

กัณฑ์กวี ศาสน์สันติธรรม : ความสามารถของอัลลิซินในการผ่านแนวกันระหว่างหลอดเลือด
กับสมองและผลต่อเชื้อก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (THE ABILITY OF ALLICIN TO CROSS
BLOOD-BRAIN BARRIER AND ITS EFFECTS ON PATHOGENS CAUSING MENINGITIS)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญญ์ วีระนันทนาพันธ์, 61 หน้า.

คำสำคัญ: แนวกันระหว่างหลอดเลือดกับสมอง/ อัลลิซิน/ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ

โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบเป็นโรคที่มีความอันตรายถึงแก่ชีวิต ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อเชื้อโรคสามารถผ่านแนวกันระหว่างหลอดเลือดกับสมองเข้ามาได้และส่งผลให้เกิดการอักเสบที่บริเวณเยื่อหุ้มสมอง สารอัลลิซิน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่พบเป็นหลักในกระเทียมนั้น มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด รวมถึงเชื้อก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบบางชนิด ในการศึกษาเบื้องต้นได้มีการรายงานถึงความเป็นไปได้ที่อัลลิซินจะมีความสามารถในการผ่านแนวกันระหว่างหลอดเลือดกับสมอง อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีหลักฐานใดที่สามารถพิสูจน์ได้โดยตรง ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาความสามารถของอัลลิซินในการผ่านแนวกันระหว่างหลอดเลือดกับสมองและผลต่อเชื้อก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของอัลลิซินโดยวิธี broth microdilution พบว่าค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ของอัลลิซินต่อเชื้อแบคทีเรียชนิด *N. meningitidis* ATCC13090 DMST7950, *L. monocytogenes* DMST20093, *E. coli* TISTR780, *E. coli* O157:H7 DMST12743, และ MRSA DMST20654 คือ 3, 30, 25, 25, และ 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นของอัลลิซินซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์ hCMEC/D3 นั้นสามารถระบุได้โดยวิธีการทดสอบกับสาร MTT จากนั้น ความเข้มข้นของอัลลิซินที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ซึ่งได้แก่ 0.5, 1, 2 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจึงถูกนำไปใช้ในการทดสอบความสามารถของอัลลิซินในการผ่านแบบจำลองของแนวกันระหว่างหลอดเลือดกับสมอง และเทคนิค high-performance liquid chromatography (HPLC) ถูกนำมาใช้เพื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของอัลลิซินที่สามารถผ่านแบบจำลองของแนวกันระหว่างหลอดเลือดกับสมอง โดยผลการทดสอบพบว่า ไม่สามารถตรวจพบสารอัลลิซินได้ทั้งในส่วนประกอบด้านบนและด้านล่างของแบบจำลอง ในทางตรงกันข้าม สารอัลลิซินนั้นยังคงตรวจพบได้ในแบบจำลองที่ปราศจากเซลล์ทั้งแบบที่มีการเคลือบและไม่เคลือบคอลลาเจน จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สารอัลลิซินไม่ได้หายไปเนื่องจากติดอยู่ในคอลลาเจนหรือแผ่นเมมเบรนของแบบจำลอง การทดสอบความสามารถในการดูดซึมของเซลล์โดยอ้อมได้ถูกดำเนินการต่อไปและผลการทดลองชี้แนะว่า เซลล์ hCMEC/D3 ได้มีการดูดซึมอัลลิซินเข้าสู่เซลล์ การค้นพบจากการศึกษานี้ นำไปสู่การตั้งข้อสันนิษฐานใหม่ที่ว่า สารอัลลิซินที่ใช้ในการทดสอบนั้นได้ถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ hCMEC/D3 จึงส่งผลให้ไม่สามารถตรวจสอบปริมาณสารอัลลิซินที่สามารถผ่านแบบจำลองของ

แนวกั้นระหว่างหลอดเลือดกับสมองได้ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้เผยให้เห็นว่าเซลล์ hCMEC/D3 สามารถดูดซึมสารอัลลิซินความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตรเข้าสู่เซลล์ได้ ซึ่งเป็นปริมาณที่อาจจะเพียงพอที่จะผ่านแนวกั้นระหว่างหลอดเลือดกับสมองและส่งผลยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบชนิด *N. meningitidis* ได้



สาขาวิชาปรีคลินิก

ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนักศึกษา Kankawi Satsantitham

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Oratai Weerananantapan

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ร.ร.

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ร.ร.

KANKAWI SATSANTITHAM : THE ABILITY OF ALLICIN TO CROSS BLOOD-BRAIN BARRIER AND ITS EFFECTS ON PATHOGENS CAUSING MENINGITIS.
THESIS ADVISOR : ASST. PROF. ORATAI WEERANANTANAPAN, Ph.D. 61 PP.

Keyword: BLOOD-BRAIN BARRIER/ ALLICIN/ MENINGITIS

Meningitis is a life-threatening disease that occurs when the pathogens can penetrate the blood-brain barrier (BBB) and cause inflammation of the meninges. Allicin, a major active compound derived from garlic, exhibits antibacterial activity against a wide range of bacteria, including some of the meningitis pathogens. There are studies suggesting that allicin may be able to pass the BBB; however, the direct evidence to prove that has not been reported yet. The aims of this study were to investigate the capability of allicin to pass BBB and its antibacterial activity against pathogens causing meningitis. The broth microdilution method was used to investigate the antibacterial activity of allicin against tested bacterial pathogens. The results revealed that the minimum inhibitory concentration (MIC) values of allicin against *N. meningitidis* ATCC13090 DMST7950, *L. monocytogenes* DMST20093, *E. coli* TISTR780, *E. coli* O157:H7 DMST12743, and MRSA DMST20654 were 3, 30, 25, 25, and 15 µg/ml, respectively. The non-toxicity concentrations of allicin on hCMEC/D3 cells were determined by using the MTT assay. Then, the non-toxicity concentrations of allicin, which are 0.5, 1, 2, and 5 µg/ml, were used to investigate the ability of allicin to cross the *in vitro* BBB model. The high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was used to determine the allicin concentration that was able to pass the *in vitro* BBB model. The results showed that allicin could not be detected on both apical (AP) and basolateral (BL) chambers of the *in vitro* BBB model. On the other hand, allicin was still detected in collagen-coated and non-collagen-coated control inserts (cell-free). These results indicated that allicin was not trapped in the collagen or membrane of the insert. The indirect cellular uptake experiments were performed and the results suggested that allicin was absorbed by hCMEC/D3 cells. These findings led to the new presumption that allicin could be uptaken into hCMEC/D3 cells resulting in an undetectable concentration of allicin that passes through the *in vitro* BBB model.

However, the results in this study revealed that hCMEC/D3 cells uptake allicin 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ into the cells, suggesting that allicin may have the potential to pass the BBB with a sufficient dose to inhibit the meningitis pathogen *N. meningitidis*.



School of Preclinical Sciences
Academic Year 2021

Student's Signature Kankami Satsantitkam

Advisor's Signature Oratai Weeramanantapan

Co-advisor's Signature 268

Co-advisor's Signature MAA