



**EFFECTS OF ORGANOTIN COMPOUNDS
ON CHROMOSOMAL DAMAGE
AND SPERM ABNORMALITY IN RODENTS**

WANNA TANGLAKANAVANICH

a

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(TOXICOLOGY)

**With compliments
of**

Faculty of Graduate Studies

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

7H

W2492

1996

1996

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาผลของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ที่มีต่อโครโมโซม และตัวอสุจิในสัตว์แพะ
ผู้วิจัย	วรรณภา ตั้งลักขณวิชัย
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พิษวิทยา)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	
	ปัญญา เต็มเจริญ , สพ.บ. , วท.ม.
	สุนทร อภิบาล , วท.ม.
	พรสวรรค์ วิสุทธิวิเศษ , ปร.ด.
วันที่สำเร็จการศึกษา	4 ตุลาคม พ.ศ. 2539

บทคัดย่อ

สารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ (Triphenyltin hydroxide) และไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ (Dibutyltin dichloride) จัดเป็นสารประกอบพวกดีบุกอินทรีย์ (organotin compound) ซึ่งใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในวงการเกษตรกรรม และอุตสาหกรรม ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารทั้งสองชนิด โดยวิธีไมโครนิวเคลียส (Micronucleus test) คือดูการเกิดไมโครนิวเคลียส ในเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักร และดูความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ (Sperm morphology test)

การทดสอบโดยใช้วิธีไมโครนิวเคลียส เป็นการดูความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโครโมโซม โดยการป้อนสารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ ขนาด 35, 70 และ 140 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่ง กิโลกรัม (มก./กก.) หรือป้อนด้วยสารไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ขนาด 10, 25 และ 50 มก./กก. ให้กับหนูถีบจักร จากนั้นนำไขกระดูก (Bone marrow) จากกระดูกต้นขา (Femur) ของสัตว์ทดลองหลังจากรับสารแล้วประมาณ 48 ชั่วโมง มาตรวจนับเซลล์ polychromatic erythrocyte (PCE) ที่มีไมโครนิวเคลียส ในเซลล์ PCE จำนวน 1,000 เซลล์ พร้อมทั้งทำการนับจำนวนเซลล์ normochromatic erythrocyte (NCE) และ polychromatic erythrocyte จำนวน 400 เซลล์ แล้วคำนวณหาอัตราส่วนระหว่าง PCE : NCE ผลการทดลองพบว่า สารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ และไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ในขนาดต่างๆ ไม่มีผลทำให้จำนวนเซลล์ PCE ที่มีไมโครนิวเคลียส เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ เทียบกับหนูที่ได้น้ำมันงา (sesame oil) แต่พบว่า อัตราส่วนของเซลล์ PCE : NCE ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในกลุ่มของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ที่ขนาด 70 และ 140 มก./กก. และสารไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ที่ขนาด 25 และ 50 มก./กก. เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อให้สารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ หรือไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ด้วยขนาด 140 และ 50 มก./กก. ตามลำดับ แก่หนูถีบจักรทาง

ปากเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง แล้วนำไขกระดูกมาทำการตรวจนับเช่นเดียวกัน ผลการทดลองพบว่าสารทั้งสองชนิดไม่มีผลทำให้จำนวนเซลล์ PCE ที่มีไมโครนิวเคลียสเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่อัตราส่วนเซลล์ PCE : NCE ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากได้รับสารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ ประมาณ 48 หรือ 72 ชั่วโมง หรือหลังจากได้รับสารไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ประมาณ 24 หรือ 48 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมของทุกระยะเวลาที่ทำการศึกษาในสัตว์ทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไปถึง 72 ชั่วโมง จะเริ่มเห็นการฟื้นตัว (recovery) ของเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยพบว่าอัตราส่วนของเซลล์ PCE : NCE เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังได้ทดสอบดูความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ (Sperm morphology test) ซึ่งเป็นการทดสอบเพื่อดูความผิดปกติที่เกิดขึ้นในรูปร่างของตัวอสุจิ โดยการให้สารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์แก่หนูถีบจักรในขนาด 10, 20 และ 40 มก./กก. และสารไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ขนาด 5, 15 และ 30 มก./กก. ทางปากเป็นเวลา 5 วันติดต่อกัน หลังจากให้สารครั้งแรกเข้าไป ประมาณ 35 วัน จึงนำตัวอสุจิจากคอตตา อีพิดีดิมิส (cauda epididymis) มาตรวจนับจำนวนตัวอสุจิ ทั้งหมด 500 ตัว และดูว่ามีตัวอสุจิ ที่รูปร่างผิดปกติกี่ตัว แล้วคัดออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งทำการนับจำนวนของตัวอสุจิ โดยใช้ฮีโมไซโตมิเตอร์ (hemocytometer) แล้วคำนวณออกมาเป็นจำนวนตัวอสุจิ ต่อหน้าหนักของ คอตตา อีพิดีดิมิส หนึ่งกรัม จากผลการทดลองพบว่าสารทั้งสองชนิดไม่มีผลทำให้จำนวนตัวอสุจิ ที่ผิดปกติเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนตัวอสุจิ ในหนูถีบจักร เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

สำหรับการศึกษาฤทธิ์เฉียบพลันของสารทั้งสองชนิด เพื่อดูพิษต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ ในหนูถีบจักรได้กระทำโดยใช้การทดสอบค่าต่างๆทางชีวเคมีในเลือดเป็นตัวบ่งชี้ เมื่อสัตว์ได้รับสารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ทางปากขนาด 35, 70 หรือ 140 มก./กก. และสารไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ขนาด 10, 25 หรือ 50 มก./กก. เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง นำพลาสมา (plasma) มาตรวจหาค่าทางชีวเคมี ซึ่งได้แก่ GOT, GPT, ALP, T-Bil, D-Bil, cholesterol, triglycerides, total protein, BUN, calcium, inorganic phosphorus และ glucose ปรากฏว่าสารไตรฟีนิลทิน ไฮดรอกไซด์ ในทุกขนาดที่ให้สัตว์ทดลองไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าต่างๆเหล่านั้น ยกเว้นระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเลือดลดลงตามขนาดที่ใช้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จึงเป็นไปได้ว่าสารนี้อาจทำให้การดูดซึมของ phosphorus กลับสู่เลือดที่ท่อไตส่วนต้นลดลง เพราะการทำงานของท่อไตส่วนต้นเสียไป สำหรับสารไดบิวทิลทิน ไดคลอไรด์ ขนาดตั้งแต่ 25 มก./กก.ขึ้นไป พบว่ามีผลทำให้ระดับของ GOT, GPT, ALP และ cholesterol สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลของ glucose ต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และเมื่อสารนี้ขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 50 มก./กก. ก่อให้เกิดผลต่อระดับสารทางชีวเคมีที่คล้ายกัน โดยส่วนใหญ่จะให้ผลที่รุนแรงกว่ามาก และยังทำให้ระดับ T-Bil กับ D-Bil สูงขึ้นจนเกิดนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า

ไดบิวทิล-ทิน ไดคลอไรด์ สามารถก่อให้เกิดพิษต่อตับ และทางเดินน้ำดีได้ ทั้งยังเพิ่มความเป็นพิษตามระดับของขนาดสารที่หนูถีบจักรได้รับ.



Thesis Title Effects of organotin compounds on chromosomal
 damage and sperm abnormality in rodents
Name Wanna Tanglakanavanich
Degree Master of Science (Toxicology)
Thesis Supervisory Committee
 Punya Temcharoen , D.V.M., M. Sc.
 Suntaree Apibal , M.Sc.
 Pornsawan Visoottiviseth , Ph.D.
Date of Graduation 4 October B.E. 2539 (1996)

Abstract

Triphenyltin hydroxide (TPTH) and dibutyltin dichloride (DBTC) are organotin compounds which are widely used in both agriculture and industry. They were subjected to investigate for their mutagenic activities *in vivo* by using micronucleus test and sperm morphology test.

The micronucleus test is *in vivo* test for detection chromosomal damage. In this study mice were administered orally with either TPTH or DBTC. The doses of TPTH were 35, 70 or 140 mg/kg body weight while the doses of DBTC were 10, 25 or 50 mg/kg body weight. After 48 hr of treatment, bone marrow samples were obtained from both femurs. The cells were then scored for frequencies of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCEs) and were counted for the ratio of polychromatic erythrocyte (PCE) to normochromic erythrocyte (NCE). It was found that there was not significantly increased in the frequencies of MNPCEs in those animals which received TPTH or DBTC at all doses treatment. However, PCE : NCE ratios were significantly decreased at 70 and 140 mg/kg body weight of TPTH or at 25 and 50 mg/kg body weight of DBTC when comparing

with the control group. In addition, the time-course effect of these two compounds were also study. The mice were administered orally with 140 mg/kg body weight TPTH or 50 mg/kg body weight DBTC and then bone marrow contents were sampled at 24, 48 or 72 hr after treatment. The results showed that the frequencies of MNPCEs induced by both compounds were not significantly increased at all post-treatment sampling times. However, the ratios of PCE : NCE at 48 and 72 hr after TPTH treatment and at 24 and 48 hr of DBTC treatment were significantly decreased. The PCE : NCE ratio would increase at 72 hr by comparison to sampling at 48 hr due to erythropoietic cell recovery.

Moreover, the mutagenic activities of TPTH and DBTC were examined in mice by using the sperm morphology test. Mice were administered orally for 5 consecutive days with TPTH at doses of 10, 20 or 40 mg/kg body weight or DBTC at doses of 5, 15 or 30 mg/kg body weight. Then at 35 days after the first treatment, sperms were obtained from both cauda epididymises and scored for the frequencies of morphological abnormalities and counted for the number of sperms per gram of cauda epididymises by using hemocytometer. It was found that there were not significantly increased in the sperm morphological abnormalities and sperm number at all doses of the both compounds treatment when comparing with the control groups.

The acute toxic effects of TPTH at doses of 35, 70 or 140 mg/kg body weight or DBTC at doses of 10, 25 or 50 mg/kg body weight on the blood chemistry parameters were also investigated in mice after 48 hr oral treatment. The results showed that TPTH at all dose levels had no effect on all parameters except inorganic phosphorus. The plasma level of inorganic phosphorus was significantly decreased at the dose of 35 mg/kg body weight of TPTH. It was likely that TPTH was capable of inducing the

abnormal reabsorption of phosphorus at the proximal convoluted tubules of kidney. Mice treated with DBTC at the dose level of 25 mg/kg body weight showed apparently increased in the level of GOT , GPT , ALP and cholesterol while glucose levels of the treated groups were significantly lower than the control group ($p < 0.05$). These increasing levels were higher when the dose of DBTC increased. In the dose of 50 mg/kg body weight of DBTC , the levels of T-Bil , D-Bil were also significantly increased ($p < 0.01$). It showed that DBTC was capable of inducing the hepatotoxicity and bile duct lesion in the dose-dependent manner.