



27 NOV 1996

MICRONUCLEUS AND CARCINOGENICITY STUDY OF
STEVIOLOL IN HAMSTERS

MUTCHALIN SUWANNATRAI

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

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

อธิบดี จาก

1996

TH
มคค
1996

37431

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาถึงผลของสตีวียอลต่อการเกิดไมโครนิวเคลียสและ
การเกิดมะเร็งในหนูแฮมสเตอร์

ผู้วิจัย มุจลินท์ สุวรรณไตรย์

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พิษวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, สพ.บ., ปร.ค.

ธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์, Sc.D.

ปัญญา เต็มเจริญ, สพ.บ., วท.ม.

สุนทร อภิบาล, วท.ม.

วันที่สำเร็จการศึกษา 14 สิงหาคม พ.ศ. 2539

บทคัดย่อ

สตีวียอไซด์ (stevioside) เป็นสารหวานที่สำคัญและมีปริมาณสูงที่สกัดได้จากใบหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni) มีโครงสร้างเป็นสารประเภททีเทอร์ปีน-ไกลโคไซด์ สตีวียอล (Steviol) เป็นสารที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงสตีวียอไซด์โดยเอ็นไซม์ สตีวียอลถูกใช้ทดสอบถึงพิษเรื้อรังและฤทธิ์ในการก่อมะเร็งในหนูแฮมสเตอร์

การศึกษาถึงพิษเรื้อรังและฤทธิ์ก่อมะเร็งของสารสตีวียอลในหนูแฮมสเตอร์ที่ได้รับสารนี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาต่างๆ โดยแบ่งสัตว์ทดลองออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 55 ตัวในแต่ละเพศ แต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีสตีวียอลในระดับต่างๆ กันคือ 0,100 และ 500 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 22 เดือนในตัวผู้และ 18 เดือนในตัวเมีย หลังจากสัตว์ทดลองได้รับสารสตีวียอลนาน 6,12 เดือนและ 22 เดือนในตัวผู้หรือ 18 เดือนในตัวเมีย ซึ่งเป็นจุดสุดท้ายของช่วง

ชีวิต หนูแฮมสเตอร์จากแต่ละกลุ่มจะถูกนำมาเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์สารประกอบในปัสสาวะ, ทำการศึกษาด้านโลหิตวิทยา การตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือด และการตรวจทางจุลพยาธิ ผลจากการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสตีวียอลและกลุ่มควบคุมในด้านการเจริญเติบโต, การกินอาหารและการนำอาหารไปใช้เสริมสร้างร่างกายรวมถึงอัตราการตาย นอกจากนี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดปริมาณที่ได้รับสารสตีวียอลกับผลการตรวจทางด้านโลหิตวิทยา, การตรวจสารทางชีวเคมีในเลือด, การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและอุบัติการณ์ของการเกิดพยาธิสภาพต่างๆและมะเร็งชนิดต่างๆ

นอกจากนี้ยังได้ทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสตีวียโอไซด์และสตีวียอลโดยใช้วิธีไมโครนิวเคลียส (Micronucleus test) ในหนูถีบจักร (mice) และหนูพุกขาว (Wistar rats) ซึ่งเป็นการทดสอบเพื่อดูความเสียหายที่เกิดขึ้นกับโครโมโซมโดยการป้อนหนูถีบจักรและหนูพุกขาวด้วยสารสตีวียโอไซด์หรือสตีวียอลด้วยขนาด 10 และ 8 กรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมตามลำดับ แล้วนำไขกระดูก (bone marrow) จากกระดูกต้นขา (femur) ของสัตว์ทดลองหลังจากให้สารเข้าไปที่ 24,30,48 และ 72 ชั่วโมง มาตรฐานนับจำนวน polychromatic erythrocyte (PCE) ที่มีไมโครนิวเคลียสใน 1,000 PCEs ผลการทดลองพบว่าสารสตีวียโอไซด์และสารสตีวียอลไม่มีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวน PCE ที่มีไมโครนิวเคลียสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในทุกระยะเวลาที่ทำการศึกษา.

Thesis Title Micronucleus and Carcinogenicity Study of Steviol in Hamsters

Name Mutchalin Suwannatrai

Degree Master of Science (Toxicology)

Thesis Supervisor Committee

Chaivat Toskulkao, D.V.M., Ph.D.

Thirayudh Glinsukon, Sc.D.

Punya Temcharoen, D.V.M., M.Sc.

Suntaree Apibal, M.Sc.

Date of Graduation 14 August B.E. 2539 (1996)

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. Steviol was subjected to investigate the chronic/carcinogenicity study in hamsters while the micronucleus study of stevioside and steviol was examined in mice and rats.

Long term consumption of steviol was 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 22 months in the males and 18 months in the females. After 6,12 months and 22 months in males or 18 months in females which it was the end of lifespan, hamsters from each group were sacrificed for urinalysis, hematological and biochemical examinations as well as necropsy.

Growth, relative food consumption and utilization, general appearance and mortality were similar in steviol-treated and control groups. No treatment-related changes were observed in haematological, urinary or clinical biochemical values at any stage of the study. Mortality at the end of the study in hamsters given steviol was not significantly different from that in the controls. The incidence and severity of non-neoplastic and neoplastic changes were unrelated to the level of steviol in the diet.

The mutagenic activity of stevioside and steviol was also examined in mice and rats using the micronucleus study. Mice and rats were orally administered with stevioside or steviol at a dose of 10 or 8 g/kg BW, respectively. After 24,30,48 and 72 hours of treatment, bone marrow samples were obtained and scored for MNPCEs. The results found that there was no significant increase in the frequency of MNPCEs in those animals received stevioside or steviol at all post treatment sampling times.