



NEPHROTOXICITY OF STEVIOSIDE IN RATS AND HAMSTERS

THITIMA PANICHKUL

๔

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

IN

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| อธิการบดีมหาวิทยาลัยมหิดล | |
| รองอธิการบดี | |
| ศาสตราจารย์ ดร. อดิศักดิ์ อดิศักดิ์ | ศาสตราจารย์ ดร. อดิศักดิ์ อดิศักดิ์ |

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1989

14707

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเกิดพิษที่ไตของสตีวีโอไซด์ในหนูพุกขาวและหนูแฮมสเตอร์
ผู้วิจัย ฐิติมา พาณิชย์กุล
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พิษวิทยา)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

| | | |
|----------|---------------|--------------|
| ธีระยุทธ | กลิ่นสุคนธ์ | Sc.D. |
| ภาวิณี | ปิยะจตุรวัฒน์ | Ph.D. |
| วิทยา | ธรรมวิทย์ | D.V.M., M.S. |

วันที่สำเร็จการศึกษา 30 ตุลาคม พ.ศ. 2532

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มุ่งที่จะเปรียบเทียบการเกิดพิษอย่างเฉียบพลันของสารหวานสตีวีโอไซด์ และศึกษาถึงการออกฤทธิ์ของสตีวีโอไซด์ต่อการทำงานของไตและตับ เพื่อหาสาเหตุของการตายในสัตว์ทดลองที่ได้รับสตีวีโอไซด์ การเกิดพิษอย่างเฉียบพลันของสตีวีโอไซด์นั้นได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบในหนูถีบจักร, หนูพุกขาว และหนูแฮมสเตอร์ ภายหลังจากการให้สารหวานทางปาก, ทางช่องท้องและทางใต้ผิวหนัง แล้วทำการตรวจสอบและดูการเปลี่ยนแปลงในการเกิดพิษเป็นเวลา 7 วัน สัตว์ทดลองที่ตายนั้นจะนำมาคำนวณหาค่า LD₅₀ (Median lethal dose) จากการทดลองนี้พบว่าหนูถีบจักรตอบสนองต่อการเกิดพิษของสตีวีโอไซด์ได้ดีกว่าหนูพุกขาว แต่น้อยกว่าหนูแฮมสเตอร์ เมื่อได้สตีวีโอไซด์ทั้งทางปาก, ทางช่องท้องและทางใต้ผิวหนัง ในขณะที่เดียวกับการให้สตีวีโอไซด์ทางปากจะมีผลทำให้เกิดพิษได้น้อยกว่าทางช่องท้อง และทางใต้ผิวหนัง จากผลการตรวจสอบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ ของสัตว์ทดลองที่ตายแล้ว หรือทำการฆ่าในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังจากการให้สตีวีโอไซด์พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาในหลอดไต คือมีการตายของเซลล์บุหลอดไต การขยายขนาดของหลอดไตซึ่งมีชิ้นส่วนของซัยโตพลาสซึม นิวเคลียส และก้อนโปรตีน (Proteinous cast) อยู่ภายใน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของตับ พบที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ตับมากขึ้น ซึ่งพบเฉพาะหนูบางตัวเท่านั้น สำหรับการศึกษาการออกฤทธิ์ของสตีวีโอไซด์ต่อการทำงานของไตและตับของหนูพุกขาวและหนูแฮมสเตอร์ ได้กระทำโดยใช้สารซีวเคมีนพลาสมาเป็นตัวบ่งชี้ในหนูพุกขาวได้รับสตีวีโอไซด์ในขนาดต่างๆ กัน ตั้งแต่ 0.5 ถึง 2.05 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยการฉีดทางใต้ผิวหนัง ภายหลังจาก 6 ชั่วโมงพบว่า ความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในเลือด (BUN), ครีเอตินิน และกรด ยูริก ปริมาณของเอ็นไซม์ PGPT และ

PGOT เพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันก็มีการลดของระดับอัลบูมินในเลือด และไตขับปัสสาวะออกได้น้อยลง รวมทั้ง การตรวจพบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาที่ไต แสดงให้เห็นว่ามีการทำลายของไตอย่างเด่นชัด และ ความรุนแรงจะเพิ่มขึ้นตามขนาดของสตีวิโอไซด์ที่ได้รับ เข้าไป เมื่อให้สตีวิโอไซด์ 2.05 กรัมค่อน้ำหนัก ตัว 1 กิโลกรัมทางใต้ผิวหนังในหนูทุกขาว แล้วตรวจสอบสารชีวเคมีในพลาสมาในช่วง 0, 3, 6, 9 และ 12 ชั่วโมงของการทดลอง พบว่ามีการทำลายของไต เช่นเดียวกันและจะรุนแรงเพิ่มขึ้น เป็นลำดับ ตามเวลาที่สังเกต นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสตีวิโอไซด์ในหนูทุกขาวและหนูแฮมสเตอร์ โดยบ่อนสตีวิโอไซด์ 4.1 กรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ผ่านทางหลอดอาหารไปยังกระเพาะอาหารภายใน 6 และ 12 ชั่วโมง ทำให้ความเข้มข้นของยูเรียไนโตรเจนในเลือด, ครีเอตินินและกรดยูริก ระดับ เอ็นซัยม์ PGPT, PGOT และค่าซีมาโคคริตเพิ่มขึ้น แต่กลับทำให้ไตขับปัสสาวะได้น้อยลงอย่างเห็นได้ชัด ในหนูแฮมสเตอร์ เมื่อตรวจพบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาที่ไตของหนูแฮมสเตอร์แล้วพบว่าการตายของเซลล์หลอดไต การขยายขนาดของหลอดไตซึ่งส่วนมากจะมีก้อนโปรตีนอยู่ภายใน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้พบได้น้อยมากในหนูทุกขาว ดังนั้นจะเห็นได้ว่าหนูแฮมสเตอร์นั้นตอบสนองต่อการออกฤทธิ์ ของสตีวิโอไซด์ดีกว่าหนูทุกขาว สำหรับขั้นตอนการทำให้เกิดการตายของเซลล์ไตนั้นได้ทำการตรวจสอบ โดยการหา clearance ของครีเอตินินและกรดพาราอะมิโนฮิบปูริก (PAH) เพื่อหาอัตราการกรองของ ไตและปริมาณของเลือดที่มายังไต ในหนูทุกขาวที่ได้รับสตีวิโอไซด์ 2.05 กรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางใต้ผิวหนัง พบว่าไม่มีความแตกต่างของ clearance ของครีเอตินิน และ PAH อย่างไรก็ตาม สตีวิโอไซด์ มีผลลดอัตราการไหลของปัสสาวะและความดันโลหิตได้เล็กน้อย จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าสตีวิโอไซด์จะทำลายเซลล์หลอดไต จนทำให้การทำงานของไตล้มเหลว และทำให้เกิดการตายขึ้น

Thesis Title Nephrotoxicity of stevioside in rats and hamsters
Name Thitima Panichkul
Degree Master of Science (Toxicology)
Thesis Supervisory Committee
 Thirayudh Glinsukon, Sc.D.
 Pawinee Piyachaturawat, Ph.D.
 Witaya Thamavit, D.V.M., M.S.
Date of Graduation 30 October B.E. 2532 (1989)

ABSTRACT

Stevioside, a major sweet constituent in Stevia rebaudiana Bertoni, was subjected to investigation for its effect on kidney and liver. This study was performed to compare the susceptibility of stevioside in three different animal species such as mice, rats and hamsters of both sexes and different routes of administration including intragastric intubation (I.G.), intraperitoneal injection (I.P.) and subcutaneous injection (S.C.). General signs and symptoms were observed and the numbers of dead animals were recorded within a period of 7 days after stevioside administration for estimation of LD₅₀ value. Mice were found to be more susceptible to stevioside than rats but less than hamsters in all three routes of administration. When given stevioside via I.P. and S.C. routes, all of three animal species were more susceptible to stevioside than those when given via I.G. routes. The possible causes of death were then investigated by histopathological examinations. Histopathologic changes, mostly seen in kidney, revealed necrosis of epithelial cells and dilatation of convoluted tubules with cell debris and proteinous casts. Therefore, the possible causes of death may be due to acute renal failure although some extent

hepatotoxic can be found. Effects of stevioside on the plasma levels of biochemical parameters and urine volume were then investigated. Various doses of stevioside ranging from 0.5 to 2.05 g/kg BW were given to rats. At 6 hrs after S.C. injection, stevioside significantly increased BUN, creatinine, uric acid, PGPT and PGOT values but markedly depressed plasma albumin and urinary excretion. It is likely that stevioside is capable of inducing nephrotoxicity with evidences of histopathologic changes in kidney. Incidence and severity of nephrotoxicity were progressively increased with the dose of stevioside. Stevioside also exhibited time-related manner when given at the dose of 2.05 g/kg BW (S.C.) for 0, 3, 6, 9 and 12 hrs. However, intragastric administration of stevioside (4.1 g/kg BW) did not significantly cause any changes in kidney and liver functions. Whereas, S.C. and I.G. administration of stevioside induced severe nephrotoxic and some extent hepatotoxic effects in rats and hamsters, respectively. These results indicated that hamsters were more susceptible to stevioside nephrotoxicity than rats. The effects of stevioside on mean arterial blood pressure and urine excretion were slightly decreased but there were no significant changes in creatinine and PAH clearances as indicators of glomerular filtration rate and renal plasma flow, respectively. So, the renal impairment may be occurred in renal tubules rather than glomerulus.