian mang thai ở trâu đầm lầy dài hơn (330 ngày so với 300 ngày ở trâu sông). Những vấn đề khi mang thai như chết phôi, chết thai và sảy thai là những nguyên nhân chính cho việc mang thai thất bại. Đây cũng là nguyên nhân chính làm giảm tỷ lệ sinh sản và kéo dài khoảng cách lứa đẻ ở trâu.

1.2. Nghiên cứu PAG

Glycoprotein thời kỳ có chửa (Pregnancy associated glycoproteins

PAGs) thuộc một họ lớn các glycoprotein được tổng hợp từ các tế bào mặt ngoài của nhau thai động vật nhai lại. Quá trình tổng hợp này biến động theo thời gian có chữa (Sousa và cs., 2006). Hiệu quả của việc áp dụng PAGs trong chẩn đoán có chữa sớm đã được chứng minh. Theo Gonzalez và cs., (2004) kỹ thuật này có thể chẩn đoán sự có chữa ở dê từ ngày thứ 20 của thai kỳ với độ chính xác 76,6%, cao hơn so với dùng phương pháp siêu âm là 55,7%, trong khi đó, tại thời điểm này không thể xác định có chữa bằng kỹ thuật định lượng progesteron (P4). Ở bò, kỹ thuật định lượng PAG có thể ứng dụng để chẩn đoán mang thai từ ngày thứ 28. Với những kết quả này, kỹ thuật định lượng PAG đã được phổ biến để chẩn đoán mang thai ở các nước Châu Âu và Bắc Mỹ.

1.3. Nghiên cứu về lactogen nhau thai.

Ở các loài động vật linh trưởng, gặm nhấm và nhai lại lactogen nhau thai được tiết từ nhau thai vào máu của mẹ và thai. Hàm lượng lactogen trong máu thai và máu mẹ ở các loài là rất khác nhau. Hàm lượng lactogen trong máu cừu rất cao trong khi lại rất thấp trong máu bò (Byatt và cs., 1987). Hàm lượng lactogen trong máu dê và cừu mẹ cao hơn từ 100 đến 1000 lần so với hàm lượng lactogen trong máu bò. Cho đến nay, vẫn không có thông tin về hàm lượng lactogen trong máu trâu. Tuy nhiên, chúng tôi nhận định rằng có thể dùng kháng thể kháng lactogen bò để định lượng lactogen trâu và nghiên cứu biến động hàm lượng lactogen trong quá trình mang thai ở trâu đầm lầy.

Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2. 1. Động vật nghiên cứu.

Trâu Việt Nam thuộc dưới loài trâu đầm lầy (*Bubalus bubalis carabanensis*), loài trâu nước (*Bubalus bubalis*). Mẫu được thu và bảo

quản theo Beckers (1982). Kích thước thai trâu được tiến hành đo theo Joubert (1956) và Singh và cs. (1963).

2.2. Phương pháp miễn dịch phóng xạ (RIA)

Phương pháp miễn dịch phóng xạ định lượng PAG được thực hiện theo Zoli và cs. (1992) có thay đổi phù hợp với phân tích mẫu vật ở trâu. Gắn kết Iot phóng xạ (NaI^{125} , PerkinElmer, Boston, USA) thực hiện theo phương pháp sử dụng chloramine T (Greenwood và cs., 1963). Phương pháp định lượng PL theo Beckers (1988).

2.3. Phương pháp Elisa.

Phương pháp ELISA sử dụng để định lượng PAG là phương pháp indirect sandwich được thực hiện theo Green và cs. (2005) có cải tiến phù hợp với đối tượng trâu.

2.4. Phân tích số liệu

Số liệu về hàm lượng của PAG được thể hiện theo dạng Trung bình (M) \pm sai số tiêu chuẩn (SD). Với mỗi phương pháp số liệu được so sánh bằng Student's test (t-test). Phương pháp hồi quy được đánh giá bằng Office Excel và có tham khảo các công trình khoa học uy tín trong lĩnh vực tương tự.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Mối tương quan giữa các kích thước thai trước sinh

3.1.1. Sự phân bố của mẫu vật trong quá trình mang thai

Bảng 3.1 trình bày kết quả đo 17 chỉ tiêu của thai trâu. Giá trị trung bình được trình bày theo khoảng thời gian hằng tháng.

3.1.2. Tương quan của chiều dài đầu đuôi thai (CRL) và các chỉ số đo khác.

Mối tương quan của CRL với chiều dài thai được trình bày trong bảng 3.2. Hệ số tương quan đều rất cao và không có sự khác nhau giữa hai giới ($P < 0.05$).

Bảng 3.1. Trung bình theo tháng các chỉ số của phôi/thai trâu đầm lầy trong quá trình mang thai

TT	Chỉ tiêu	Tuổi thai ước lượng (tháng)										Số sinh
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
	N	7	23	34	28	38	47	40	26	14	10	5
1	CRL (cm)	3,77	8,03	12,81	19,61	26,67	37,55	47,69	57,54	65,64	75,20	79,0
2	Dài mũi-đuôi (cm)	6,04	11,20	17,10	26,10	35,53	49,30	61,40	74,27	83,21	95,90	98,2
3	Dài mảy-đuôi (cm)	5,37	10,25	14,93	22,75	30,81	43,14	54,50	65,72	74,79	85,5	86,8
4	Dài tai-đuôi (cm)	3,3	6,6	10,34	15,99	22,74	32,72	41,18	52,35	58,71	68,4	69,8
5	Dài thân chéo (cm)	2,73	4,57	7,78	12,5	17,32	25,00	31,70	39,69	44,14	52,80	55,4
6	Chu vi ngực (cm)	4,15	6,01	10,07	15,01	20,67	28,80	36,85	43,00	48,57	58,00	71,4
7	Sâu ngực (cm)	1,78	2,33	3,99	6,35	8,70	12,51	16,15	19,42	21,79	24,85	31,0

8	Dài đầu (cm)	1,95	2,94	4,93	7,83	10,48	14,10	17,40	20,23	22,36	23,80	25,6
9	Rộng đầu (cm)	1,03	1,68	2,58	4,16	5,05	6,83	8,37	9,69	10,50	11,86	12,3
10	Chu vi đầu (cm)	4,35	6,60	10,07	14,54	19,02	24,63	30,63	36,06	39,46	43,25	47,4
11	Rộng mặt (cm)	0,55	0,89	1,48	2,59	3,50	4,48	5,40	6,40	6,89	7,75	8,0
12	Dài cẳng trước(cm)	0,40	0,79	1,41	2,36	3,27	5,04	7,05	10,37	11,07	13,70	14,0
13	Dài đuôi trước (cm)	0,77	1,29	2,78	3,72	5,46	8,19	11,04	14,46	17,00	20,35	21,6
14	Dài cẳng sau (cm)	0,57	1,10	2,15	3,70	5,27	8,22	11,56	15,82	18,86	22,60	25,8
15	Dài đuôi sau (cm)	1	1,57	2,79	4,88	6,84	10,80	14,32	19,35	22,64	26,90	28,8
16	Chu vi cổồng rốn (cm)	1	1,24	1,99	3,01	3,96	5,18	6,22	6,70	7,00	7,35	
17	Khối lượng (kg)	0,007	0,037	0,097	0,326	0,893	2,479	4,95	9,037	12,27	18,87	25,8

Bảng 3.2. Tương quan giữa CRL với chiều dài thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Dài Mũi - đuôi	Đực	$y = 1,2702x + 1,3533$	0,989
	Cái	$y = 1,2642x + 1,3321$	0,987
	Tổng số	$y = 1,2679x + 1,3352$	0,988
Dài Mắt - đuôi	Đực	$y = 1,1378x + 0,6674$	0,985
	Cái	$y = 1,1116x + 1,1497$	0,984
	Tổng số	$y = 1,1265x + 0,8702$	0,985
Dài Tai - đuôi	Đực	$y = 0,9223x - 1,6617$	0,983
	Cái	$y = 0,899x - 1,0892$	0,983
	Tổng số	$y = 0,9123x - 1,4152$	0,983

Tương quan giữa CRL với các chỉ số đo khác của thân thai được trình bày trong bảng 3.3. Đường hồi quy giữa CRL và các kích thước thân thai phù hợp nhất là đường phương trình bậc nhất $y = ax + b$ trong đó X là CRL (cm) và Y các chỉ số đo khác của thân thai (cm).

Bảng 3.3. Mối tương quan giữa CRL và chỉ số thân thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Dài thân chéo	Đực	$y = 0,7092x - 1,4788$	0,992
	Cái	$y = 0,6834x - 0,8783$	0,991
	Tổng số	$y = 0,698x - 1,2174$	0,991
Chu vi ngực	Đực	$y = 0,7743x - 0,0533$	0,986
	Cái	$y = 0,7442x + 0,658$	0,978
	Tổng số	$y = 0,7612x + 0,2591$	0,982
Sâu ngực	Đực	$y = 0,3452x - 0,371$	0,979
	Cái	$y = 0,3328x - 0,1665$	0,976
	Tổng số	$y = 0,3399x - 0,2845$	0,977

Bảng 3.4. trình bày kết quả tương quan giữa CRL và bốn chỉ số của kích thước đầu thai.

Bảng 3.4. Tương quan giữa CRL và kích thước đầu thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Đài Đầu	Đực	$y = -0,0018x^2 + 0,4611x - 0,4643$	0,973
	Cái	$y = -0,0019x^2 + 0,4704x - 0,781$	0,973
	Tổng số	$y = -0,0019x^2 + 0,465x - 0,603$	0,973
Chu vi đầu	Đực	$y = -0,002x^2 + 0,7166x + 1,1162$	0,985
	Cái	$y = -0,0021x^2 + 0,7146x + 1,3103$	0,977
	Tổng số	$y = -0,0021x^2 + 0,7173x + 1,1838$	0,982
Rộng Đầu	Đực	$y = -0,0005x^2 + 0,1972x + 0,2546$	0,944
	Cái	$y = -0,0008x^2 + 0,208x + 0,0633$	0,939
	Tổng số	$y = -0,0007x^2 + 0,2031x + 0,1566$	0,941
Rộng Mặt	Đực	$y = -0,0006x^2 + 0,1466x - 0,1539$	0,917
	Cái	$y = -0,0006x^2 + 0,145x - 0,1714$	0,936
	Tổng số	$y = -0,0006x^2 + 0,1463x - 0,1676$	0,925

Tương quan giữa CRL và các chỉ số về chiều dài chân trong suốt quá trình mang thai được trình bày ở bảng 3.5. Đồ thị biểu hiện mối tương quan được thể hiện tối ưu bằng phương trình mũ.

Bảng 3.5. Tương quan giữa CRL và chỉ số đo chân thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Đài cẳng trước	Đực	$y = 0,0482x^{1,2928}$	0,976
	Cái	$y = 0,0567x^{1,2545}$	0,963
	Tổng số	$y = 0,0518x^{1,2756}$	0,970
Đài đùi trước	Đực	$y = 0,0983x^{1,2241}$	0,990
	Cái	$y = 0,1x^{1,2198}$	0,982
	Tổng số	$y = 0,099x^{1,2222}$	0,987
Đài cẳng sau	Đực	$y = 0,0664x^{1,3388}$	0,988
	Cái	$y = 0,0714x^{1,3197}$	0,979
	Tổng số	$y = 0,0685x^{1,3305}$	0,984
Đài đùi sau	Đực	$y = 0,1161x^{1,2531}$	0,989
	Cái	$y = 0,1113x^{1,2593}$	0,975
	Tổng số	$y = 0,1138x^{1,2561}$	0,983

Bảng 3.6. trình bày kết quả của tương quan giữa CRL và chu vi cuống rốn trong quá trình phát triển thai trâu.

Bảng 3.6. Tương quan giữa CRL và chu vi cuống rốn

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Chu vi cuống rốn	Đực	$y = -0,001x^2 + 0,1786x - 0,0418$	0,908
	Cái	$y = -0,0013x^2 + 0,1964x - 0,3449$	0,885
	Tổng số	$y = -0,0012x^2 + 0,1873x - 0,184$	0,897

Tương quan giữa CRL và khối lượng thai được trình bày trong bảng 3.7. Hệ số tương quan rất cao ở trong mỗi liên hệ này nhưng không có sự khác biệt giữa hai giới ($p < 0,05$).

Bảng 3.7. Tương quan giữa CRL và khối lượng thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Khối lượng thai (kg)	Đực	$y = 0,00006x^{2,8964}$	0,974
	Cái	$y = 0,00006x^{2,9202}$	0,955
	Tổng số	$y = 0,00006x^{2,905}$	0,967

3.1.3. Tương quan giữa khối lượng thai với các chỉ số đo khác

Tương quan giữa khối lượng thai với chiều dài thai được trình bày trong bảng 3.8. Phương trình mũ là phương trình tối ưu cho việc sử dụng để mô tả tương quan này $y = ax^b$ trong đó y là chiều dài thai và x là khối lượng thai.

Bảng 3.8. Tương quan giữa khối lượng thai và chiều dài thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Dài Mũi-đuôi	Đực	$y = 37,25x^{0,3245}$	0,964
	Cái	$y = 37,238x^{0,3131}$	0,954
	Tổng số	$y = 37,215x^{0,3208}$	0,961
Dài Mắt-đuôi	Đực	$y = 32,716x^{0,3237}$	0,958
	Cái	$y = 32,517x^{0,3149}$	0,942
	Tổng số	$y = 32,63x^{0,3203}$	0,953

Dài Tai-đuôi	Đực	$y = 23,989x^{0,3514}$	0,968
	Cái	$y = 23,832x^{0,3443}$	0,952
	Tổng số	$y = 28,321x^{0,3253}$	0,974

Tương quan giữa khối lượng thai và ba chỉ số đo thân thai được trình bày trong bảng 3.9. Phương trình tối ưu mô tả tương quan được thể hiện bằng dạng $y = ax^b$ trong đó y chỉ số đo thân thai và x là khối lượng thai.

Bảng 3.9. Tương quan hồi quy giữa khối lượng thai và chiều dài thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Dài thân chéo	Đực	$y = 18,324x^{0,3496}$	0,981
	Cái	$y = 18,191x^{0,3503}$	0,960
	Tổng số	$y = 18,253x^{0,3494}$	0,973
Chu vi ngực	Đực	$y = 21,865x^{0,3242}$	0,984
	Cái	$y = 21,664x^{0,3197}$	0,947
	Tổng số	$y = 21,785x^{0,3224}$	0,971
Sâu ngực	Đực	$y = 9,3144x^{0,3365}$	0,974
	Cái	$y = 9,0782x^{0,3449}$	0,944
	Tổng số	$y = 9,2176x^{0,3394}$	0,962

Tương quan giữa khối lượng thai và chỉ số đo đầu thai được mô tả trong bảng 3.10. Phương trình hồi quy mô tả mối tương quan được thể hiện bằng $y = ax^b$ trong đó y là các chỉ số đo của đầu thai và x là khối lượng thai.

Bảng 3.10. Tương quan khối lượng thai và chỉ số đo đầu thai

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Dài đầu	Đực	$y = 10,622x^{0,3077}$	0,969
	Cái	$y = 10,473x^{0,3064}$	0,932
	Tổng số	$y = 19,599x^{0,2748}$	0,963
Chu vi đầu	Đực	$y = 19,678x^{0,2755}$	0,982
	Cái	$y = 19,606x^{0,2707}$	0,944
	Tổng số	$y = 10,533x^{0,3084}$	0,953

Rộng	Đực	$y = 5,3192x^{0,2838}$	0,958
	Cái	$y = 5,1807x^{0,2864}$	0,924
Đầu	Tổng số	$y = 5,2472x^{0,2859}$	0,942
Rộng	Đực	$y = 3,3273x^{0,3202}$	0,938
	Cái	$y = 3,271x^{0,3204}$	0,916
Mặt	Tổng số	$y = 3,3009x^{0,3204}$	0,930

Tương quan giữa khối lượng thai với chỉ số đo chiều dài chân của thai được trình bày trong bảng 3.11. Trong tất cả mỗi tương quan đều có hệ số tương quan rất cao.

Bảng 3.11. Tương quan giữa khối lượng thai với chiều dài chân

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Dài cẳng trước	Đực	$Y = 3,6393x^{0,4142}$	0,962
	Cái	$y = 3,7178x^{0,4145}$	0,948
	Tổng số	$y = 3,6809x^{0,4151}$	0,956
Dài đùi trước	Đực	$y = 5,9082x^{0,395}$	0,978
	Cái	$y = 5,8637x^{0,4031}$	0,957
	Tổng số	$y = 5,8902x^{0,3982}$	0,970
Dài cẳng sau	Đực	$y = 5,8537x^{0,4317}$	0,974
	Cái	$y = 5,8171x^{0,4382}$	0,953
	Tổng số	$y = 5,8487x^{0,4335}$	0,964
Dài đùi sau	Đực	$y = 7,6696x^{0,4064}$	0,979
	Cái	$y = 7,5143x^{0,4102}$	0,940
	Tổng số	$y = 7,576x^{0,409}$	0,963

Tương quan giữa khối lượng thai và chu vi cuống rốn được mô tả trong bảng 3.12. Mặc dù hệ số tương quan ở đực cao hơn đối với cái nhưng không có sự sai khác giữa hai giới,

Bảng 3.12. Tương quan giữa khối lượng thai và chu vi cuống rốn

Chỉ số	Đối tượng	Phương trình hồi quy	R ²
Chu vi cuống rốn	Đực	$y = 3,9025x^{0,2705}$	0,924
	Cái	$y = 3,7892x^{0,2769}$	0,847
	Tổng số	$y = 3,8531x^{0,2706}$	0,889

3.2. Thiết lập hệ thống RIA để định lượng PAG trâu

3.2.1. Hệ thống RIA áp dụng phương pháp không ủ trước

Đặc điểm của đường chuẩn cho bốn hệ thống trong phương pháp có ủ trước kháng thể được trình bày trong bảng 3.13. Giới hạn cuối có thể định lượng thấp nhất ở hệ thống RIA2-As706 (0,15 ng/ml) và cao nhất ở RIA 4– As hỗn hợp (0,33 ng/ml), Trong cả bốn hệ thống mức trung bình có thể định lượng (ED-50) giao động từ 1,71 ng/ml tới 2,75 ng/ml.

Bảng 3.13. Đặc điểm đường chuẩn của bốn hệ thống RIA trong phương pháp có ủ trước kháng thể

Hệ thống RIA	NSB (ng/ml)	B0/T (%)	MDL (ng/ml)	ED-20 (ng/ml)	ED-50 (ng/ml)	ED-80 (ng/ml)
RIA 1	0,2	2	0,23	3,81	1,71	0,66
RIA 2	0,2	2	0,15	5,73	2,75	1,01
RIA 3	0,2	2	0,17	4,38	2,06	0,9
RIA 4	0,2	2	0,33	4,42	1,93	0,55

3.2.2. Hệ thống RIA định lượng PAG bằng phương pháp có ủ trước kháng thể

Đặc điểm của đường chuẩn của ba hệ thống RIA sử dụng để định lượng PAG bằng phương pháp có ủ trước kháng thể được trình bày trong bảng 3.14.

Bảng 3.14. Đặc điểm đường chuẩn của ba hệ thống RIA trong phương pháp không ủ trước kháng thể

Hệ thống RIA	NSB (ng/ml)	B0/T (%)	MDL (ng/ml)	ED-20 (ng/ml)	ED-50 (ng/ml)	ED-80 (ng/ml)
RIA 1	0,02	2	1,75	78,03	21,32	5,82
RIA 2	0,02	2	1,01	79,49	20,94	5,52
RIA 3	0,02	2	1,03	67,13	17,93	4,79

3.2.3. Hàm lượng PAG trâu đầm lầy khi định lượng bằng ba hệ thống RIA

Hàm lượng trung PAG trung bình của trâu đầm lầy định lượng bằng các hệ thống RIA khác nhau được trình bày trong bảng 5,15, Trong huyết tương trâu mẹ và thai, hàm lượng PAG thấp hơn rõ ràng khi định lượng bằng hệ thống RIA 1 ($P < 0,05$), Đối với dịch ối và dịch niệu, hàm lượng PAG giống nhau trong hệ thống RIA 1 và RIA 3 nhưng thấp hơn đối với RIA 2,

Bảng 3.15. Hàm lượng PAG định lượng bằng 3 hệ thống RIA

Mẫu vật	N	RIA 1 (ng/ml)	RIA 2 (ng/ml)	RIA 3 (ng/ml)
Máu mẹ	51	15,5 ± 9,8 ^a	21,8 ± 17,2 ^b	25,0 ± 15,8 ^b
Máu thai	67	16,1 ± 14,5 ^a	20,2 ± 20,3 ^b	21,9 ± 26,0 ^b
Dịch niệu	62	5,8 ± 7,3 ^a	12,7 ± 16,6 ^b	6,4 ± 9,0 ^a
Dịch ối	56	8,0 ± 11,8 ^a	24,0 ± 49,0 ^b	9,4 ± 18,6 ^a

a, b là các ký tự khác nhau ở các dòng khác nhau để chỉ sự sai khác

Bảng 3.16. chỉ phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong máu trâu mẹ khi được định lượng bằng ba hệ thống RIA. Nhìn chung, tương quan giữa chúng tương đối chặt, hệ số tương quan (r) giữa các hệ RIA đều lớn hơn 0,90.

Bảng 3.16. Phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong máu trâu mẹ định lượng bằng ba hệ thống

Hệ thống	Phương trình hồi quy	R
RIA 2 and RIA 1	$y = 0,6565x + 1,7878$	0,90
RIA 2 and RIA 3	$y = 1,1113x + 1,6296$	0,95
RIA 1 and RIA 3	$y = 1,4817x + 1,6702$	0,92

Bảng 3.17. trình bày phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong máu thai được định lượng bằng ba hệ thống RIA. Hệ số tương quan đều cao hơn đối với mẫu máu trâu mẹ.

Bảng 3.17. Phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong máu thai định lượng bằng ba hệ thống

Hệ thống	Phương trình hồi quy	R
RIA 2 and RIA 1	$y = 0,6912x + 2,151$	0,97
RIA 2 and RIA 3	$y = 1,241x - 3,0093$	0,97
RIA 1 and RIA 3	$y = 1,7774x - 6,6249$	0,99

Bảng 3.18. trình bày phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong dịch niệu định lượng bằng ba hệ thống RIA.

Bảng 3.18. Phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong dịch niệu mẹ định lượng bằng ba hệ thống.

Hệ thống	Phương trình hồi quy	R
RIA 2 and RIA 1	$y = 0,3752x + 1,0519$	0,85
RIA 2 and RIA 3	$y = 0,4929x + 0,1225$	0,91
RIA 1 and RIA 3	$y = 1,1827x - 0,4908$	0,96

Bảng 5.19. trình bày phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong dịch ối định lượng bằng ba hệ thống RIA,

Bảng 3.19. Phương trình hồi quy của hàm lượng PAG trong dịch ối định lượng bằng ba hệ thống

Hệ thống	Phương trình hồi quy	R
RIA 2 and RIA 1	$y = 0,2569x + 2,8633$	0,97
RIA 2 and RIA 3	$y = 0,4093x + 1,2305$	0,98
RIA 1 and RIA 3	$y = 1,5575x - 2,9015$	0,99

3.2.4. Tương quan giữa hàm lượng PAG trâu và tuổi thai ước lượng

Hàm lượng PAG trung bình trong máu trâu đầm lầy (ng/ml) và tuổi thai ước lượng (tháng) được mô tả theo phương trình: $y = 0,1591x^2 - 0,0216x + 8,7165$ ($r = 0,881$; $P < 0,05$).

Hàm lượng PAG trung bình trong máu thai (ng/ml) và tuổi thai ước lượng (tháng) được mô tả bằng phương trình: $y = 0,0582x^4 - 1,876x^3 + 20,88x^2 - 91,913x + 146,12$ ($r = 0,743$; $P < 0,05$).

Tương quan giữa hàm lượng PAG trong dịch niệu (ng/ml) và tuổi thai ước lượng (ngày) được mô tả bằng hàm bậc hai: $y = 0,4738x^2 - 5,2701x + 22,228$ ($r = 0,781$; $P < 0,05$),

Tương quan giữa hàm lượng PAG trong dịch ối (ng/ml) và tuổi thai ước lượng (ngày) được mô tả bằng hàm bậc hai: $y = -0,8209x^2 + 10,393x - 11,989$ ($r = 0,505$; $P < 0,05$).

Khi tiến hành xác định hàm lượng PAG các mẫu thu từ lò mổ Zoli và cộng sự nhận thấy tương quan của hàm lượng PAG và tuổi thai ước lượng (tháng) được biểu thị bằng phương trình $Y = 31,06 - 8,3x + 0,6x^2$ ($r = 0,32$; $p < 0,08$).

3.2.5. Đánh giá khả năng định lượng PAG trong các mẫu máu bò bằng kháng thể kháng PAG trâu

Kết quả phân tích 437 mẫu huyết tương bò bằng kháng thể kháng PAG trâu được trình bày trong bảng 3.20.

Bảng 3.20. Kết quả chẩn đoán hiện trạng mang thai

Phương pháp	Âm tính (< 0,6 ng/ml) N (%)	Nghi ngờ (0,6 – 0,8 ng/ml) N (%)	Dương tính (>0,8 ng/ml) N (%)
RIA 1	121 (27,69)	8 (1,83)	308 (70,48)
RIA 2	123 (28,15)	5 (1,14)	309 (70,71)
RIA 3	129 (29,52)	2 (0,46)	306 (70,02)

Đường hồi quy của ba phương pháp được thể hiện trong bảng 3.21. Nhìn chung, mối tương quan tương đối chặt, tuy nhiên, hệ số tương quan cao nhất được thể hiện giữa hệ thống RIA 1 và RIA 3 ($R^2 = 0,9364$).

Bảng 3.21. Tương quan hồi quy giữa ba hệ thống

Hệ thống	Phương trình hồi quy	R
RIA 1-RIA 2	$y = 1,5513x + 0,6452$	0,6778
RIA 1-RIA 3	$Y = 1,0525x - 0,125$	0,9364
RIA 2-RIA 3	$Y = 0,5245x + 0,2995$	0,731

3.3. Thiết lập phương pháp ELISA định lượng PAG

3.3.1. Tối ưu hoá phương pháp ELISA

Chương trình chuẩn Kjunior được thiết lập theo kiểu nổi điểm đến điểm, Đường chuẩn được pha theo các hàm lượng: 0; 0,15; 0,3; 0,6; 1,25; 2,5; 5,0 và 10,0 ng/ml. Kết quả cho thấy hệ số của phương trình hồi quy chuẩn rất cao. OD của đường chuẩn biến động trong khoảng từ 0,1 tới 1,5. Kết quả của OD thể hiện điều kiện tối ưu cho phương pháp trong điều kiện: (1) Hàm lượng kháng thể: Kháng thể dùng để gắn đĩa ELISA được pha loãng với tỷ lệ sau: 1/64,000 đối với kháng thể As#706 và As#859 và 1/128,000 đối với kháng thể As#726; (2) biotiny ester pha theo tỷ lệ 1/10,000 từ biotiny ester gốc; (3) Hàm lượng avidine pha 1/25,000 từ gốc 1 mg/ml.

3.3.2. So sánh tương quan giữa ELISA và RIA

Bảng 3.24. trình bày kết quả định lượng PAG bằng phương pháp RIA và ELISA. Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác nhau khi định bằng ELISA với mẫu được pha loãng 2 lần và RIA.

Bảng 3.24. Kết quả định lượng PAG bằng RIA và ELISA

Phương pháp	RIA (ng/ml)	ELISA (mức pha loãng) (ng/ml)			
		1	2	5	11
n	20	20	20	20	20
TB	23,75 ^a	10,35	23,92 ^a	29,62	44,90
SS	10,26	3,83	8,49	9,89	17,26

Bảng 3.25. trình bày hàm lượng PAG trong các mẫu khác nhau khi định lượng bằng hai phương pháp RIA và ELISA.

Bảng 3.25. Hàm lượng PAG trong các mẫu khác nhau

Loại mẫu	N	ELISA (ng/ml)	RIA 2 (ng/ml)
Huyết tương trâu	51	22,69 ± 2,67	21,84 ± 2,41
Huyết tương thai	68	21,42 ± 3,07	20,17 ± 2,54
Dịch niệu	62	6,26 ± 1,27	12,66 ± 2,1
Dịch ối	56	15,59 ± 4,58	24,03 ± 7,3

Bảng 3.26. trình bày đường tuyến tính của hàm lượng PAG trong máu trâu mẹ định lượng bằng phương pháp ELISA và ba hệ thống RIA. Trong đó hệ số tương quan cao nhất thể hiện giữa ELISA và RIA 2.

Bảng 3.26. Tương quan giữa hàm lượng PAG trong máu trâu mẹ được định lượng bằng ELISA và ba hệ thống RIA

Phương pháp	Phương trình hồi quy	R
ELISA and RIA 1	$y = 0,4923x + 4,3405$	0,81
ELISA and RIA 2	$y = 0,9924x - 0,6765$	0,93
ELISA and RIA 3	$y = 0,8781x + 4,7822$	0,91

Bảng 3.27. trình bày phương trình tương quan của hàm lượng PAG trong máu thai được định lượng bằng ELISA RIA,

Bảng 3.27. Tương quan giữa hàm lượng PAG trong máu thai được định lượng bằng ELISA và ba hệ thống RIA

Phương pháp	Phương trình hồi quy	R
ELISA and RIA 1	$y = 0,8043x + 2,7761$	0,97
ELISA and RIA 2	$y = 0,5812x + 3,7044$	0,96
ELISA and RIA 3	$y = 1,0482x - 0,3782$	0,97

Đường hồi quy tuyến tính của hàm lượng PAG trong dịch niệu được định lượng bằng ELISA và RIA được trình bày trong bảng 3.28.

Bảng 3.28. Tương quan giữa hàm lượng PAG trong dịch niệu được định lượng bằng ELISA và ba hệ thống RIA

Phương pháp	Phương trình hồi quy	R
ELISA and RIA 1	$y = 1,4998x + 3,2684$	0,91
ELISA and RIA 2	$y = 0,6778x + 1,5622$	0,93
ELISA and RIA 3	$y = 0,8406x + 1,1085$	0,94

Đường hồi quy tuyến tính của hàm lượng PAG trong dịch ối được định lượng bằng ELISA và RIA được trình bày trong bảng 3.29.

Bảng 3.29. Tương quan giữa hàm lượng PAG trong dịch ối được định lượng bằng ELISA và ba hệ thống RIA

Phương pháp	Phương trình hồi quy	R
ELISA and RIA 1	$y = 0,3285x + 3,5629$	0,92
ELISA and RIA 2	$y = 0,9996x + 5,3846$	0,90
ELISA and RIA 3	$y = 0,4941x + 2,5756$	0,94

3.3.3. Hàm lượng PAG định lượng bằng ba hệ thống ELISA

Bảng 3.30. trình bày kết quả so sánh kết quả hàm lượng PAG của 294 mẫu được phân tích bằng ba hệ thống ELISA. ELISA 1 gắn kháng thể As#859 vào đĩa ELISA và gắn kết biotine cũng bằng kháng thể As#859. ELISA 2 gắn kháng thể As#859 vào đĩa và gắn biotine bằng kháng thể As#726 và ELISA 3 gắn kháng thể As#706 vào đĩa và gắn biotine bằng kháng thể As#859.

Bảng 3.30. Kết quả định lượng PAG bằng các hệ thống ELISA khác nhau

Loại mẫu	N	ELISA 1 (ng/ml)	ELISA 2 (ng/ml)	ELISA 3 (ng/ml)
Huyết tương trâu	82	27,64 ± 1,23	22,20 ^a ± 1,37	25,03 ^a ± 1,13
Huyết tương thai	65	20,28 ± 1,54	13,66 ± 1,70	18,27 ± 1,25
Dịch niệu	85	12,38 ^b ± 0,78	9,45 ^b ± 1,49	9,82 ^b ± 0,78
Dịch ối	62	12,83 ^c ± 1,25	10,96 ^c ± 1,94	10,80 ^c ± 1,19

3.3.3. Ứng dụng định lượng PAG cho chẩn đoán có chửa sớm

Kết quả chẩn đoán có chửa sớm ở trâu đầm lầy bằng định lượng PAG được trình bày trong bảng 3.31. Kết quả gây động dục đồng pha, thụ tinh nhân tạo và chẩn đoán mang thai sớm đã được thông báo bởi Hanh và cộng sự (2007). Mức độ đánh giá âm tính, nghi ngờ hay dương tính được căn cứ vào hàm lượng PAG thể hiện trong các khoảng giá trị lần lượt là: <0,6 ng/ml; 0,6 đến 0,8 ng/ml; và >0,8 ng/ml. Kết quả nhận thấy ở ngày thứ 40 có thể xác định 100% kết quả

là âm tính hay dương tính. Độ chính xác của phương pháp đã được kiểm định bằng kết quả khám lâm sàng.

Bảng 3.31. Kết quả chẩn đoán mang thai bằng định lượng PAG

Kết quả chẩn đoán	Ngày thứ 20 N (%)	Ngày thứ 25 N (%)	Ngày thứ 40 N (%)	Ngày thứ 45 N (%)
Âm tính (%)	18 (60%)	15 (50%)	13 (43%)	13 (43%)
Nghi ngờ (%)	9 (30%)	10 (33%)	0	0
Dương tính (%)	3 (10%)	5 (17%)	17 (57%)	17 (57%)
Tổng số	30(100%)	30(100%)	30(100%)	30(100%)

3.4. Hàm lượng lactogen nhau thai ở trâu đầm lầy

3.4.1. Thiết lập phương pháp định lượng PL ở trâu đầm lầy

Một dãy pha loãng của các loại mẫu khác nhau đã cho thấy sự tương đồng của đường chuẩn sử dụng kháng thể kháng lactogen nhau thai bò và mẫu vật ở trâu đầm lầy. Giới hạn thấp nhất có thể định lượng của phương pháp là 0,068 ng/ml. Khoảng hiệu quả để định lượng mẫu vật của đường chuẩn là từ 0,25 ng/ml (ED-80) tới 2,85 ng/ml (ED-20).

3.4.2. Hàm lượng PL của trâu đầm lầy trong các loại mẫu khác nhau

Hàm lượng PL ở trâu đầm lầy trong các loại mẫu khác nhau được trình bày trong bảng 3.32. Trong tổng số 260 mẫu, giá trị trung bình của PL quan sát được đều rất thấp. Trung bình cao nhất ở máu thai là 1,35 ng/ml và thấp nhất trong dịch ối chỉ trung bình 0,42 ng/ml.

Bảng 3.32. Hàm lượng PL trâu đầm lầy ở các loại mẫu khác nhau

Loại mẫu	Số lượng mẫu	Hàm lượng PL (ng/ml)
Huyết tương trâu	35	0,71 ± 0,14
Huyết tương thai	69	1,35 ± 2,44
Dịch niệu	57	0,54 ± 0,24
Dịch ối	63	0,42 ± 0,14
Nước tiểu trâu mẹ	36	0,75 ± 0,3
Tổng số	260	

3.4.2. Tương quan giữa hàm lượng PL với tuổi thai ước lượng

Tương quan giữa hàm lượng PL (ng/ml) trong máu trâu mẹ với tuổi thai ước lượng (tháng) được mô tả theo phương trình $y = 0,0055x^2 - 0,0743x + 0,9624$ ($r=0,913$). Phương trình thích hợp nhất để mô tả là phương trình bậc hai. Mặc dù có xu hướng tăng vào cuối chu kỳ mang thai nhưng nhìn chung không có sự biến động mạnh và hệ số tương quan cao.

Tương quan giữa hàm lượng PL (ng/ml) trong máu thai với tuổi thai ước lượng (tháng) được mô tả bằng phương trình $y = -0,006x^2 + 0,0086x + 1,2476$ ($r= 0,969$). Mẫu vật phân bố từ tháng thứ 3 đến tháng 11 của thai kỳ, hàm lượng PL có xu hướng giảm khi tuổi thai tăng.

Phương trình hồi quy mô tả tương quan giữa hàm lượng PL (ng/ml) trong dịch niệu với tuổi thai ước lượng (tháng) là $y = 0,0144x^2 - 0,2238x + 1,1753$ ($r= 0,899$). Hàm lượng PL cao ở giai đoạn đầu mang thai và giảm dần vào cuối thai kỳ.

Phương trình hồi quy mô tả tương quan giữa hàm lượng PL (ng/ml) trong dịch ối với tuổi thai ước lượng (tháng) là: $y = 0,0013x^4 - 0,0361x^3 + 0,3529x^2 - 1,5288x + 3,1927$ ($r = 0,994$). Hệ số tương quan của phương trình mô tả tương quan này cao nhất trong các loại mẫu được phân tích.

Phương trình tối ưu mô tả tương quan giữa hàm lượng PL (ng/ml) trong nước tiểu trâu mẹ với tuổi thai ước lượng (tháng) được mô tả bằng phương trình $y = -0,0007x^6 + 0,0386x^5 - 0,8258x^4 + 9,0456x^3 - 53,571x^2 + 162,7x - 197,23$ ($r = 0,968$).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận:

1. Dựa trên kết quả nghiên cứu sự phát triển trước sinh ở trâu đầm lầy và tương quan giữa các chỉ số khác nhau của thai, chúng tôi có

những kết luận sau:

- Luận án đã cung cấp dữ liệu về kích thước thai của 267 thai (149 đực và 118 cái) và 5 nghé sơ sinh. Các chỉ số đo thai tăng liên tục, khối lượng thai tăng ít ở giai đoạn trước 180 ngày và sau đó tăng với tốc độ nhanh.
- Tương quan giữa CRL với chiều dài thai và kích thước thân được biểu thị bằng phương trình bậc nhất. Tương quan giữa CRL với số đo kích thước đầu và chu vi cuống rốn được biểu thị bằng phương trình bậc 2. Trong khi đó phương trình tương quan tối ưu giữa CRL với số đo chiều dài chân và khối lượng là phương trình hàm số mũ.
- Tương quan giữa khối lượng thai với tất cả các chỉ số đo khác của thai đều biểu hiện bằng phương trình hàm số mũ. Hệ số tương quan giữa các chỉ số kích thước thai đều rất cao.

2. Khả năng định lượng PAG bằng phương pháp RIA và thông tin về hàm lượng PAG ở trâu trong các giai đoạn mang thai khác nhau:

- Có thể định lượng PAG trâu đầm lầy bằng ba hệ thống RIA và mối tương quan giữa hàm lượng PAG trong các loại mẫu khác nhau khi định lượng bằng ba hệ thống đều rất cao. Giới hạn tối thiểu có thể định lượng thấp nhất là 0,15 ng/ml đối với hệ thống RIA 2 trong phương pháp có ủ trước kháng thể đạt và cao nhất là 1,75 ng/ml đối với hệ thống RIA 1 trong phương pháp không ủ trước kháng thể.
- Hàm lượng PAG trong máu mẹ và thai thấp nhất khi định lượng bằng hệ thống RIA 1. Đối với cùng một mẫu dịch ối và dịch niệu, hàm lượng PAG giống nhau khi định lượng bằng hệ thống RIA 1 và RIA 3, nhưng thấp hơn so với hệ thống RIA 2.
- Hệ số tương quan giữa hàm lượng PAG và tuổi thai ước lượng tương đối thấp, tuy vậy đây là nghiên cứu đầu tiên về mối tương quan này ở trâu đầm lầy.
- Có sự tương đồng cao giữa kháng thể kháng PAG trâu với mẫu

huyết tương bào. Phương trình tương quan của hàm lượng PAG trong mẫu huyết tương bào khi định lượng bằng RIA sử dụng kháng thể kháng PAG bào và trâu có hệ số tương quan cao ($R^2 = 0,936$).

3. Đã xây dựng phương pháp ELISA để phát hiện PAG ở trâu đầm lầy Việt Nam và ứng dụng để chẩn đoán thai sớm:

- Đã tạo lập được phương pháp sandwich ELISA để định lượng PAG ở trâu trong điều kiện Việt Nam.
- Hàm lượng PAG trong các mẫu của trâu đầm lầy không có sự khác biệt khi định lượng bằng phương pháp RIA và ELISA.
- Phương pháp định lượng PAG bằng ELISA có khả năng chẩn đoán có thai ở trâu với độ chính xác 100% ở ngày thứ 40 sau thụ tinh.
- Không có quy luật rõ ràng về sai khác của hàm lượng PAG trong các loại mẫu khi định lượng bằng các hệ thống ELISA sử dụng các kháng thể khác nhau.

4. Đã nghiên cứu định lượng và biến động của hormone PL trên trâu:

- Có thể sử dụng kháng thể kháng PL bào để định lượng PL ở trâu. Có sự tương đồng giữa PL chuẩn với các mẫu ở trâu đầm lầy trong phương pháp RIA sử dụng kháng thể kháng PL bào. Giới hạn tối thiểu có thể định lượng PL trong hệ RIA ở trâu rất thấp (0,068 ng/ml).
- Hàm lượng trung bình PL thấp nhất trong dịch niệu (0,42 ng/ml) và cao nhất trong huyết tương thai (1,32 ng/ml).
- Phương trình tối ưu mô tả biến động của hàm lượng PL trong huyết tương trâu, huyết tương thai và dịch niệu là phương trình bậc hai; trong dịch ối là phương trình bậc bốn và trong dịch nước tiểu là phương trình bậc sáu với hệ số tương quan cao ($r = 0,968$).

Kiến nghị:

Kết quả nghiên cứu của luận án góp phần xây dựng một cách tiếp cận mới có giá trị trong lĩnh vực chẩn đoán mang thai sớm trên một số

loài vật nuôi. Trong nghiên cứu này khi dựa vào hàm lượng PAG được định lượng bằng phương pháp ELISA, chúng tôi đã khẳng định kết quả mang thai từ ngày 40 sau thụ tinh. Tuy nhiên, khả năng sử dụng và độ nhạy trong khoảng từ ngày thứ 20 đến ngày thứ 40 vẫn cần tiếp tục nghiên cứu. Kết hợp gây động dục đồng loạt, thụ tinh nhân tạo với chẩn đoán mang thai sớm là phương thức hiệu quả để nâng cao năng suất sinh sản trên trâu nói riêng và gia súc nói chung.

Hàm lượng PL có sự tương quan với hoạt động chức năng của buồng trứng, hoạt động của tuyến vú, sự tiết sữa, sự ổn định của thai và đặc biệt là liên hệ mật thiết với sự phát triển của thai. Vì vậy, trong những nghiên cứu tiếp theo cần làm rõ mối tương quan giữa hàm lượng PL với sự phát triển của thai cũng như tiềm năng cho sữa trên trâu sữa.

CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Van Hanh N., Huu Q.X., Uoc N.T., Sulon J., Sousa M.N., Bui X.N., and Beckers J.F., (2006) Determination pregnancy associated glycoproteins (PAGs) in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) by radioimmunoassay, *Proceeding of the 3rd Annual conference of Asian Reproductive Biotechnology Society, November 29 – December 3 2006, Hanoi Vietnam, p:162-163*,
2. Hanh N. V., Huu Q. X., Uoc N. T., Nguyen B. X., Sulon J., Sousa N. M. and Beckers J. F., (2007) estrus synchronization, artificial insemination, and pregnancy diagnosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*), *Reprod, Fert, Develop*, 19(1) 198–198,
3. Karen A., Darwish S., Ramoun A., Tawfeek K., Van Hanh N., de Sousa N.M., Sulon J., Szenci O., Beckers J.F., (2007). Accuracy of ultrasonography and pregnancy-associated glycoprotein test for pregnancy diagnosis in buffaloes, *Theriogenology* 68: 1150–115.
4. Van Hanh N., Huu Q.X., Uoc N.T., Barbato O., Sulon J., Sousa M.N., Beckers J.F. and Bui X.N., (2008) Comparison of different

- antisera in order to detect Pregnancy Associated Glycoprotein (PAG) in Swamp buffalo, *Proceeding of the 5th Annual conference of Asian Reproductive Biotechnology Society, November 26-30, 2008, Yunnan China*, p: 110-114,
5. Hanh N. V., Huu Q. X., Uoc N. T., Sulon J., Sousa N. M., Nguyen B.X. and Beckers J.F., 2008, Detection of placental lactogens in swamp buffalo by radioimmunoassay technique, *Reprod. Fert. and Develop*, 21(1) 152–153,
 6. Nguyễn Văn Hạnh, Melon Noelita de Sousa, Nguyễn Thị Ước, Quán Xuân Hữu, Bùi Xuân Nguyên và Jean Francois Beckers (2008) Nghiên cứu khả năng định lượng Glycoprotein liên kết có chứa (PAG) ở trâu đầm lầy bằng kháng thể kháng PAG dê và kháng PAG bò. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 6 (4), 423-429.
 7. Van Hanh N., Uoc N. T., Sousa M.N., Bui X.N. and Beckers J.F. The expression of placental lactogen in swamp buffalo. *Proceeding of the 6th Annual conference of Asian Reproductive Biotechnology Society. November 26-30, 2009, Cambodia: 116-121.*
 8. Van Hanh N., Sulon J., Sousa M.N., Barbato O., Bui X.N, and Beckers J.F., Correlation between species antibodies in radioimmunoassay for swamp buffalo pregnancy-associated glycoprotein (PAG) concentrations, (Submitted),
 9. Van Hanh N., Sousa M.N., Bui X.N. and Beckers J.F., Conceptus biometry correlations during pregnancy in Swamp buffalo (Submitted),
 10. Van Hanh N., Barbato O., Sulon J., Sousa M.N., Bui X.N. and Beckers J.F., Comparison valuation of three PAG antisera for early pregnancy diagnosis in bovine routine samples (Submitted),