

**ACUTE TOXICITY AND CARCINOGENICITY STUDY OF
STEVIOL IN HAMSTERS**

LIENGCHAI CHATURAT

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

IN

**FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

1995

Copyright by Mahidol University

32264

อวัยวะต่างๆของสัตว์ทดลองที่ตายหลังจากได้รับสารสตีวีออลแล้ว พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาในท่อไต คือมีการเสื่อมสลายของเซลล์บุท่อไต ส่วนต้นและพบสารสีชมพู (Hyaline cast) ทั้งในส่วนต้นและส่วนปลายของท่อไต ส่วนการเปลี่ยนแปลงในตับ พบว่ามีการแอคคิวโรลเล็กลงในซิทอพลาสซึมของเซลล์ตับมากขึ้น ดังนั้นสาเหตุของการตายน่าจะเกี่ยวข้องกับภาวะไตวายเฉียบพลัน สำหรับการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสตีวีออลต่อการทำงานของไตและตับนั้นได้กระทำโดยยาสารชีวเคมีในซีรัมเป็นตัวบ่งชี้เมื่อได้รับสารสตีวีออลทางปากขนาด 5 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ภายหลังจากที่ได้รับสารนี้แล้ว ปรากฏว่าความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในเลือด (BUN) และครีเอตินินเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ได้รับสารขณะที่ระดับของเอนไซม์ AST และ ALT เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและผลจากการตรวจสอบทางพยาธิวิทยาในหนูที่ฆ่าหลังจากได้รับสารสตีวีออล 48 ชั่วโมงก็พบความผิดปกติที่ไตเช่นกัน

การศึกษาถึงพิษเรื้อรังและฤทธิ์ในการก่อมะเร็งเมื่อได้รับสารสตีวีออลติดต่อกันเป็นเวลานานๆ ก็ได้ทำการทดสอบในหนูแฮมสเตอร์ โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 55 ตัวในแต่ละเพศ แต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีสตีวีออลในระดับต่างๆกันคือ 0, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัมเป็นระยะเวลา 18 เดือน (วิทยานิพนธ์นี้จะครอบคลุมเฉพาะช่วง 1 ปีแรก) หลังจากสัตว์ทดลองได้รับสารสตีวีออลนาน 6 และ 12 เดือน ก็เลือกหนูเพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัวจากแต่ละกลุ่มเพื่อทำการศึกษาด้านโลหิตวิทยา, การตรวจหาสารชีวเคมีในเลือด และการตรวจทางพยาธิวิทยา จากการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสตีวีออลทั้ง 2 ระดับและกลุ่มควบคุมในด้านการเจริญเติบโต, การกินอาหารและการนำอาหารไปใช้เสริมสร้างร่างกายรวมถึงอัตราการตาย นอกจากนี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดปริมาณที่ได้รับสารสตีวีออลกับผลการตรวจทางด้านโลหิตวิทยา, การตรวจหาสารทางชีวเคมีในเลือด, การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและอุบัติการณ์ของการเกิดโรคและมะเร็งชนิดต่างๆ

Thesis Title Acute Toxicity and Carcinogenicity
 Study of Steviol in Hamsters

Name Liengchai Chaturat

Degree Master of Science (Toxicology)

Thesis Supervisory Committee

 Chaivat Toskulkao, Ph.D.
 Thirayudh Glinsukon, Sc.D.
 Punya Temcharoen, D.V.M., M.S.

Date of Graduation 19 April B.E. 2538 (1995)

ABSTRACT

Stevioside, a diterpene glycoside, is the principle sweet constituent in Stevia rebaudiana Bertoni, leaves. Steviol, an acidic aglycone, is a product of enzymatic hydrolysis of stevioside. They were subjected to investigate for their acute toxicity in various animal species including hamster, rat and mouse and chronic/carcinogenicity study in hamsters. Acute toxicity was performed to compare the susceptibility of steviol and stevioside given via intragastric intubation(I.G.) in both sexes of three differences animal species such as hamster, rat and mouse. General signs and symptoms were observed and the numbers of dead animals were recorded within a period of 14 days after stevioside or steviol administration for estimation of LD₅₀ values. Hamsters were found to be more susceptible to steviol than rats and mice. Orally LD₅₀ values of steviol in hamsters were 5.20

and 6.10 g/kg BW for male and female, respectively. In rats and mice, orally LD₅₀ values of steviol were more than 15 g/kg BW in both sexes. Stevioside at the dose level as high as 15 g/kg BW could not induce any lethality to all three animal species when given by the same route. The possible causes of death were then investigated by histopathological examination. Histopathological changes, mostly seen in kidney particularly in the proximal convoluted tubules showed hydropic degeneration of epithelial cell and found hyaline cast in the lumen of both proximal and distal convoluted tubules. Therefore, the possible cause of death may be due to acute renal failure although some extent hepatotoxic can be found. Effects of steviol on the serum biochemical parameters were also investigated. At the dose level of 5 g/kg BW were given to male hamsters. After treatment, BUN and creatinine significantly increased with time but AST and ALT activities were slightly increased. It is likely that steviol is capable of inducing nephrotoxicity with evidence of histopathologic changes in kidney.

Long term consumption of steviol was also investigated in hamsters to prove its chronic toxicity and carcinogenicity. Groups of 55 male and 55 female Syrian Golden hamsters were given diet containing steviol at 0, 100 and 500 mg/kg diet for 18 months (but this thesis cover only in the first year). After 6 and 12 months, five hamsters from each group were selected for urinalysis, hematological, biochemical examinations and autopsy.

Growth, relative food consumption and utilization, general appearance and mortality were similar in treated and control groups. No treatment-related changes were observed in hematological, urinary or clinical biochemical values at any stage of the study. The incidence and severity of non-neoplastic and neoplastic changes were unrelated to the level of steviol in diet.

