

ผลของเคอร์คูมินต่อการติดพยาธิใบไม้ตับและโรคมะเร็งท่อน้ำดีในสัตว์ทดลอง

สุดารัตน์ อ่อนสุระทุม^{1,2}, สมชาย ปิ่นละออ^{1,2*}, ธิดารัตน์ บุญมาศ^{1,2}

¹ภาควิชาปรสิตวิทยา, ²ศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและโรคมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Effect of Curcumin on Opisthorchiasis and Cholangiocarcinoma in Animal Models

Sudarat Onsurathum^{1,2}, Somchai Pinlaor^{1,2}, Thidarut Boonmars^{1,2}

¹Department of Parasitology, ²Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

การติดพยาธิใบไม้ตับเรื้อรังทำให้เกิดการอักเสบภายในท่อน้ำดี ส่งผลให้มีการทำลายดีเอ็นเอและนำไปสู่การเกิดมะเร็งท่อน้ำดี การติดพยาธิซ้ำจากการรักษาด้วยยาพราซิควอนเทลก็เป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งต่อการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี มีงานวิจัยมากมายที่นำเอาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น เคอร์คูมิน มาใช้เป็นสารเคมีป้องกัน และรักษาโรคต่างๆ รวมทั้งโรคมะเร็ง เคอร์คูมิน เป็นสารสกัดที่ได้จากเหง้าขมิ้นชัน มีฤทธิ์ลดการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งกระบวนการเกิดมะเร็ง และมีรายงานป้องกันโรคมะเร็งท่อน้ำดีที่สัมพันธ์กับโรคพยาธิใบไม้ตับ ในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ เคอร์คูมินและ/หรือทูร์เมอริก ลดการอักเสบ และลดการทำลายดีเอ็นเอ ในหนูที่ติดพยาธิใบไม้ตับเรื้อรัง เคอร์คูมินลดภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและไนเตรชันจากผลของการรักษาด้วยยาพราซิควอนเทล และลดพังผืดรอบท่อน้ำดี นอกจากนี้เคอร์คูมินยังสามารถยับยั้งกระบวนการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีในหนูแฮมสเตอร์ที่เหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งโดยการติดพยาธิใบไม้ตับร่วมกับได้รับสารก่อมะเร็ง *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) รวมทั้งสามารถฆ่าเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีผ่านวิถีการตายแบบอพอพโตซิส ในทางตรงกันข้าม การใช้ทูร์เมอริกซึ่งเป็นสารสกัดหยาบจากขมิ้นชัน จะมีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดีได้ในทางอ้อม ความแตกต่างของตัวทำละลาย ช่องทางที่ได้รับ ความบริสุทธิ์ และความเข้มข้นของสาร รวมถึงระยะเวลาที่กินเคอร์คูมิน อาจส่งผลให้การออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของเคอร์คูมิน ก่อนที่จะนำมาใช้เป็นยาเคมีป้องกันหรือรักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีในผู้ป่วย

Chronic *Opisthorchis viverrini* infection induces inflammation-mediated DNA damage leading to cholangiocarcinoma (CCA). Re-infection after praziquantel treatment is one of a relative risk factor for CCA. Several evidences have shown that herbal agents such as curcumin can be used as chemopreventive agents in many diseases and cancer. Curcumin, derived from the roots of turmeric, possesses potent anti-inflammatory, anti-oxidative and antitumor activities, and has been shown to prevent opisthorchiasis-associated CCA. In hamsters infected with *O. viverrini*, curcumin and/or turmeric reduced inflammation and DNA damage. In chronic *O. viverrini* infection, curcumin decreased oxidative and nitrate stress after praziquantel treatment and reduced periductal fibrosis. Moreover, curcumin suppressed cholangiocarcinogenesis in hamster induced by the combination of *O. viverrini* infection and administration with *N*-nitrosodimethylamine. Also, curcumin exhibited a cytotoxic effect on CCA cell lines via apoptotic pathway. In contrast, turmeric extract enhanced small bile duct proliferation in hamsters. The difference of solvent, route, purity, doses and duration of curcumin supplement may produce its double-edged sword effect. Therefore, further investigation is necessary for an effective curcumin treatment before applying in CCA patients.

สรินกรินทร์เวชสาร 2555; 27 ฉบับพิเศษ (มะเร็งท่อน้ำดี): 389-96 • Srinagarind Med J 2012; 27 suppl (Cholangiocarcinoma): 389-96

*Corresponding Author: psomec@kku.ac.th

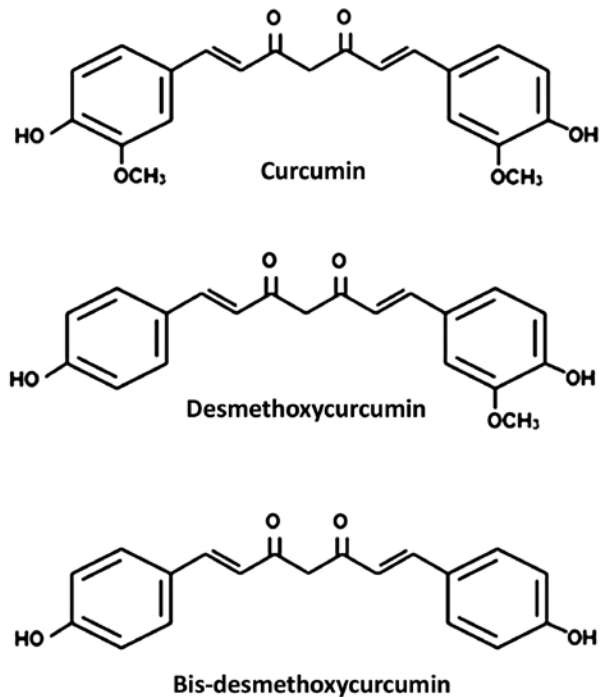
บทนำ

โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) เกิดจากการติดพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ซึ่งพบการระบาดอย่างมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศไทย ซึ่งมีอุบัติการณ์สูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และประชากรไทยประมาณ 6 ล้านคน ยังคงเป็นโรคพยาธิใบไม้ตับในชุมชน¹ พบว่ามีการติดพยาธิซ้ำซากหลังการกินยาพราซิควอนเทล² จึงเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังของระบบทางเดินน้ำดีและมีโอกาสเสี่ยงนำไปสู่การเกิดมะเร็งท่อน้ำดีได้³ ดังนั้นการรักษาด้วยยาเพียงอย่างเดียวคงไม่ได้ผล น่าจะมีกลยุทธ์อื่นๆ เพื่อลดความรุนแรงของโรคพยาธิใบไม้ตับและการป้องกันโรคมะเร็งท่อน้ำดีต่อไป⁴

การศึกษาในสัตว์ทดลอง พบว่ามีการนำสารหรือตัวยาที่สำคัญซึ่งได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มาใช้ในการป้องกัน บรรเทา และรักษาโรคต่างๆ รวมถึงโรคมะเร็ง ซึ่งการศึกษาหาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจะให้ความสนใจผลิตภัณฑ์ที่มีสารที่สามารถออกฤทธิ์ชีวภาพ รวมทั้งการออกฤทธิ์ที่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) เป็นต้น พบว่าสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีศักยภาพในการป้องกัน หรือรักษาโรคมะเร็งที่น่าสนใจและมีการศึกษาอย่างแพร่หลายนั้นคือ เคอร์คูมิน ซึ่งมีการนำมาใช้ทางการแพทย์ โดยใช้รักษาอาการอักเสบในผู้ป่วยด้วยโรคต่างๆ⁵ จึงควรพัฒนาและนำมาใช้ในโรคพยาธิใบไม้ตับและโรคมะเร็งท่อน้ำดีต่อไปได้

1. โครงสร้างและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเคอร์คูมิน

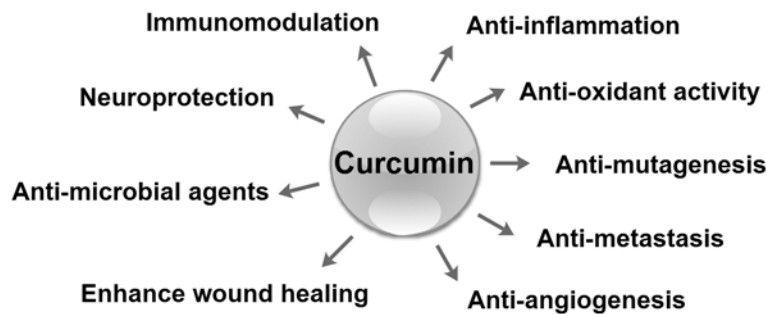
เคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) เป็นสารผลิตภัณฑ์สีเหลืองอมส้ม อยู่ในกลุ่มของ phenolic compounds ที่สกัดได้จากเหง้าของขมิ้นชัน (turmeric) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn. เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae สารประกอบหลัก 3 ชนิดของเคอร์คูมินอยด์ได้แก่ เคอร์คูมิน (curcumin) เดสเมทอกซีเคอร์คูมิน (desmethoxycurcumin) และบิสเดสเมทอกซีเคอร์คูมิน bisdesmethoxycurcumin⁶ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของเคอร์คูมิน (curcumin) เดสเมทอกซีเคอร์คูมิน (desmethoxycurcumin) และ บิสเดสเมทอกซีเคอร์คูมิน bisdesmethoxycurcumin (ดัดแปลงจาก Yodkeeree, 2009)⁶

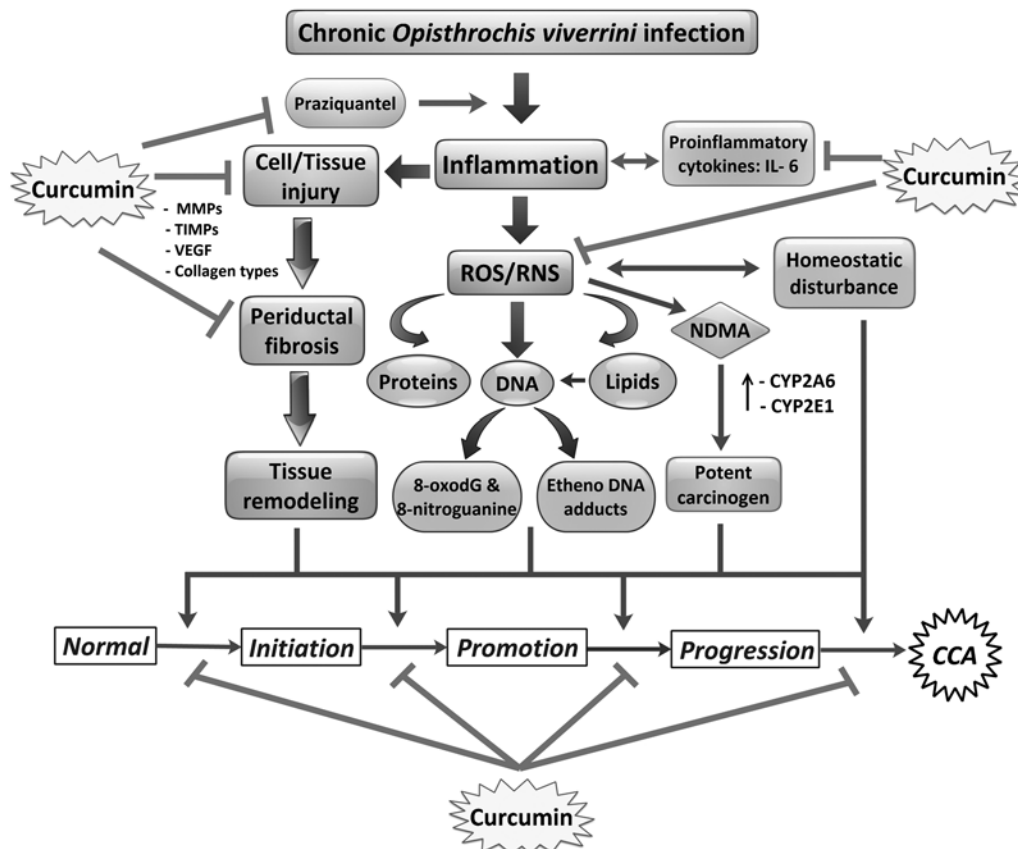
จากการศึกษาพบว่าสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างกว้างขวาง มีคุณสมบัติในการรักษาบาดแผล⁷ ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์⁸ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ^{9,10} มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ และสามารถต้านการเกิดมะเร็งได้¹¹ (รูปที่ 2) จึงนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านอาหาร เครื่องสำอาง และยา ซึ่งในทางการแพทย์ได้มีการนำเคอร์คูมินอยด์ มาใช้รักษาอาการอักเสบรักษาโรคมะเร็งต่างๆ ได้แก่ มะเร็งลำไส้ใหญ่¹² มะเร็งลำไส้เล็กส่วนต้น¹³ มะเร็งกระเพาะอาหาร¹⁴ มะเร็งหลอดอาหารและมะเร็งช่องปาก¹⁵ อีกทั้งมีการวิจัย พบว่าเคอร์คูมินอยด์ สามารถใช้เป็นเคมีป้องกัน ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้ในสัตว์ทดลอง ซึ่ง เคอร์คูมินอยด์ ที่มีการจัดจำหน่ายเพื่อใช้สำหรับงานวิจัยและการทดลองทางคลินิก จะมีส่วนประกอบของ เคอร์คูมิน 77% เดสเมทอกซีเคอร์คูมิน 17% และ บิสเดสเมทอกซีเคอร์คูมิน 3% ตามลำดับ⁶

Biological effects of curcumin



รูปที่ 2 แสดงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของเคอร์คูมิน (ดัดแปลงจาก Maheshwari, 2006)¹⁵

Mechanism of curcumin reduces CCA development



รูปที่ 3 ผลของเคอร์คูมินในโรคมะเร็งท่อน้ำดีที่เกิดจากโรคพยาธิใบไม้ตับ (ดัดแปลงจาก Yongvanit, 2012)

2. ผลของเคอร์คูมินในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ

2.1 ผลของเคอร์คูมินต่อการลดการอักเสบลดภาวะและลดการทำลายเซลล์ตับในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ

การติดพยาธิใบไม้ตับในระยะเฉียบพลันพบว่า มีการตอบสนองของโฮสต์โดยเกิดกระบวนการอักเสบ มีการสร้างอนุมูลอิสระชนิดออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) และไนโตรเจน (reactive nitrogen species; RNS) จำนวนมากผ่านกระบวนการอักเสบ ก่อให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างการสร้างอนุมูลอิสระและการต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและไนเตรชันตามมา¹⁶ อนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นจะไปทำลายสารชีวโมเลกุล เช่น ดีเอ็นเอ ไขมัน โปรตีน รวมทั้งไปทำลายเซลล์ตับ การทำลายดีเอ็นเอซึ่งเป็นสารพันธุกรรมในเซลล์อักเสบ เซลล์เยื่อเมือกท่อน้ำดีนี้อาจเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี¹⁶ การศึกษาในสัตว์ทดลองโดยให้หนูแฮมสเตอร์ติดพยาธิใบไม้ตับร่วมกับให้กินอาหารผสมเคอร์คูมิน ความเข้มข้น 1% นาน 30 วัน เปรียบเทียบกับหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับและกินอาหารเม็ดปกติ พบว่าหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับและกินอาหารผสมเคอร์คูมิน จะมีการยับยั้งการแสดงออกของออกซิแดนที่ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอนุมูลอิสระและกระบวนการอักเสบ ได้แก่ ยีน nuclear transcription factor-kappaB (NF- κ B), inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) แต่ไปส่งเสริมการแสดงออกของแอนติออกซิแดนที่ยีน เช่น Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1), Mn-SOD (SOD2), extracellular SOD (SOD3) และ catalase (CAT) ส่งผลให้พลาสมาไนเตรด (plasma nitrate) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการสร้าง nitric oxide (NO) จากการแสดงออกของ iNOS มีระดับลดลง มาลอนไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde) ตัวบ่งชี้การเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) และ อะลานีนอะมิโนทรานสเฟอเรส (alanine aminotransferase; ALT) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าเซลล์ตับถูกทำลายก็มีระดับลดลงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังไปเพิ่ม ระดับของ ferric-reducing anti-oxidant power (FRAP) ในพลาสมาซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดการยับยั้งภาวะออกซิเดทีฟและไนเตรทีฟสเตส โดยการลดการก่อรูปของ 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG) และ 8-nitroguanine ในเซลล์อักเสบ เซลล์เยื่อเมือกท่อน้ำดี รวมทั้งเซลล์ตับ และลดการแสดงออกของ proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ตัวบ่งชี้การแบ่งตัวของเซลล์ จึงสรุป

ได้ว่าเคอร์คูมินมีผลเพิ่มการทำงานของระบบแอนติออกซิแดนที่ส่งผลยับยั้งภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและไนเตรชันในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ จึงเป็นการลดความรุนแรงของการเกิดโรคและเป็นการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีที่มีสาเหตุมาจากการติดพยาธิใบไม้ตับอีกทางหนึ่ง¹⁷

2.2 ผลของเคอร์คูมินต่อการลดการสะสมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดี (periductal fibrosis) ในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ

การติดพยาธิใบไม้ตับในระยะเรื้อรังพบว่า มีการสะสมของพังผืดหรือเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดี ซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่เห็นได้ชัดเจน และเกิดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการติดพยาธิ¹⁸ จากการทดลองในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับร่วมกับให้กินอาหารผสมเคอร์คูมิน เป็นเวลา 21 วัน, 1, 3, 4, 5 และ 6 เดือนตามลำดับเปรียบเทียบกับหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับร่วมกับให้กินอาหารเม็ดปกติ พบว่าในวันที่ 21 และ 1 เดือน ความหนาของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดีในหนูแฮมสเตอร์ทั้งสองกลุ่มไม่มีการเปลี่ยนแปลงแต่จะเห็นความหนาของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดีบางลงอย่างชัดเจนในเดือนที่ 3-6 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารผสมเคอร์คูมิน และพบว่าการแสดงออกของ alpha-smooth muscle actin (α -SMA) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่สร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและระดับของไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline) ในเนื้อตับรวมทั้งมีการแสดงออกของยีน collagen I และ collagen III ที่ลดลง ซึ่งสนับสนุนผลการทดลองข้างต้นว่ามีการสะสมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดีลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเคอร์คูมินไปมีผลเพิ่มการแสดงออกของไซโตไคน์บางชนิดที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ interleukin (IL)-1 β และ tumor necrosis factor (TNF)- α เคอร์คูมินยังกระตุ้นการแสดงออกของยีน matrix metalloproteinase (MMP)-7 และ MMP-13 เพื่อย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดี และลดการแสดงออกของ tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-1 และ TIMP-2 ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ MMPs ทำให้มีการย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดีได้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะการทำงานของ MMP-2 สรุปได้ว่าเคอร์คูมินสามารถลดความหนาของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดี อันเกิดจากการติดพยาธิใบไม้ตับได้ โดยผ่านการกระตุ้นไซโตไคน์และ MMPs นอกจากนี้ยังไปยับยั้ง TIMPs อีกด้วย จากผลการศึกษาเบื้องต้นจึงแนะนำว่าเคอร์คูมินอาจนำมาใช้เป็นสารเคมีป้องกันเพื่อลดความรุนแรงของโรคพยาธิใบไม้ตับและป้องกันการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีในมนุษย์ต่อไป¹⁹

2.3 ผลของเคอร์คูมินต่อการป้องกันภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่นที่เกิดจากการรักษาด้วยยาพาราซิควอนเทลในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ

การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า การรักษาด้วยยาพาราซิควอนเทลก่อให้เกิดผลข้างเคียงโดยไปทำให้แอนติเจนของพยาธิใบไม้ตับถูกปล่อยออกมาจำนวนมากและไปกระตุ้นเซลล์อักเสบ โดยเฉพาะ mast cells และ eosinophils ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่น²⁰ ในปี ค.ศ. 2011 Charoensuk และคณะได้ทำการศึกษาผลของเคอร์คูมินในการป้องกันการเกิดภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่นหลังการรักษาด้วยยาพาราซิควอนเทลโดยให้หนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับกินสารเสริมเคอร์คูมินซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ติดต่อกัน 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้ยาพาราซิควอนเทลที่เวลา 12 ชั่วโมงก่อนฆ่าหนู พบว่าเคอร์คูมินสามารถลดการรวมกลุ่มของเซลล์อักเสบชนิด eosinophils รอบๆ ท่อน้ำดี และเพิ่มจำนวนเซลล์อักเสบชนิด mononuclear cells ได้แก่ lymphocytes ซึ่งสัมพันธ์กับการแสดงออกในระดับยีนและโปรตีนของ nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) ที่มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่น เคอร์คูมินยังเพิ่มการแสดงออกของยีนที่ควบคุมด้วย Nrf2 อีกด้วย ได้แก่ Kelch-like ECH-associated protein 1(Keap1), NAD(P) H:quinine oxidoreductase 1(NQO1), glutamate cysteine ligase(GCL) และ heme oxygenase-1 (HO-1) นอกจากนี้ เคอร์คูมินยังมีผลกระตุ้น transcription factor 3 ซึ่งเป็นยีนที่สร้างเอ็นไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ peroxiredoxin 3, peroxiredoxin 6, SOD2 และ catalase นำไปสู่การเพิ่มระดับความสามารถในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระ (ferric antioxidant capacity) ในพลาสมา ในทางตรงข้ามเคอร์คูมิน สามารถลดระดับ 8-oxodG ในปัสสาวะ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde) ในเตรต/ไนเตรต (nitrate/nitrite) และการทำงานของเอ็นไซม์ ALT ในพลาสมาซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ภาวะเซลล์ตับถูกทำลาย การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้สัมพันธ์กับการยับยั้ง NF- κ B, proinflammatory cytokines (IL-1 β และ TNF- α) และโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (COX-2 และ iNOS) ดังนั้น เคอร์คูมินอาจมีประสิทธิภาพเป็นสารเคมีป้องกันภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่น จากการรักษาด้วยยาพาราซิควอนเทลในระยะสั้นหลังการติดพยาธิใบไม้ตับ โดยเคอร์คูมินไปเหนี่ยวนำการแสดงออกของ Nrf2 และยับยั้งการแสดงออกของ NF- κ B ที่ควบคุมวิถีของกระบวนการอักเสบ และ Nrf2 อาจเป็นโมเลกุลเป้าหมายใหม่สำหรับการรักษา

ไม่เฉพาะในโรคติดเชื้อปรสิต แต่รวมถึงโรคชนิดอื่นที่เกิดจากกระบวนการอักเสบ²¹ อย่างไรก็ตามการทดสอบในมนุษย์จำเป็นที่จะต้องพิสูจน์ยืนยันผลที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลอง ว่าเคอร์คูมินสามารถประยุกต์ใช้เพื่อป้องกันรักษาผลจากภาวะแทรกซ้อนหลังรักษาในคนที่ติดพยาธิ *O. viverrini* ได้หรือไม่ต่อไป

สรุปผลของเคอร์คูมินต่อโรคพยาธิใบไม้ตับในสัตว์ทดลอง พบว่าเคอร์คูมินมีผลลดการอักเสบ ลดภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่นในโรคพยาธิใบไม้ตับในระยะเฉียบพลัน ลดการหนาตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดีในการติดพยาธิในระยะเรื้อรัง โดยเคอร์คูมินไปกระตุ้นไซโตไคน์และ MMPs แต่ไปยับยั้งการแสดงออกของ TIMPs นอกจากนี้ เคอร์คูมินยังสามารถป้องกันภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและในเตรชั่นที่เกิดจากการรักษาด้วยยาพาราซิควอนเทลในโรคพยาธิใบไม้ตับ ดังนั้นเคอร์คูมินจึงอาจนำมาใช้เป็นสารเคมีป้องกันเพื่อลดความรุนแรงของโรคพยาธิใบไม้ตับ และป้องกันการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีในมนุษย์ต่อไปในอนาคต

3. ทูร์เมอริก (turmeric) และการออกฤทธิ์ต้านการอักเสบในโรคพยาธิใบไม้ตับ

นอกจากการศึกษาโดยใช้สารเคอร์คูมินแล้ว ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของทูร์เมอริกซึ่งเป็นสารสกัดหยาบจากขมิ้นชันมาทดสอบในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ พบว่าทูร์เมอริกสามารถลดจำนวนเซลล์อักเสบในหนูแฮมสเตอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคพยาธิใบไม้ตับในระยะเริ่มแรก แสดงให้เห็นว่า ทูร์เมอริกมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยดูจากผลทางพยาธิวิทยา พบว่ามี การรวมกลุ่มของเซลล์อักเสบที่อยู่ล้อมรอบ hepatic bile duct ลดน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบการทำงานของตับที่พบว่ามีการลดการทำงานของ ALT และ direct bilirubin แสดงให้เห็นว่า ทูร์เมอริกสามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวของทางเดินน้ำดี (biliary contraction) และค่า alkaline phosphatase (ALP) มีระดับสูงขึ้น²² ผลของทูร์เมอริกต่อการลดการอักเสบ อาจมาจากการไปยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการอักเสบ ได้แก่ COX-2, lipoyxygenase, iNOS และ NF- κ B^{23, 24} การศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่า ทูร์เมอริก มีคุณสมบัติเป็นสารต้านการอักเสบ และสามารถลดการเกิดพยาธิสภาพในตับได้ในการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในระยะเฉียบพลัน อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากคุณสมบัติด้านการอักเสบแล้วยังพบว่า ทูร์เมอริกไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นพิษต่อหนูแฮมสเตอร์ปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบการทำงานของตับ จึงเป็นการสนับสนุนการศึกษาก่อนหน้าที่รายงานว่าไม่พบผลกระทบบที่เป็นพิษในหนูแฮมสเตอร์²⁵

4. ผลของเคอร์คูมินต่อการลดกระบวนการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีในระดับโมเลกุล: หลักฐานจากสัตว์ทดลองและในหลอดทดลอง

การศึกษาลักษณะของเคอร์คูมินต่อการลดกระบวนการก่อโรคมะเร็งท่อน้ำดีในหนูแฮมสเตอร์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งท่อน้ำดีโดยการให้พยาธิใบไม้ตับร่วมกับสารก่อมะเร็ง NDMA โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มปกติ กลุ่มที่ติดพยาธิใบไม้ตับ ร่วมกับได้รับสาร NDMA และกลุ่มที่ติดพยาธิใบไม้ตับ ร่วมกับได้รับสาร NDMA และให้กินเคอร์คูมิน จากผลการศึกษาลักษณะแสดงให้เห็นว่าหนูแฮมสเตอร์กลุ่มที่ได้รับเคอร์คูมิน ระยะเวลาในการเกิดมะเร็งช้าลง ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลง ร้อยละของหนูที่เกิดมะเร็งลดลง และหนูมีอัตราการมีชีวิตสูงขึ้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของตับหนูแฮมสเตอร์ พบว่ามีการตอบสนองของเซลล์อักเสบและการตายของเนื้อเยื่อน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ติดพยาธิใบไม้ตับร่วมกับได้รับสาร NDMA โดยเคอร์คูมินไปยับยั้งการแสดงออกของ activated NF- κ B และ NF- κ B-related gene products ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ (cyclin D1 และ c-Myc) กระบวนการสร้างหลอดเลือดฝอยใหม่ (VEGF และ CD31) กระบวนการแพร่กระจายและการบุกรุกของเซลล์มะเร็ง (ICAM-1 หรือ CD54, MMP-9 และ MMP-2) ลดกระบวนการอักเสบ โดยลดการแสดงออกของ COX-2 ลดการสร้างอนุมูลอิสระชนิดไนตริกออกไซด์ จากการยับยั้งการแสดงออกของ iNOS ส่งผลให้ปลดการทำลายสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ โดยลดการก่อรูปของ 8-oxodG และ 8-nitroguanine ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ภาวะออกซิเดทีฟและไนเตรทไฟสเตรสตามลำดับ ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ (PCNA proliferation index) นอกจากนี้ เคอร์คูมินยังไปลดโมเลกุลตัวรับบนผิวเซลล์ TNF receptor-associated factor (TRAF)-1 ลด signal transcription kinase (JAK2) และทรานสคริปชันโมเลกุล (STAT3) ไปเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบอะพอโทซิส (apoptosis) โดยเพิ่มการแสดงออกของ pro-caspase ได้แก่ cleaved caspase-3, -8, -9 และ PARP แต่ยับยั้งแอนติอะพอโทซิส (anti-apoptosis) โดยยับยั้งการแสดงออกของ Bcl-2 และ Bcl-xL ดังนั้นการกินสารเคอร์คูมินผสมในอาหารอาจมีส่วนช่วยป้องกันและลดการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีในสัตว์ทดลองและอาจนำเคอร์คูมินมาทดสอบเพื่อป้องกันรักษามะเร็งท่อน้ำดีในมนุษย์ต่อไป²⁶

การศึกษาในหลอดทดลองโดยทดสอบกับเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของคน 3 ชนิด KKU100, KKU-M156 และ KKU-M214 ในหลอดทดลอง พบว่า เคอร์คูมินสามารถ

ฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในหลอดทดลอง โดยไปกระตุ้นการตายแบบอะพอโทซิส ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ลดการบุกรุกและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง เคอร์คูมินสามารถยับยั้งการแสดงออกของ NF- κ B, IKK α phosphorylation และ degradation ยับยั้งที่ควบคุมโดย NF- κ B และโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์ (COX2, c-myc, และ cyclin D1) โมเลกุลตัวรับบนผิวเซลล์ (TRAF-1 และ TRAF-2) ลดทรานสคริปชันโมเลกุล ได้แก่ STAT-3, RANKL และ Akt แต่เพิ่มการกระตุ้น PPAR- γ และการแสดงออกของ SP3 เคอร์คูมินยังไปเพิ่ม dead cell receptor (DR)-4 และ DR-5 กระตุ้น caspases-8, -9 และ -3 และเหนี่ยวนำ PARP cleavage แต่ไปยับยั้งการแสดงออกของ survivin และ antiapoptotic molecules (Bcl-xL, Bcl-2, XIAP, IAP-1, IAP-2 และ c-FLIP) ยับยั้งการรุกรานของเซลล์มะเร็ง (MMP-9 และ uPA) และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (ICAM-1 และ CXCR4) สารเคอร์คูมินจึงสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี โดยไปกระตุ้นการตายแบบอะพอโทซิส ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ลดการบุกรุกและแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง²⁷

การศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลอง สรุปได้ว่าเคอร์คูมินสามารถป้องกันและรักษามะเร็งท่อน้ำดีได้ โดยมีบทบาทในการยับยั้งการเกิดมะเร็งใน 3 ขั้นตอน คือ initiation, promotion และ progression อย่างไรก็ตามเนื่องจากเคอร์คูมินเป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำ²⁸ ทำให้การดูดซึมในลำไส้ได้น้อย ระยะเวลาในการออกฤทธิ์ในกระแสเลือดสั้น²⁹ ปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเมตะบอไลต์ตัวอื่นๆ ของเคอร์คูมิน ตัวอย่างเช่น ไดไฮโดรเคอร์คูมิน (dihydrocurcumin) และเตตระไฮโดรเคอร์คูมิน (tetrahydrocurcumin) ซึ่งต่อมาผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะถูกเปลี่ยนแปลงให้อยู่ในรูป monoglucuronide conjugates¹⁵ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายและการดูดซึมของสารเคอร์คูมินให้ดีขึ้น ก่อนที่จะนำมาทดสอบในผู้ป่วยต่อไป

ในทางตรงข้ามมีการศึกษาฤทธิ์ของทูร์เมอริกซึ่งเป็นสารสกัดหยาบจากขมิ้นชัน ในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดพยาธิใบไม้ตับ ร่วมกับการได้รับสารก่อมะเร็ง NDMA³⁰ พบว่าทูร์เมอริกมีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดีได้ทางอ้อม และการทดลองโดยให้ทูร์เมอริกผสมอาหารให้หนูแฮมสเตอร์กินนาน 60 วัน พบว่าในวันที่ 30 จำนวนเซลล์อักเสบลดน้อยลง และไม่พบการเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดี แต่ในวันที่ 60 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาพบว่าการเพิ่มจำนวนของท่อน้ำดีประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับหนูแฮมสเตอร์กลุ่มปกติ ผลดังกล่าวสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ proliferating cell nuclear antigen (PCNA) โดยพบว่า

มีการแสดงออกของยีนเกี่ยวกับกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์เพิ่มขึ้น ได้แก่ ยีน telomerase และ c-Ski ที่บ่งชี้ว่ามีการแบ่งตัวของเซลล์เพิ่มขึ้น มีการแสดงออกของยีนอะพ็อพโทซิส ได้แก่ p53 และ TGF- β และมีการแสดงออกของแอนติออกซิแดนท์ยีน ได้แก่ SOD1, CAT และออกซิแดนท์ยีน ได้แก่ iNOS ดังนั้นการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นถึงการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของทุเรียนหมอนทอง นอกจากนี้ทุเรียนหมอนทองยังมีผลกระตุ้นการสร้างท่อน้ำดีอีกด้วย อธิบายได้ว่าเกิดจากการปรับสภาวะสมดุลของทางเดินน้ำดี (biliary homeostasis) โดยเกิดกระบวนการซ่อมแซมหลังจากที่เกิดความเสียหายแก่เซลล์ตับจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น สารเคมี (CCI₄, NDMA) การติดเชื้อ (แบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต) หรือการอุดตันของท่อน้ำดีจาก biliary ligation ปัจจัยดังกล่าวทำให้เกิดการตอบสนองอย่างรวดเร็วจากสภาวะสมดุลของทางเดินน้ำดี

สรุป

ผลของเคอร์คูมินต่อโรคมะเร็งท่อน้ำดีที่เกิดจากโรคพยาธิใบไม้ตับสรุปไว้ในรูปภาพที่ 3 ผลการทดสอบเคอร์คูมินและ/หรือ ทุเรียนหมอนทองซึ่งเป็นสารสกัดอย่างหยาบของขมิ้นชันต่อโรคพยาธิใบไม้ตับในสัตว์ทดลองพบว่า เคอร์คูมินสามารถยับยั้งการอักเสบ ลดภาวะเครียดแบบออกซิเดชันและไนเตรชัน ลดการทำลายเซลล์ตับ ลดการสะสมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำดี รวมทั้งลดผลข้างเคียงจากการรักษาด้วยยาพาราซิควอนเทล นอกจากนี้เคอร์คูมินยังมีฤทธิ์ไปฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในหลอดทดลอง ส่วนผลของเคอร์คูมินต่อการยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีในสัตว์ทดลองพบว่า เคอร์คูมินสามารถลดการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี แต่เมื่อทดลองใช้ทุเรียนหมอนทองซึ่งเป็นสารสกัดอย่างหยาบจากขมิ้นชัน กลับพบว่าทำให้ท่อน้ำดีขนาดเล็กมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นผลที่แตกต่างกันนี้อาจจะขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ของสารสกัดของเคอร์คูมินที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัย ช่องทางในการให้ตัวทำละลายที่ต่างกัน ความเข้มข้น รวมถึงการดูดซึมของร่างกายซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของเคอร์คูมิน ในปัจจุบันได้มีการนำเคอร์คูมินมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ในมนุษย์แล้ว เช่น แผลในกระเพาะอาหาร ลดอาการท้องอืดท้องเฟ้อ รักษาแผลที่ผิวหนัง และรักษาโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับอ่อน มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งเต้านม เป็นต้น แต่ในการนำเคอร์คูมินมารักษาผู้ป่วยโรคมะเร็งท่อน้ำดีนั้นควรที่จะมีการศึกษาเพื่อให้ทราบกลไกที่แน่ชัด รวมถึงการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของเคอร์คูมินให้ดีขึ้นก่อนที่จะนำมาใช้ในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

นางสาวสุดารัตน์ อ่อนสุระทุม ได้รับทุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สมชาย ปิ่นละออ และ ธิดารัตน์ บุญมาศ ได้รับทุนสนับสนุนจาก The Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission, through the Health Cluster (SHeP-GMS), and Thailand Research Fund, Thailand.

เอกสารอ้างอิง

1. Sripa B, Kaewkes S, Sithithaworn P, Mairiang E, Laha T, Smout M, et al. Liver fluke induces cholangiocarcinoma. *PLoS Med.* 2007; 4:e201.
2. Saowakontha S, Pipitgool V, Pariyanonda S, Tesana S, Rojsathaporn K, Intarakhao C. Field trials in the control of *Opisthorchis viverrini* with an integrated programme in endemic areas of northeast Thailand. *Parasitology.* 1993; 106 (Pt 3):283-8.
3. Pinlaor S, Ma N, Hiraku Y, Yongvanit P, Semba R, Oikawa S, et al. Repeated infection with *Opisthorchis viverrini* induces accumulation of 8-nitroguanine and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanine in the bile duct of hamsters via inducible nitric oxide synthase. *Carcinogenesis.* 2004; 25:1535-42.
4. Pungpak S, Chalemrut K, Harinasuta T, Viravan C, Schelp PF, Hempfling A, et al. *Opisthorchis viverrini* infection in Thailand: symptoms and signs of infection--a population-based study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1994; 88:561-4.
5. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med.* 1991; 57:1-7.
6. Yodkeeree S, Chaiwangyen W, Garbisa S, Limtrakul P. Curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin differentially inhibit cancer cell invasion through the down-regulation of MMPs and uPA. *J Nutr Biochem.* 2009; 20:87-95.
7. Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, et al. Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair Regen.* 1998; 6:167-77.
8. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. *J Agric Food Chem.* 1999; 47:4297-300.
9. Satoskar RR, Shah SJ, Shenoy SG. Evaluation of anti-inflammatory property of curcumin (diferuloyl methane) in patients with postoperative inflammation. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1986; 24:651-4.

10. Srimal RC, Dhawan BN. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. *J Pharm Pharmacol.* 1973; 25:447-52.
11. Kuttan R, Bhanumathy P, Nirmala K, George MC. Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Cancer Lett.* 1985; 29:197-202.
12. Chen A, Xu J, Johnson AC. Curcumin inhibits human colon cancer cell growth by suppressing gene expression of epidermal growth factor receptor through reducing the activity of the transcription factor Egr-1. *Oncogene.* 2006; 25:278-87.
13. Huang MT, Lou YR, Ma W, Newmark HL, Reuhl KR, Conney AH. Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Res.* 1994; 54:5841-7.
14. Singh SV, Hu X, Srivastava SK, Singh M, Xia H, Orchard JL, et al. Mechanism of inhibition of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by dietary curcumin. *Carcinogenesis.* 1998; 19:1357-60.
15. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci.* 2006; 78:2081-7.
16. Pinlaor S, Hiraku Y, Ma N, Yongvanit P, Semba R, Oikawa S, et al. Mechanism of NO-mediated oxidative and nitrative DNA damage in hamsters infected with *Opisthorchis viverrini*: a model of inflammation-mediated carcinogenesis. *Nitric Oxide.* 2004; 11:175-83.
17. Pinlaor S, Yongvanit P, Prakobwong S, Kaewsamut B, Khoontawad J, Pinlaor P, et al. Curcumin reduces oxidative and nitrative DNA damage through balancing of oxidant-antioxidant status in hamsters infected with *Opisthorchis viverrini*. *Mol Nutr Food Res.* 2009; 53:1316-28.
18. Prakobwong S, Pinlaor S, Yongvanit P, Sithithaworn P, Pairajkul C, Hiraku Y. Time profiles of the expression of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, cytokines and collagens in hamsters infected with *Opisthorchis viverrini* with special reference to peribiliary fibrosis and liver injury. *Int J Parasitol.* 2009; 39:825-35.
19. Pinlaor S, Prakobwong S, Hiraku Y, Pinlaor P, Laothong U, Yongvanit P. Reduction of periductal fibrosis in liver fluke-infected hamsters after long-term curcumin treatment. *Eur J Pharmacol.* 2010; 638:134-41.
20. Pinlaor S, Prakobwong S, Hiraku Y, Kaewsamut B, Dechakhamphu S, Boonmars T, et al. Oxidative and nitrative stress in *Opisthorchis viverrini*-infected hamsters: an indirect effect after praziquantel treatment. *Am J Trop Med Hyg.* 2008; 78:564-73.
21. Charoensuk L, Pinlaor P, Prakobwong S, Hiraku Y, Laothong U, Ruangjirachuporn W, et al. Curcumin induces a nuclear factor-erythroid 2-related factor 2-driven response against oxidative and nitrative stress after praziquantel treatment in liver fluke-infected hamsters. *Int J Parasitol.* 2011; 41:615-26.
22. Boonjaraspinyo S, Boonmars T, Aromdee C, Srisawangwong T, Kaewsamut B, Pinlaor S, et al. Turmeric reduces inflammatory cells in hamster opisthorchiasis. *Parasitol Res.* 2009; 105:1459-63.
23. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 595:105-25.
24. Pae HO, Jeong SO, Kim HS, Kim SH, Song YS, Kim SK, et al. Dimethoxycurcumin, a synthetic curcumin analogue with higher metabolic stability, inhibits NO production, inducible NO synthase expression and NF- κ B activation in RAW264.7 macrophages activated with LPS. *Mol Nutr Food Res.* 2008; 52:1082-91.
25. Sriraj P, Boonmars T, Boonjaraspinyo S, Kaewsamut B, Srisawangwong T, Sithithaworn P, et al. Effect of curcumin on pathogenesis of hamster-opisthorchiasis through apoptosis-related gene expression. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2009; 40:1208-15.
26. Prakobwong S, Khoontawad J, Yongvanit P, Pairajkul C, Hiraku Y, Sithithaworn P, et al. Curcumin decreases cholangiocarcinogenesis in hamsters by suppressing inflammation-mediated molecular events related to multistep carcinogenesis. *Int J Cancer.* 2011; 129:88-100.
27. Prakobwong S, Gupta SC, Kim JH, Sung B, Pinlaor P, Hiraku Y, et al. Curcumin suppresses proliferation and induces apoptosis in human biliary cancer cells through modulation of multiple cell signaling pathways. *Carcinogenesis.* 2011; 32:1372-80.
28. Tonnesen HH. Solubility, chemical and photochemical stability of curcumin in surfactant solutions. *Studies of curcumin and curcuminoids, XXVIII. Pharmazie.* 2002; 57:820-4.
29. Lao CD, Ruffin MT, Normolle D, Heath DD, Murray SI, Bailey JM, et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complement Altern Med.* 2006; 6:10.
30. Boonjaraspinyo S, Boonmars T, Aromdee C, Puapairoj A, Wu Z. Indirect effect of a turmeric diet: enhanced bile duct proliferation in Syrian hamsters with a combination of partial obstruction by *Opisthorchis viverrini* infection and inflammation by *N*-nitrosodimethylamine administration. *Parasitol Res.* 2011; 108:7-14.

