

Khu vực huyện Tiểu Cần, tỉnh Trà Vinh năm 2020.
Tạp Chí Khoa Học Nghiên Cứu Sức Khỏe Và Phát Triển. 2022;06:133-140.

8. Hoàng Ngọc Sơn (2021). Thực trạng nhân lực,

sự hài lòng và một số yếu tố liên quan đến sự hài lòng của nhân viên y tế trung tâm y tế huyện Nguyễn Bình, Cao Bằng năm 2021, Luận văn Thạc sĩ y tế công cộng, Đại học Thăng Long.

KHẢO SÁT ĐỘC TÍNH CỦA BERBERIN CLORID SỬ DỤNG MÔ HÌNH CÁ NGỰA VẼN (DANIO RERIO)

Vũ Thị Hồng Hạnh¹

TÓM TẮT

Berberin là một alkaloid tự nhiên đã được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh đường tiêu hóa như đau bụng, tiêu chảy. Hiện nay, berberin được nghiên cứu nhiều tác dụng dược lý tiềm năng để điều trị các bệnh tiểu đường, suy tim, ung thư, rối loạn thần kinh. Như vậy, việc nghiên cứu một mô hình động vật phù hợp để khảo sát tác dụng dược lý của berberin là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, mô hình cá ngựa vằn (*Danio rerio*) từ 1 đến 120 giờ tuổi được sử dụng để nghiên cứu độc tính của berberin clorid (nguồn gốc Việt Nam) với nồng độ từ 1 đến 100 µg/mL. Kết quả cho thấy rằng, với nồng độ từ 70 µg/mL berberin clorid gây ảnh hưởng có hại cho cá ngựa vằn làm giảm khả năng phát triển của cá ngựa vằn, giảm nhịp tim và giảm tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn. LD₅₀ của berberin đối với cá ngựa vằn là 90,40 µg/mL.

Từ khóa: cá ngựa vằn, berberin, độc tính

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE TOXICITY OF BERBERIN CLORID USING ZEBRAFISH MODEL (DANIO RERIO)

Berberin – natural alkaloid compounds - have been widely used to treat gastrointestinal diseases such as abdominal pain, diarrhea. Nowadays, several modern pharmacological properties of berberin have been investigated against some pathological conditions such as diabetes, heart failure, cancer and neurodegenerative disorders. Thus, the investigation of animal model to examine the pharmacological properties of berberin has been necessary. In this research, the toxicity of berberin (from 1 to 100 µg/mL) was explored using the zebrafish model (from 1hpf to 120 hpf). The result showed that berberin (70 µg/mL) were toxic to zebrafish by reducing the development of zebrafish, reducing the heart beat and reducing the survival rate of zebrafish. The lethal death 50 of berberin was 90.40 µg/mL.

Keywords: Zebrafish, berberin, toxicity

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Berberin là một chất kháng khuẩn và các ký

sinh trùng đường ruột như *ly amip*, *E. Coli*; được sử dụng điều trị tại chỗ các bệnh đường tiêu hóa như đau bụng, tiêu chảy. Hiện nay, có nhiều nghiên cứu cho thấy berberin còn có nhiều tác dụng dược lý tiềm năng như giảm đường huyết, chống xơ vữa động mạch, bảo vệ gan, chống oxy hóa, điều hòa miễn dịch, ức chế tế bào ung thư, giảm lipid máu [1]. Để tiếp tục nghiên cứu những tác dụng dược lý tiềm năng của berberin, cần xây dựng một mô hình động vật phù hợp. Đầu tiên mô hình động vật được lựa chọn cần phải phù hợp để sử dụng thuốc qua đường tiêu hóa, phù hợp để sàng lọc độc tính của thuốc. Loại động vật này cần có cấu trúc gen và sự phát triển tương tự con người, sinh sản nhanh để có thể tăng số lượng động vật tham gia thí nghiệm, tăng ý nghĩa thống kê, tiết kiệm chi phí.

Một số nghiên cứu đã khảo sát độc tính của berberin sử dụng mô hình động vật có vú, tuy vậy, mô hình động vật có vú có một số hạn chế như khó quan sát ảnh hưởng của berberin trên cơ thể động vật có vú, chi phí nghiên cứu lớn, những yêu cầu nghiêm ngặt về đạo đức nghiên cứu, mất nhiều thời gian nghiên cứu do cần thời gian cho sự phát triển của động vật. Trong nhiều năm gần đây, mô hình cá ngựa vằn nổi lên như một mô hình động vật có nhiều ưu điểm trong việc thử nghiệm lâm sàng cho các nghiên cứu y sinh học. Những ưu điểm nổi bật của cá ngựa vằn được kể đến như cá ngựa vằn phát triển nhanh so với các động vật khác, trung bình khoảng 3 tháng cá ngựa vằn đã trở thành cá thể trưởng thành và có thể sinh sản [2], với mỗi lần sinh sản được khoảng 200 trứng cá [3]; sự sinh sản nhanh của cá ngựa vằn sẽ giúp cung cấp số lượng động vật lớn tham gia vào các thí nghiệm y sinh học, tiết kiệm chi phí. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng cá ngựa vằn là mô hình động vật để khảo sát độc tính của berberin. Cá ngựa vằn là mô hình động vật phù hợp sử dụng cho thuốc qua đường tiêu hóa, vì thuốc chỉ cần pha loãng trong môi trường nuôi dưỡng, khi đó thuốc có thể qua đường tiêu hóa của cá ngựa vằn và hấp thu vào cơ thể. Hơn thế nữa, cá ngựa

¹Đại học Dược Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Vũ Thị Hồng Hạnh

Email: hanhvth@hup.edu.vn

Ngày nhận bài: 13.6.2023

Ngày phản biện khoa học: 15.8.2023

Ngày duyệt bài: 23.8.2023

vẫn là động vật có ưu điểm là trong suốt, có thể dễ dàng quan sát được các bộ phận trong cơ thể, và sự biến đổi của các bộ phận trong cơ thể. Như vậy cá ngựa vằn là một mô hình động vật phù hợp để nghiên cứu độc tính của berberin.

II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ THIẾT BỊ NGHIÊN CỨU

Cá ngựa vằn (AB, wild type) được tuyển chọn qua ít nhất 2-3 lần sinh sản, nguồn giống từ đại học Quốc Gia Hà Nội. Các hóa chất được sử dụng bao gồm: NaCl, KCl, MgSO₄, CaCl₂, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, NaHCO₃, Na₂CO₃ (Trung Quốc), berberin clorid (Việt Nam); thức ăn cho cá ngựa vằn là thức ăn thô (kích thước 300/400 μm) (Việt Nam). Một số thiết bị được sử dụng bao gồm: bể điều nhiệt dung tích 20 L (Đức), bơm tuần hoàn nước (Đức), tủ ấm Memmert (Đức), đĩa petri 90×15 mm (Đức), lam kính lõm (Đức), kính hiển vi điện tử soi nổi Leica (Đức), kính hiển vi quang học Leica (Đức), bể đẻ trứng cá ngựa vằn, bể nuôi cá ngựa vằn.

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương pháp nuôi dưỡng cá ngựa vằn.

Cá ngựa vằn được nuôi trong bể nước (tank) có hệ thống bơm nước tuần hoàn, chất lượng nước được kiểm soát bao gồm: nhiệt độ nước 27 ± 1 °C được duy trì bởi điều hòa nhiệt độ và bể điều nhiệt; độ pH nước được kiểm soát 7,0 ± 0,1 có thể điều chỉnh bởi hệ đệm NaHCO₃ và Na₂CO₃. Hệ thống ánh sáng được duy trì bằng đèn điện được điều chỉnh với 14 giờ sáng /10 giờ tối.

Phương pháp sinh sản của cá ngựa vằn.

Cá ngựa vằn khoảng 3 tháng tuổi được tuyển chọn cho sinh sản. Cặp cá ngựa vằn (đực và cái) được đặt trong bể đẻ trứng và tách riêng bởi vách ngăn vào cuối buổi chiều, để qua đêm. Ngày kế tiếp, vách ngăn được loại bỏ, cặp cá ngựa vằn (đực và cái) được tiếp xúc, giao hợp và đẻ trứng.

Phương pháp nuôi dưỡng trứng cá và phôi cá. Trứng cá được rửa sạch, tập hợp và chuyển sang đĩa petri chứa dung dịch nuôi dưỡng cá (E3) (E3 chứa NaCl, 13,7 mM; KCl, 0,54 mM; MgSO₄, 1,0 mM; CaCl₂, 1,3 mM; Na₂HPO₄, 0,025 mM; KH₂PO₄, 0,044 mM; NaHCO₃, 4,2 mM). Dung dịch nuôi dưỡng cá E3 được thay mới hàng ngày. Trứng cá được giữ trong tủ ấm ở nhiệt độ khoảng 28,5 °C đến khi sử dụng. Tuổi của trứng cá được tính là số giờ sau thụ tinh (hours post fertilization - hpf). Trứng cá không thụ tinh hoặc không phát triển bình thường được loại bỏ.

Phương pháp đánh giá độc tính của berberin sử dụng cá ngựa vằn. Trứng cá đã

thụ tinh (1hpf) được chuyển vào đĩa petri, mỗi đĩa chứa 10 phôi trứng cá ngựa vằn. Berberin clorid được pha loãng trong môi trường nuôi dưỡng phôi cá ngựa vằn E3 với các nồng độ lần lượt là 1; 5; 10; 30; 50; 70; 100 μg/mL. Thêm 10 mL dung dịch E3 hoặc E3 chứa berberin với các nồng độ khác nhau vào đĩa petri chứa 10 phôi trứng cá ngựa vằn. Các dung dịch nuôi dưỡng cá ngựa vằn được thay mới hàng ngày. Tại các thời điểm 1hpf, 24hpf, 48hpf, 72hpf, 96hpf, 120 hpf số lượng phôi hoặc cá ngựa vằn chết, cá ngựa vằn dị dạng được ghi lại, hình ảnh được chụp lại sử dụng kính hiển vi điện tử soi nổi LEIKA. Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, lấy giá trị trung bình. Tại thời điểm 120hpf, hiện tượng bất thường phù màng tim, bất thường đuôi, bất thường cằm được ghi lại và chụp lại sử dụng kính hiển vi điện tử soi nổi.

Phương pháp đánh giá nhịp tim của cá ngựa vằn. Tại thời điểm 120hpf, nhịp tim của cá ngựa vằn được đếm trên kính hiển vi điện tử soi nổi, với mỗi lô thí nghiệm với nồng độ berberin clorid khác nhau, 03 cá ngựa vằn được đếm nhịp tim trong vòng 1 phút và ghi lại kết quả.

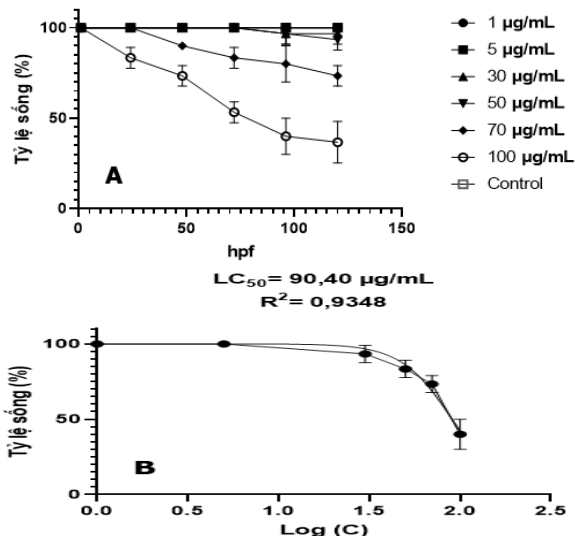
Phương pháp đánh giá kích thước của cá ngựa vằn. Tại thời điểm 120hpf, mỗi lô thí nghiệm với nồng độ berberin clorid khác nhau, 03 cá ngựa vằn được chụp ảnh bằng kính hiển vi soi nổi LEIKA, sau đó ảnh được xử lý bằng phần mềm imageJ để đo kích thước của cá ngựa vằn (từ đầu tới đuôi).

Phương pháp phân tích số liệu. Số liệu được phân tích dựa vào phần mềm Graph Prism 8.0. Student's t-test được sử dụng để so sánh giá trị trung bình của hai nhóm. Số liệu có giá trị thống kê nếu giá trị p ≤ 0,05.

IV. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Độc tính của berberin hydroclorid đối với sự phát triển của cá ngựa vằn. Trong thí nghiệm này, ảnh hưởng của berberin clorid đối với sự phát triển của cá ngựa vằn được thực hiện trên cá ngựa vằn (wild type, AB). Khi tăng dần nồng độ berberin clorid (1; 5; 10; 30; 50; 70; 100 μg/mL) trong dung dịch nuôi dưỡng cá ngựa vằn E3 sẽ ảnh hưởng tới tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn, tỷ lệ dị dạng liên quan đến đuôi, phù màng tim, cằm. Tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn ở các thời điểm 1; 24; 48; 72; 96; 120hpf được ghi lại (hình 1A) và LC₅₀ tại thời điểm 120hpf được tính toán dựa trên mối tương quan giữa log của nồng độ berberin clorid và phần trăm tỷ lệ sống sót (hình 1B). Kết quả cho thấy rằng từ 1hpf tới 120 hpf, tất cả các lô thí nghiệm

chỉ chứa dung dịch nuôi dưỡng cá E3, tỷ lệ sống sót đều là 100%, chứng tỏ dung dịch nuôi dưỡng cá E3 không có độc tính với cá ngựa vằn trong thời gian khảo sát. Tại thời điểm 24hpf, các lô thí nghiệm của cá ngựa vằn chứa berberin clorid với các nồng độ từ 1 đến 70 µg/mL, tỷ lệ sống sót là 100%; tuy nhiên, với nồng độ berberin clorid là 100 µg/mL thì tỷ lệ sống sót trung bình là 83%. Như vậy, berberin clorid có khả năng gây độc đối với cá ngựa vằn (24hpf) ở nồng độ 100 µg/mL. Tại các thời điểm phơi nhiễm lâu hơn của berberin clorid, tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn được ghi nhận giảm khi tăng nồng độ berberin. Cụ thể là, ở nồng độ 1 và 5 µg/mL, tỷ lệ cá ngựa vằn sống sót tới 120 hpf là 100%; tuy nhiên tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn giảm xuống còn 96% và 93% khi tăng nồng độ của berberin 30 và 50 µg/mL. Khi tăng nồng độ của berberin lên 70 µg/mL, tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn lần lượt là 80 và 73% ở các thời điểm 96 và 120hpf. Đặc biệt là, khi tăng nồng độ của berberin lên 100 µg/mL, tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn giảm mạnh còn lần lượt là 40 và 36,6% ở các thời điểm 96 và 120hpf. Để tính LC₅₀ của cá ngựa vằn, chúng tôi chọn thời điểm 120hpf là thời điểm cuối của khảo sát độc tính cá ngựa vằn, khi đó cá ngựa vằn đã được coi trưởng thành đối với hệ tiêu hóa, có thể tự ăn và phát triển. Chúng tôi đã xây dựng đường cong mối liên hệ giữa log nồng độ berberin clorid và % tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn. Qua phân tích, kết quả thu được LC₅₀ của cá ngựa vằn ở thời điểm 120hpf là 90,40 µg/mL với hệ số tương quan R²= 0,9348. Như vậy, qua thí nghiệm này có thể kết luận, berberin clorid có khả năng gây độc với cá ngựa vằn với LC₅₀ = 90,40 µg/mL.

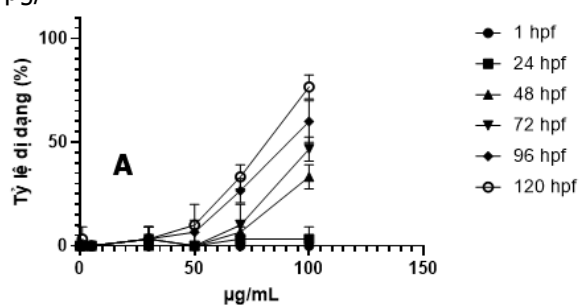


Hình 1: Độc tính của berberin clorid đối với

sự phát triển của cá ngựa vằn

(A) Tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn qua các thời điểm 1; 24; 48; 96; 120 hpf ở các nồng độ phơi nhiễm của cá ngựa vằn từ 0; 1; 5; 30; 50; 70; 100 µg/mL và (B) Mối tương quan giữa log nồng độ berberin và tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn ở thời điểm 120 hpf (n=3).

Tỷ lệ dị dạng của cá ngựa vằn ở các thời điểm 1h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h được ghi lại và biểu diễn trên hình 2A. Kết quả tỷ lệ dị dạng cho thấy rằng, với nồng độ phơi nhiễm berberin là 50 µg/mL, tỷ lệ cá ngựa vằn bị dị dạng cao nhất là 10% ở thời điểm 120 hpf. Khi tăng nồng độ berberin clorid phơi nhiễm lên 70 µg/mL thì tỷ lệ dị dạng tăng lên 33% ở 120 hpf. Đặc biệt là, khi nồng độ phơi nhiễm của berberin là 100 µg/mL thì tỷ lệ dị dạng tăng mạnh tới 76,6% ở thời điểm 120hpf. Các dị dạng được ghi nhận có thể là dị dạng đuôi, cằm, phù màng tim (hình 2B). Như vậy qua các thí nghiệm về sự ảnh hưởng của berberin clorid đối với tỷ lệ sống sót và tỷ lệ dị dạng của cá ngựa vằn, nồng độ berberin clorid được lựa chọn để không ảnh hưởng đến sự phát triển của cá ngựa vằn là 50 µg/mL.

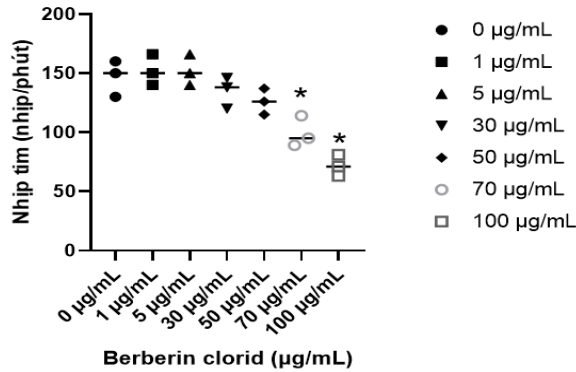


Hình 2: Ảnh hưởng của berberin đối với sự phát triển của cá ngựa vằn

(A) Tỷ lệ cá ngựa vằn dị dạng khi phơi nhiễm berberin clorid ở các nồng độ từ 1 đến 100 µg/mL ở các thời điểm từ 1 đến 120 hpf và (B) Một số dị dạng liên quan đến bất thường đuôi, cằm và phù màng tim (n=3)

Ảnh hưởng của berberin hydroclorid đối nhịp tim của cá ngựa vằn. Nhịp tim của cá ngựa vằn được ghi lại ở thời điểm 120hpf, với mỗi lô thí nghiệm nồng độ phơi nhiễm berberin

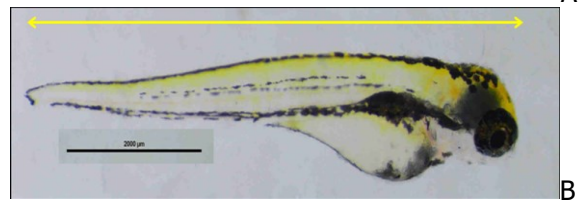
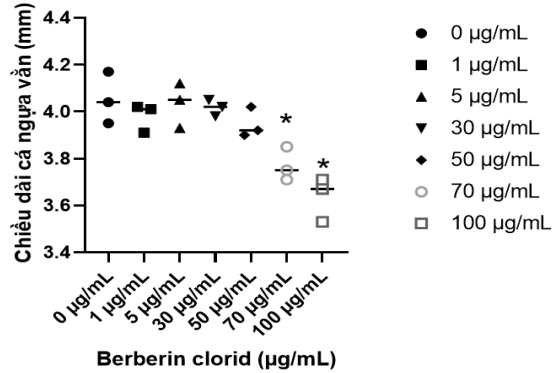
clorid khác nhau, 03 cá ngựa vằn được đếm nhịp tim trên kính hiển vi soi nổi LEIKA, kết quả được biểu diễn ở hình 3. Qua kết quả nhịp tim của cá ngựa vằn cho thấy rằng với cá ngựa vằn không phơi nhiễm berberin, nhịp tim của cá ngựa vằn nằm trong khoảng 130-160 nhịp/ phút. Khi nồng độ phơi nhiễm berberin clorid từ 1 đến 50 µg/mL, nhịp tim của cá ngựa vằn có xu hướng giảm xuống từ 120-150 nhịp/phút; tuy nhiên nhịp tim cá ngựa vằn giảm không có ý nghĩa thống kê. Khi nồng độ phơi nhiễm của cá ngựa vằn tăng lên đến 70 và 100 µg/mL thì nhịp tim của cá ngựa vằn giảm mạnh còn lần lượt là 99 và 71 nhịp/ phút ($p < 0,05$). Như vậy berberin clorid có ảnh hưởng đến hệ thống tim mạch của cá ngựa vằn, cụ thể là berberin clorid làm giảm nhịp tim của cá ngựa vằn.



Hình 3: Ảnh hưởng của berberin đối với nhịp tim của cá ngựa vằn khi phơi nhiễm berberin clorid ở các nồng độ từ 1 đến 100 µg/mL ở các thời điểm từ 1 đến 120 hpf ($n=3$)

Ảnh hưởng của berberin hydrochlorid đối chiều dài của cá ngựa vằn. Chiều dài cơ thể của cá ngựa vằn (từ đầu tới đuôi) được ghi lại ở thời điểm 120hpf, với mỗi lô thí nghiệm nồng độ phơi nhiễm berberin clorid khác nhau, 03 cá ngựa vằn được chụp kính hiển vi soi nổi LEIKA (cá ngựa vằn được chụp từ đầu đến đuôi, ảnh chụp phải có thước đo, sau đó được xử lý bằng phần mềm imageJ) (Hình 4B), kết quả chiều dài cá ngựa vằn của các lô thí nghiệm được biểu diễn ở hình 4A. Kết quả cho thấy rằng, chiều dài cơ thể của cá ngựa vằn (tính từ đầu tới đuôi) nằm trong khoảng từ 3,9 đến 4,2 mm tại thời điểm 120hpf. Với các cá ngựa vằn được phơi nhiễm berberin clorid nồng độ từ 1 đến 50 µg/mL, chiều dài cơ thể cá ngựa vằn có xu hướng giảm, tuy nhiên việc giảm chiều dài cơ thể cá ngựa vằn không có ý nghĩa thống kê. Với nồng độ phơi nhiễm berberin tăng lên 70 và 100 µg/mL, chiều dài cơ thể cá ngựa vằn giảm mạnh

xuống lần lượt là 3,75 và 3,7 mm ($p < 0,05$). Như vậy berberin clorid có ảnh hưởng đến sự phát triển của cá ngựa vằn, cụ thể là berberin clorid làm giảm chiều dài cơ thể của cá ngựa vằn (chiều dài từ đầu tới đuôi).



Hình 4: (A) Ảnh hưởng của berberin đối với chiều dài cơ thể của cá ngựa vằn khi phơi nhiễm berberin clorid ở các nồng độ từ 1 đến 100 µg/mL ở thời điểm 120 hpf ($n=3$) và (B) chiều dài cơ thể cá ngựa vằn được tính từ đầu tới đuôi.

V. BÀN LUẬN

Trong phạm vi nghiên cứu này, độc tính của berberin clorid đối với cá ngựa vằn (wild type, AB) trong thời gian phát triển từ 1hpf tới 120 hpf đã được khảo sát. Từ kết quả tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn ở thời điểm 120 hpf, LC_{50} của berberin clorid đối với cá ngựa vằn được xác định là 90,40 µg/mL. So sánh với các nghiên cứu đã được công bố trước đây LC_{50} của berberin clorid là 129,2 µg/mL [4], kết quả của thí nghiệm này có sự sai khác về liều gây chết 50% cá ngựa vằn ở 120 hpf. Kết quả này có thể được giải thích do nguồn gốc của berberin clorid khác nhau, có thể dẫn tới liều gây chết 50% khác nhau. Berberin clorid được sử dụng trong thí nghiệm này có nguồn gốc từ Việt Nam, có thể dẫn đến liều gây chết 50% cá ngựa vằn thấp hơn so với các thí nghiệm đã được nghiên cứu trước đó. Với các thí nghiệm nghiên cứu độc tính của berberin đối với cá ngựa vằn trước đây, độc tính của berberin đối với cá ngựa vằn tập trung vào tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn và độc tính trên hệ tuần hoàn như phù màng tim (thời điểm 72hpf), hệ thống mạch máu (thời điểm 48hpf)

đến 72 hpf) [5]. Với nghiên cứu đã thực hiện, ngoài việc khảo sát tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn ở các thời điểm phát triển của cá ngựa vằn với các nồng độ phơi nhiễm khác nhau của cá ngựa vằn, chúng tôi đã khảo sát ảnh hưởng của berberin đối với nhịp tim, tỷ lệ dị dạng và chiều dài cơ thể của cá ngựa vằn. Như vậy trong điều kiện tiến hành nghiên cứu, chúng tôi đã ghi nhận berberin có ảnh hưởng gây độc đối với cá ngựa vằn. Qua nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy liều lớn nhất của berberin không gây ảnh hưởng đến sự phát triển của cá ngựa vằn là 50 µg/mL và liều này có thể được sử dụng là liều an toàn cho các nghiên cứu của berberin trên cá ngựa vằn tiếp theo.

Trong thí nghiệm này, độc tính của berberin clorid đối với cá ngựa vằn được thực hiện khi cá ngựa vằn được phơi nhiễm với berberin clorid từ 1hpf, với mỗi 24 giờ dung dịch nuôi dưỡng phôi cá ngựa vằn chứa berberin được thay thế dung dịch mới với cùng nồng độ. Trước khi thay thế dung dịch nuôi dưỡng cá, cá ngựa vằn được rửa sạch 3 lần bằng nước cất. Như vậy berberin clorid có thể thấm qua màng phôi và hấp thu vào phôi cá ở những giai đoạn đầu (1hpf đến 24hpf) [6]. Với những giai đoạn phát triển lâu hơn, khi cá ngựa vằn đã tách màng phôi, berberin clorid có thể được thấm qua da, hoặc hấp thu qua mang [7]. Ngoài ra, khi cá ngựa vằn trưởng thành hơn (từ 48hpf) hệ thống tiêu hóa cá ngựa vằn đã phát triển và dần hoàn thiện, các chất tan trong môi trường nuôi dưỡng cá có thể được hấp thu qua đường tiêu hóa [8]. Như vậy, trong thí nghiệm này, berberin clorid có thể được hấp thu vào cá ngựa vằn thông qua thấm qua màng phôi, thấm qua da, hấp thu qua mang và hấp thu qua đường tiêu hóa. Khi đó, berberin sẽ gây hại cho sự phát triển của cá ngựa vằn, làm giảm sự phát triển của cá ngựa vằn về chiều dài của cơ thể, làm giảm nhịp tim, gây dị dạng như phù màng tim, bất thường đuôi, bất thường hàm. Ngoài ra, khi phơi nhiễm berberin ở nồng độ cao từ 70µg/mL đến 100µg/mL, lượng berberin được hấp thu vào cá ngựa vằn lớn nên có thể đã gây nên tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn giảm mạnh xuống 70% và 40%.

Như đã thảo luận ở trên, để lựa chọn một mô hình động vật phù hợp cho nghiên cứu độc tính của berberin clorid, chúng tôi đã khảo sát một số mô hình động vật như chuột, thỏ. Tuy nhiên, chúng tôi nhận thấy rằng nếu sử dụng mô hình động vật như chuột, thỏ... chi phí sử dụng

cho nghiên cứu lớn hơn. Hơn nữa, với mô hình động vật đã sử dụng là cá ngựa vằn, do chi phí thấp và số lượng trứng cá ngựa vằn trong 1 lần đẻ trứng, nên chúng tôi có thể thử nghiệm phơi nhiễm berberin clorid với nhiều nồng độ khác nhau. Từ đó chúng tôi đánh giá được một số tác động gây hại của berberin đối với cá ngựa vằn.

VI. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã khảo sát ảnh hưởng của berberin clorid (nguồn gốc Việt Nam) tới sự phát triển của cá ngựa vằn. Kết quả thu được berberin clorid có ảnh hưởng gây hại đối với cá ngựa vằn từ 1 giờ tuổi đến 120 giờ tuổi. Cụ thể là berberin clorid làm giảm nhịp tim của cá ngựa vằn, làm giảm sự phát triển và chiều dài cơ thể của cá ngựa vằn. Ở nồng độ cao hơn 70 µg/mL, sự phơi nhiễm của berberin đối với cá ngựa vằn làm tăng tỷ lệ dị dạng của cá ngựa vằn như phù màng tim, bất thường đuôi, bất thường hàm. Ở nồng độ từ 70 µg/mL, berberin làm giảm tỷ lệ sống sót của cá ngựa vằn. Như vậy, berberin clorid có tác động gây hại đối với sự phát triển của cá ngựa vằn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Vuddanda, P.R., S. Chakraborty, and S. Singh, Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities.** Expert Opin Investig Drugs, 2010. 19(10): p. 1297-307.
2. **Kroeger, P.T., et al.,** Production of haploid zebrafish embryos by in vitro fertilization. Journal of Visualized Experiments, 2014(89): p. 51708.
3. **Hallare, A., et al.,** Comparative embryotoxicity and proteotoxicity of three carrier solvents to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006. 63(3): p. 378-88.
4. **Ali, S., H.G. van Mil, and M.K. Richardson,** Large-scale assessment of the zebrafish embryo as a possible predictive model in toxicity testing. PLoS One, 2011. 6(6): p. e21076.
5. **Martini, D., et al.,** Exposure to the natural alkaloid Berberine affects cardiovascular system morphogenesis and functionality during zebrafish development. Sci Rep, 2020. 10(1): p. 17358.
6. **Pelka, K.E., et al.,** Size does matter – Determination of the critical molecular size for the uptake of chemicals across the chorion of zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Aquatic Toxicology, 2017. 185: p. 1-10.
7. **Hwang, P.P.,** Ion uptake and acid secretion in zebrafish (*Danio rerio*). J Exp Biol, 2009. 212(Pt 11): p. 1745-52.
8. **Korbut, R., et al.,** Antigen Uptake during Different Life Stages of Zebrafish (*Danio rerio*) Using a GFP-Tagged *Yersinia ruckeri*. PLoS One, 2016. 11(7): p. e0158968.