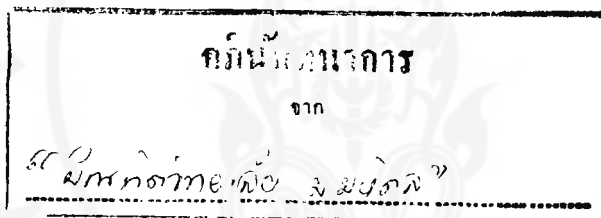




9 DEC 1993

EFFECTS OF STEVIOSIDE AND STEVIOL ON ABSORPTIVE
FUNCTION OF HAMSTER INTESTINE

MONTHAPORN SUTEERAWATTANANON



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

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1993

24597

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาถึงผลของสติวิโอไซด์และสติวียอลต่อการดูดซึมสาร
อาหารในลำไส้ของหนูแฮมสเตอร์
ผู้วิจัย มณฑกรณ์ สุธีรพัฒนานนท์
ปริญญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สรวิวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ชัยวัฒน์ ค่อสกุลแก้ว, ปร.ค.

ธีระยุทธ กสิณสุคนธ์, Sc.D.

ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์, ปร.ค.

วันที่สำเร็จการศึกษา 12 ตุลาคม พ.ศ. 2536

บทคัดย่อ

การศึกษาถึงผลของสติวิโอไซด์และสติวียอล (ได้จากการเปลี่ยนแปลง สารสติวิโอไซด์โดยเอ็นไซม์) ต่อการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคสในลำไส้ส่วนเจจูนัม ของหนูแฮมสเตอร์ โดยการใช้แว่นบางๆ (jejunal slices) ของเจจูนัม พบว่าสติวิโอไซด์ (1 และ 5 mM) ไม่มีผลยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส แต่เมื่อ ใช้สารสติวียอล (0.1-2.0 mM) พบว่าจะยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการยับยั้งจะมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสติวียอลและ เวลา ที่กระทำเพิ่มมากขึ้น

การศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคสโดย สติวียอล กระทำโดยใช้ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม ที่กลับเอาด้านมิวโคซาไว้ด้านนอก (everted sac) พบว่าสติวียอลที่ความเข้มข้น 2 mM และกระทำการดูดซึม 60 นาที จะยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสถึง 44.27% การยับยั้งการดูดซึมไม่ได้เกิด ขึ้นเนื่องจากการลดการทำงานของ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase ในลำไส้เล็กชั้นมิวโคซา ในขณะที่ปริมาณ ATP ในชั้นมิวโคซาจะลดลง เมื่อถูกกระทำด้วยสติวียอล การลดลงของปริมาณ ATP เกิดขึ้นเมื่อการทำงานของเอ็นไซม์ NADH cytochrome c reductase และ cytochrome oxidase ในไมโทคอนเดรียของลำไส้ลดลง นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในลำ

ไส้เล็ก โดยใช้ไมโครวิลไล (brush-border membrane) พบว่าสตีวอลไม่มีผลต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสผ่านไมโครวิลไล การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของไส้เล็ก พบว่าสตีวอล ทำให้วิลไลหดสั้น และทำให้เยื่อบุผิวมีลักษณะหยักเป็นลอน มีการขยายใหญ่ของท่อน้ำเหลืองที่อยู่บนแกนของวิลไล มีการทำลายของ crypts และเซลล์บุผิว ทำให้ปรากฏเป็นช่องว่างขนาดใหญ่

ผลการยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส เกิดขึ้นเช่นเดียวกัน เมื่อทำการป้อนหนูแฮมสเตอร์ด้วยสตีวิโอไซด์ (2.5 g/kg BW/day) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แต่ไม่พบผลยับยั้งเมื่อป้อนด้วยขนาด 0.5 และ 1 g/kg BW/day ที่ระยะเวลาเดียวกัน พบว่าการทำงานของ $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ในชั้นมิวโคซาจะลดลง 23.73% เมื่อป้อนด้วยสตีวิโอไซด์ขนาด 2.5 g/kg BW/day และปริมาณ ATP ในไส้เล็กลดลง 20.65% นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อป้อนด้วยขนาด 1 และ 2.5 g/kg BW/day จะทำให้การทำงานของเอนไซม์ในไส้เล็กส่วนเจริญัมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างของไส้เล็กในหนูแฮมสเตอร์ที่ป้อนด้วย stivioside ขนาด 1 และ 2.5 g/kg BW/day ทำให้เกิดการหดสั้นของวิลไล และทำให้เยื่อบุผิวมีลักษณะหยักเป็นลอน

ดังนั้นการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าสตีวอลมีผลยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส (*in vitro*) และการยับยั้งการดูดซึมดังกล่าวอาจเป็นผลจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอนในไมโทครอนเดรียของไส้เล็ก และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ดูดซึมในไส้เล็ก และเมื่อป้อนสตีวิโอไซด์ให้หนูแฮมสเตอร์ (*in vivo*) พบว่าการยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้นเนื่องจากการลดการทำงานของเอนไซม์ $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ และการลดลงของปริมาณของ ATP ในไส้เล็ก รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ดูดซึมในไส้เล็ก

Thesis Title Effects of Stevioside and Steviol on
Absorptive Function of Hamster Intestine.

Name Monthaporn Suteerawattananon

Degree Master of Science (Physiology)

Thesis Supervisory Committee

Chaivat Toskulkao, Ph.D.

Thirayudh Glinsukon, Sc.D.

Pawinee Piyachaturawat, Ph.D.

Date of Graduation 12, October B.E. 2536 (1993)

ABSTRACT

The effects of stevioside and steviol (a product of enzymatic hydrolysis of stevioside) on intestinal glucose absorption was examined in hamsters jejunum. By using jejunal slices technique, it was indicated that stevioside (1 and 5 mM) had no inhibitory effect on glucose absorption in hamsters jejunum in vitro. In contrast, steviol (0.1-2.0 mM) inhibited glucose absorption with highly significant value.

The possible mechanism by which steviol had an inhibitory effect on intestinal glucose absorption in vitro was investigated by using everted sac technique. Steviol (2 mM) at 60 minutes of incubation caused the inhibition up to 44.27%. The inhibition of glucose absorption was not due to the reduction in intestinal mucosal $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity. It was shown that the

inhibitory action of steviol was associated with the reduction of mucosal ATP content in intestinal absorptive cells.

The inhibition of NADH cytochrome *c* reductase activity by steviol (2 mM) was detected with the degree of 30.43% and cytochrome oxidase with the degree of 28.22%. The inhibitory effect of steviol on glucose uptake across brush-border membrane was not found.

The effect of steviol on morphological changes of jejunal mucosa was also investigated. The shortening of jejunal villi and undulating epithelial lining were remarkably appeared. The lacteal of villi core are dilated. The crypts and villi epithelial cells are degenerated and then appeared like large round vacuole.

The inhibitory effect of stevioside on intestinal glucose absorption was found in hamsters given with stevioside at the dose of 2.5 g/kg BW/day for 12 weeks. No inhibition was observed in hamsters given with stevioside at the doses of 0.5 and 1.0 g/kg BW/day with the same period. The mucosal Na⁺-K⁺-ATPase activity was reduced in hamsters given with stevioside 2.5 g/kg BW/day for 12 weeks by 23.72%. The reduction of intestinal mucosal ATP content was also found in this dose of stevioside and the percent inhibition was 20.65%. Additionally, treatment of stevioside at the doses of 1.0 and 2.5 g/kg BW/day caused an increase in sucrase activity of hamsters jejunum with statistically significant. It was noted that stevioside at the doses of 1.0 and 2.5 g/kg

BW/day for 12 weeks caused the slightly shortening villi and undulating epithelial lining.

In conclusion, the present study show that only steviol had an inhibitory effect on intestinal glucose absorption in vitro. Such an inhibition is partly due to the reduction of intestinal mucosal ATP content. And the reduction in mucosal ATP content is a consequence of the reduction of intestinal mitochondrial respiratory enzymes activities and the morphological changes of intestinal absorptive cells. In vivo studies, the inhibition of glucose absorption by subchronic feeding of stevioside is caused by the inhibition of intestinal mucosal $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity, the reduction of mucosal ATP content and the changes in morphology of intestinal absorptive cells.