



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เภสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลาโทนินในการลดอาการไม่พึงประสงค์จากเคมีบำบัด
และเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโรคมะเร็งในระหว่างรับการรักษาด้วยเคมีบำบัด

(Melatonin in Reduction of Chemotherapy – Induced Toxicity: Pharmacokinetics –
pharmacodynamics and increase of quality of life of cancer patients receiving
chemotherapy – MIRCIT trial)

โดย รศ.ดร.นุจรี ประทีปะวณิช จอห์นส และคณะ

28 กุมภาพันธ์ 2554

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เภสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลาโทนินในการลดอาการไม่พึงประสงค์ของเคมีบำบัด
และเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโรคมะเร็งในระหว่างรับการรักษาด้วยเคมีบำบัด

(Melatonin in Reduction of Chemotherapy – Induced Toxicity: Pharmacokinetics –
pharmacodynamics and increase of quality of life of cancer patients receiving
chemotherapy – MIRCIT trial)

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. รศ.ดร.นุจรี ประทีปะวณิช จอห์นส | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| 2. ผศ.ดร.จูลรัตน์ คนศิลป์ | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| 3. ผศ.พญ.เอื้อมแข สุขประเสริฐ | คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| 4. ดร. เจฟฟรีย์ รอย จอห์นส | คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น |

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ จิตพิมลมาศ ที่ปรึกษาโครงการ MIRCIT Trial สำหรับคำแนะนำที่ดี ความกรุณา และกำลังใจที่มีให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา บทเรียนสำคัญที่ผู้วิจัยได้เรียนรู้เมื่อปรึกษางานกับอาจารย์คือ การทำงานแบบไม่ compromise ประสิทธิภาพ และอาจารย์ยังได้กรุณาเป็นที่ปรึกษาให้กับกลุ่มวิจัยเมลาโท닌 และให้คำแนะนำที่ดีแก่กลุ่มวิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยทุกท่าน โดยเฉพาะ ผศ.ดร.จตุรนต์ คนศิลป์ ที่จัดประกายให้ศึกษาเมลาโท닌และเป็นการกำลังสำคัญในการร่างและออกแบบโครงการวิจัย และเป็นผู้แนะนำให้ตั้งกลุ่มวิจัยในคณะเพื่อหาเงินสนับสนุนโครงการ ซึ่งต่อมาได้ขยายไปเป็นกลุ่มวิจัยเมลาโท닌 มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ศึกษาวิจัยเมลาโท닌อย่างครบวงจร เพื่อรวบรวมหลักฐานเชิงประจักษ์ของเมลาโท닌 สำหรับใช้ประกอบการขึ้นทะเบียนเมลาโท닌 เพื่อให้ประชาชนเข้าถึงยาได้ ปัจจุบันมีนักวิจัยที่เชี่ยวชาญในสาขาต่างๆ มากกว่า 30 คน

ขอบคุณผศ.พญ.เอื้อมแข สุขประเสริฐ ที่ให้โอกาสได้ทำงานวิจัยร่วมและเป็นแพทย์ประจำทีมวิจัยคนแรกของ MIRCIT Trial ซึ่งเป็นกำลังสำคัญในการพัฒนารูปแบบการคัดเลือกผู้ป่วยและการรักษามะเร็งที่ใช้ในโครงการ และยังได้แนะนำทีมแพทย์ท่านอื่นๆ เข้าร่วมโครงการวิจัยด้วย ทำให้สามารถคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษาได้มากขึ้น ขอขอบคุณ ดร. เจฟฟรีย์ รอย จอห์นส ที่เป็นกำลังสำคัญในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เมลาโท닌 และดูแลการทดลองในห้องปฏิบัติการทั้งหมด และขอบคุณสำหรับ moral support กำลังใจ และกำลังใจสมองที่สำคัญของโครงการ ทำให้ก้าวมาสู่การเป็นกลุ่มวิจัยเมลาโท닌ได้ในที่สุด

ขอบคุณบริษัทเยนเนอร์ราลตรักเฮาส์ โดยเฉพาะ ดร.สุริรัตน์ ประจักษ์ธรรม และคุณชัชวาล เจนบุญไทย ที่ให้ความช่วยเหลือในการพัฒนาและผลิตเมลาโท닌แคปซูลและยาหลอกสำหรับใช้ในงานวิจัยตลอดการวิจัยโดยไม่คิดมูลค่า ซึ่งความช่วยเหลือดังกล่าวได้นำไปสู่การพัฒนาโครงการร่วมกันผ่านทุน TRF-MAG ถึง 5 โครงการ โดยล่าสุด บริษัทเยนเนอร์ราลตรักเฮาส์ได้ยื่นหลักฐานผลิตภัณฑ์เมลาโท닌ไปยังองค์การอาหารและยา ประเทศไทย เพื่อขอขึ้นทะเบียนเมลาโท닌สำหรับเป็นยาเพื่อใช้ในผู้ป่วยมะเร็งเมื่อเดือน กุมภาพันธ์ 2554 และอยู่ระหว่างรอผลการพิจารณา

ขอขอบคุณทีมวิจัยอื่นๆ ของโครงการ MIRCIT Trial ได้แก่ ผศ. ดร. อาริวรรณ เชี่ยวชาญพัฒนา ซึ่งดูแลในเรื่อง code ยาและเตรียมงานสำหรับโครงการวิจัยทั้งหมด รศ.นพ. อนันตพงศ์ พันธุ์มณี พญ. ปาริชาติ พงษ์ไทย และ resident ทั้งส่วนแพทย์ และเภสัชกรที่ช่วยดูแลการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการ ผศ.ดร.สุพัตรา ปรศุพัฒนา ที่ปรึกษาและให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวัดความเครียดออกซิเดชัน ขอขอบคุณคุณทับทิม โอริอัค ผู้ช่วยวิจัยที่เป็นกำลังสำคัญในการติดต่อและประสานงานกับผู้ป่วยอย่างใกล้ชิด และขอบคุณนักศึกษาเภสัชศาสตร์ทุกๆ รุ่นที่ช่วยงานวิจัยผ่านการฝึกงาน การทำสัมมนา และการทำวิจัยในโครงการพิเศษ

ขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้โอกาสผู้วิจัยได้ทำงานวิจัย โครงการ MIRCIT Trial ซึ่งการสนับสนุนและได้โอกาสสัมผัสกับนักวิจัยที่เก่งๆ ผ่านการประชุมของสกว. เป็นแรงบันดาลใจสำคัญของการพัฒนางานทั้งในเชิงวิชาการและเชิงพาณิชย์ ซึ่งการขยายโครงการและความร่วมมือต่างๆ ของกลุ่มวิจัยเมลาโท닌นี้ เป็นผลมาจากจุดเริ่มต้นของทุนวิจัยสกว.นี้ทั้งสิ้น ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์และมหาวิทยาลัยขอนแก่นสำหรับการสนับสนุนทั้งในเชิงนโยบายและทุนวิจัยมาโดยตลอด รวมถึงอาจารย์และเจ้าหน้าที่คณะเภสัชศาสตร์ที่มีส่วนสนับสนุนให้ผู้วิจัยได้ทำงานวิจัยอย่างเต็มที่

ขอขอบพระคุณ Professor Sam Salek, Univeristy of Wales, Cardiff สำหรับกำลังใจและคำแนะนำที่สำคัญ 'If there is a will, there is a way... When you come to the bridge you will cross it'. ท้ายนี้ขอขอบคุณพ่อ แม่ พี่น้อง และครอบครัวทุกคนสำหรับกำลังใจที่ดี และความเชื่อมั่นที่มีให้แก่ผู้วิจัยเสมอมา

รศ.ดร.นุจรี ประทีปวงษ์ จอห์นส

บทคัดย่อ

Project Code : MRG5080037

Project Title : เกสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลาโทนินในการลดอาการไม่พึงประสงค์ของเคมีบำบัด และเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโรคมะเร็งในระหว่างการรักษาด้วยเคมีบำบัด

Investigator: รศ.ดร.นุจิรี ประทีปะวณิช จอห์นส คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Co-Investigators:

ผศ.ดร.จุลรัตน์ คนศิณี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผศ.พญ.เอื้อมแข สุขประเสริฐ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ดร. เจฟฟรีย์ รอย จอห์นส คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

E-mail Address : pnutja@kku.ac.th

Project Period : ธันวาคม 2549 – พฤศจิกายน 2551

The Melatonin In Reduction of Chemotherapy-Induced Toxicity (MIRCIT) trial มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดผลของเมลาโทนินเปรียบเทียบกับยาหลอกต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน อาการไม่พึงประสงค์ การตอบสนองต่อมะเร็ง และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งที่รับเคมีบำบัด การศึกษาเป็นแบบสุ่มปกปิดสองทางควบคุมด้วยยาหลอก ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งปอด เต้านม ตีระและคอ หรือเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำการสุ่มผู้ป่วยโดยวิธี mixed-block randomization แยกตามชนิดของมะเร็ง แบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่ม 3 กลุ่ม คือ รับเมลาโทนิน 10 มิลลิกรัม เมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม หรือยาหลอก ผู้ป่วยรับประทานยาที่ศึกษาเป็นเวลา 6 เดือน เก็บข้อมูลผู้ป่วยที่คอร์สที่ 1, 2 และ 3 ของการได้รับเคมีบำบัด โดยประเมินอัตราการตอบสนองต่อมะเร็งด้วยเกณฑ์ RECIST ประเมินอาการไม่พึงประสงค์ด้วย CTCAE version 3 และประเมินคุณภาพชีวิตด้วย FACT-G และประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันด้วย Malondialdehyde (MDA) และ 8-isoprostane ผลการศึกษาเบื้องต้นในผู้ป่วยจำนวน 30 คน แบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่มละ 10 คน กลุ่มที่รับเมลาโทนินมีระดับ Malondialdehyde (MDA) และ 8-isoprostane ลดลงมากกว่ากลุ่มควบคุม พบอุบัติการณ์การเกิดอาการไม่พึงประสงค์ในกลุ่มเมลาโทนินน้อยกว่ากลุ่มยาหลอกในเรื่องอาการเหนื่อยล้า เบื่ออาหาร ภาวะน้ำหนักลด และภาวะโลหิตจาง ส่วนอัตราการตอบสนองต่อมะเร็งไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนินขนาด 20 มิลลิกรัม มีร้อยละของผู้ป่วยที่มีคะแนนคุณภาพชีวิต (FACT-G) ดีขึ้นมากกว่ากลุ่มยาหลอก ทั้งที่ 1 เดือนหลังการรักษา (50% vs 30%) และ 2 เดือนหลังการรักษา (40% vs 20%) การศึกษาแสดงให้เห็นว่าการใช้เมลาโทนินร่วมกับการรักษามาตรฐานช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชัน อาการไม่พึงประสงค์ และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งที่รับเคมีบำบัดได้ ข้อจำกัดในเรื่องกลุ่มตัวอย่างที่น้อยทำให้ยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงควรมีการศึกษาต่อไปในกลุ่มตัวอย่างที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งขณะนี้กำลังอยู่ในระหว่างการจัดตั้งต่อไป

คำสำคัญ: เมลาโทนิน มะเร็ง เคมีบำบัด คุณภาพชีวิต ภาวะเครียดออกซิเดชัน

Abstract

Project Code : MRG5080037

Project Title : Melatonin in Reduction of Chemotherapy – Induced Toxicity: Pharmacokinetics – pharmacodynamics and increase of quality of life of cancer patients receiving chemotherapy – MIRCIT trial)

Investigator: Associate Professor Nutjaree Pratheepawanit Johns

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

Co-Investigators: Assistant Prof. Julrhat Konsin (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University), Assistant Prof. Aumkhae Sookprasert (Faculty of Medicine, Khon Kaen University), Dr. Jeffrey Roy Johns (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University)

E-mail Address : pnutja@kku.ac.th

Project Period : December 2006 – November 2008

The Melatonin In Reduction of Chemotherapy-Induced Toxicity (MIRCIT) trial was conducted to evaluate the effect of melatonin compared with placebo on oxidative stress, adverse events, tumor response, and quality of life (QOL) of cancer patients receiving chemotherapy. It was a randomized, double-blind, placebo, controlled trial conducted in advanced cancer patients diagnosed with non-small cell lung cancer, breast, head and neck or sarcoma. Patients were randomized using mixed-block randomization, stratified by cancer type, into three groups: melatonin 10 mg, melatonin 20 mg or matched placebo. The patients took the studied drugs for six months. Data collection included tumor status and adverse events using the RECIST criteria and CTCAE version 3 respectively. QOL was assessed with the Functional Assessment of Chemotherapy Treatment – General (FACT-G). Malondialdehyde (MDA) and 8-isoprostane were measured for oxidative stress. In preliminary results of 30 patients, there were 10 patients in each group. The melatonin group report more reduction of MDA and 8-isoprostane compared with placebo. Fewer adverse events were reported in melatonin group than placebo regarding fatigue, anorexia, weight loss and anemia. There was no difference of tumor response in all groups. Improvement of FACT-G score was reported in 20 mg melatonin more than placebo at both one month after treatment (50% vs. 30%) and two months after treatment (40% vs. 20%). Melatonin has shown a potential as an adjuvant therapy to reduce oxidative stress, adverse events and improve QOL of advanced cancer patients receiving chemotherapy. Limitation of small sample size precluded detection of statistical significance. Continued study with a larger sample size is warranted, and ongoing.

Keywords : Melatonin, cancer, chemotherapy, quality of life, oxidative stress

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เคมีบำบัดเป็นแบบแผนมาตรฐานของการรักษามะเร็ง โดยช่วยทำลายเซลล์มะเร็งที่มีการกระจายไปในส่วนต่างๆ ของร่างกาย และลดโอกาสการกลับเป็นมะเร็งซ้ำได้ อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการทำลายเซลล์แบบไม่เฉพาะที่ ทำให้เคมีบำบัดมีผลทำลายเซลล์ปกติอื่นๆ ของร่างกายที่มีการแบ่งตัวเร็ว เกิดเป็นอาการข้างเคียงของการรักษา มีทั้งที่เป็นพิษแบบชั่วคราว เช่น ภาวะกดไขกระดูก คลื่นไส้ อาเจียน ระบายเคืองเยื่อบุปาก หรือ ผมร่วง เป็นต้น และที่ทำลายอวัยวะของร่างกายแบบถาวร เช่น พิษต่อไต (nephrotoxicity) หรือ พิษต่อหัวใจ (cardiotoxicity) เป็นต้น อาการข้างเคียงหลายชนิดแม้เป็นแบบชั่วคราว แต่อาจมีความรุนแรงมากในผู้ป่วยบางราย และทำให้เสียชีวิตได้ นอกจากนี้ อาการข้างเคียงยังอาจทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถรับเคมีบำบัดได้ตามคอร์สของการรักษา ทำให้ลดประสิทธิภาพของเคมีบำบัด และเพิ่มการกลับเป็นมะเร็งซ้ำ ซึ่งอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นดังกล่าว ส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยทั้งในระยะสั้น และในระยะยาว

ปัจจุบันมีการพัฒนายาที่มีฤทธิ์ป้องกันอาการข้างเคียงจากเคมีบำบัดหลายตัว แต่ส่วนใหญ่ใช้ป้องกันพิษแบบเฉพาะที่ เช่น granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) ใช้ลดการกดไขกระดูกจากเคมีบำบัด dexrazoxane ใช้ป้องกันภาวะพิษต่อหัวใจจากยา doxorubicin หรือ mesna ใช้ป้องกันภาวะพิษต่อกระเพาะปัสสาวะจากยา ifosfamide ซึ่งยาดังกล่าวนอกจากจะมีราคาแพงแล้ว ยังใช้ได้จำกัดเฉพาะกับอาการข้างเคียงเพียงบางชนิด ในปัจจุบันมีเพียงยา amifostine ที่มีรายงานว่านอกจากป้องกันเช่น พิษต่อไต จากยา cisplatin แล้ว ยังสามารถป้องกันพิษที่ครอบคลุมเซลล์ปกติอื่นๆ จึงช่วยลดการกดไขกระดูก ลดพิษต่อระบบประสาทรับความรู้สึก (neurotoxicity), หลอดอาหารอักเสบ (esophagitis) และ ปอดอักเสบ (pneumonitis) ได้ อย่างไรก็ตาม amifostine ยังมีข้อจำกัดในการใช้เนื่องจากมีอาการข้างเคียงของยา (ความดันต่ำ คลื่นไส้ และอาเจียน) และยังมีราคาแพง (12,635 บาท ต่อ 500 มิลลิกรัม, ข้อมูลจากโรงพยาบาลศรีนครินทร์ ปี 2546) ซึ่งการใช้ร่วมกับเคมีบำบัดจะทำให้เพิ่มค่าใช้จ่ายในการรักษาถึง 151,620 บาท ต่อคอร์สการรักษา ในขณะเดียวกัน ยังไม่มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการใช้ amifostine จะช่วยเพิ่มการตอบสนองของมะเร็ง หรือเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย (Anon, 2001)

เมลาโทนินเป็นฮอร์โมนระบบประสาทที่มีในร่างกายตามธรรมชาติ สร้างและหลั่งจากต่อมไพเนียล (pineal gland) ในสมองของสัตว์เลื้อยคลานด้วยนมและคน โดยมีการสร้างมากในเวลากลางคืน เมลาโทนินมีบทบาทสำคัญในการควบคุม และปรับเปลี่ยนวัฏจักรประจำวันของร่างกาย ในปี ค.ศ. 1996 US FDA ได้อนุมัติให้เมลาโทนินเป็นยาประเภท "orphan drug" ที่ใช้ในการรักษาความผิดปกติของ circadian rhythm sleep disorders ในผู้ป่วยตาบอด ในขณะเดียวกัน เมลาโทนินจัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถซื้อได้โดยไม่ต้องมีใบสั่งยาจากแพทย์ในประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นที่รู้จักและใช้อย่างแพร่หลายในการช่วยให้นอนหลับ และลดอาการเมาเวลาจากการบิน (jet lag) (Brzezinski, 1997) ข้อมูลล่าสุดจาก Cochrane ซึ่งวิเคราะห์ 10 การศึกษาที่เกี่ยวข้อง พบว่าเมลาโทนินขนาด 0.5 – 5 มิลลิกรัม รับประทานใกล้กับเวลานอนของจุดหมายปลายทาง (22.00 – 24.00) สามารถลดอาการ jet lag ได้ โดยเชื่อว่า กลไกมาจากผลทำให้วงจรนอนของเมลาโทนิน และการกระตุ้นการปรับเปลี่ยนระบบวัฏจักรประจำวันของร่างกาย (Herxheimer, Petrie., 2002)

เนื่องจากเมลาโทนินมีหน้าที่ synchronize biologic rhythms ของร่างกาย และควบคุมระบบการทำงานของร่างกายโดยรวม จึงเชื่อว่าเมลาโทนินเกี่ยวข้องกับการนอน ระบบสืบพันธุ์ ระบบประสาท ระบบต่อมไร้ท่อ ระบบภูมิคุ้มกัน และระบบการต้านออกซิเดชันของร่างกาย โดยมีรายงานทั้งในหลอดทดลอง และสัตว์ทดลองว่าเมลาโทนินสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และลดการถูกทำลายของเซลล์ได้ (Reiter et al., 1996, 1997; 2000; 2001) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าว ทำให้มีการศึกษาการใช้เมลาโทนินในการรักษาโรคต่างๆ อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในโรคมะเร็ง

ความสัมพันธ์ของระดับเมลานินกับการเกิดมะเร็งเริ่มมีการศึกษาครั้งแรกในช่วงปี 1970s โดยพบว่าสารที่สกัดจากต่อมไพบีเลียลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ และสัตว์ทดลองที่ตัดต่อมไพบีเลียออก หรือกลุ่มที่สัมผัสกับแสงไฟในเวลากลางคืน ซึ่งมีผลทำให้เมลานินหลังลดลงนั้น มีการเติบโตของเซลล์มะเร็งเพิ่มมากขึ้น (Vijayalaxmi et al., 2002) โดยมีการศึกษากันมากในมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมน โดยเฉพาะมะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก ซึ่งพบว่าผู้ป่วยมะเร็งดังกล่าวมีระดับเมลานินในเวลากลางคืนต่ำกว่าคนปกติที่มีอายุเท่ากัน (Karasek et al., 2005) นอกจากนี้ ยังพบว่าผู้ป่วยที่มีมะเร็งชนิดที่มีความรุนแรง หรือ ขนาดของก้อนมะเร็งที่ใหญ่ มีระดับเมลานินในพลาสมาต่ำกว่ากลุ่มที่มีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Vijayalaxmi et al., 2002) นอกจากนี้ ข้อมูลจากหลายการศึกษาแสดงให้เห็นแนวโน้มของการเป็นมะเร็งมากขึ้นในกลุ่มคนที่ทำงานผลัดกลางคืน และพนักงานต้อนรับบนเครื่องบิน ซึ่งเชื่อว่าสัมพันธ์กับการที่เมลานินหลังน้อยลงในเวลากลางคืน โดยข้อมูลล่าสุดจากผล meta-analysis ของ 13 การศึกษายืนยันให้เห็นว่าคนที่ทำงานผลัดกลางคืนมีความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นร้อยละ 48 โดยมีความเสี่ยงไม่แตกต่างกันไม่ว่าจะเป็นการทำงานเป็นพนักงานต้อนรับบนเครื่องบิน (standardized incidence ratio 1.44; 95% CI 1.26 – 1.65) หรือคนที่ทำงานผลัดกลางคืน (relative risk 1.51; 95% CI 1.36 – 1.68) (Megdal et al., 2005)

ผลการศึกษาการใช้เมลานินในผู้ป่วยมะเร็ง มีรายงานล่าสุดใน meta-analysis ของการวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มและควบคุม จำนวน 10 การศึกษา ที่มีการใช้เมลานินร่วมกับการรักษามาตรฐานอื่นๆ ในผู้ป่วยมะเร็ง โดยการศึกษาส่วนใหญ่ใช้ขนาดเมลานินในช่วง 10 ถึง 40 มิลลิกรัม และให้แบบรับประทานวันละครั้งเวลาเย็น พบว่าเมลานินลดความเสี่ยงของการเสียชีวิตที่เวลา 1 ปี (one-year survival) ได้ 34% (relative risk: 0.66, 95% confidence interval: 0.59 – 0.73) และไม่พบรายงานอาการข้างเคียงที่รุนแรงจากการใช้เมลานิน (Mills et al., 2005)

กลไกของเมลานินในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด โดยเชื่อว่าเกี่ยวข้องกับกลไก ด้านอนุมูลอิสระและต้านออกซิเดชัน (Free radical scavenger and antioxidant) ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ (Antiproliferative activity) และเสริมภูมิคุ้มกัน (Enhancement of immune function) ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าว ทำให้มีการศึกษาการใช้เมลานินในการลดอาการข้างเคียงต่างๆ จากเคมีบำบัดและรังสีรักษา ซึ่งผลการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าเมลานินสามารถลดพิษต่อหัวใจ (Morishima et al., 1998; Lissoni et al., 1999; Wahab et al., 2000; Xu et al., 2001; Xu and Ashraf, 2002; Dziegiel et al., 2002; Liu et al., 2002; Kocak et al., 2003; Sahna et al., 2003; Balli et al., 2004; Ahmed et al., 2005; Kim et al., 2005) พิษต่อไตจากยา (Montilla et al., 1997; Sener et al., 2000; 2004; Hara et al., 2001; Dziegiel et al., 2002; Aydin et al., 2003; Jahovic et al., 2003) และพิษต่อปอด (Genovese et al., 2005) และเนื่องจากเมลานิน ออกฤทธิ์ต้านกระบวนการเกิดมะเร็ง ทำให้ลดอาการแทรกซ้อนของมะเร็ง ซึ่งสามารถช่วยในการรักษาแบบประคับประคอง (supportive care) ของผู้ป่วยมะเร็งได้ดี ตัวอย่างเช่น อาการผอมแห้งจากโรคมะเร็ง (neoplastic cachexia) ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างจากภาวะขาดโภชนาการ (malnutrition) จากสาเหตุอื่นๆ เนื่องจากมักจะเกิดจากการหลั่งของ tumor necrosis factor (TNF) ที่มากกว่าปกติในผู้ป่วยมะเร็ง

การศึกษาผลการลดอาการข้างเคียงในคนมีหลักฐานยืนยันข้อมูลที่พบในสัตว์ทดลอง โดยพบว่า ผู้ป่วยมะเร็งที่ใช้เมลานินร่วมด้วยมีรายงาน ของน้ำหนักตัวที่ลดลง (weight loss) มากกว่า 10% ที่ระยะเวลา 3 เดือน น้อยกว่า และพบระดับ TNF ลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ (Lissoni et al., 1994; 1996) ในขณะที่รายงานการวิจัยทางคลินิกด้วยรูปแบบการสุ่ม (randomized controlled trial) ในผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ มากกว่า 500 คน เปรียบเทียบการให้เมลานินร่วมกับการรักษาด้วยเคมีบำบัดหรือรังสีรักษา กับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและ/หรือรังสีรักษาเดี่ยวๆ พบว่ากลุ่มที่ใช้เมลานินร่วมด้วยมีรายงานอาการข้างเคียงน้อยกว่าในเรื่อง การกดไขกระดูก (23%) โดยเฉพาะภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (15-22%) ภาวะผอมแห้ง (21%) ภาวะปากอักเสบ (20%) พิษต่อระบบประสาทรับรู้ความรู้สึก (11-17%) พิษต่อหัวใจ (7-8%) พิษต่อไต (3-6%) ผมหร่วง (alopecia) (8%) คลื่นไส้ หรือ อาเจียน (8%) และท้องร่วง (diarrhea) (6-

14%) (Lissoni et al., 1997; 1999; 2002) ซึ่งการลดอาการข้างเคียงดังกล่าวเป็นผลจากการยับยั้งอนุมูลอิสระ ร่วมกับกลไกการออกฤทธิ์ที่เฉพาะอื่นๆของเมลาโทนิน เช่น การมีฤทธิ์สร้างเกล็ดเลือด (thrombopoietic property) ซึ่งมีส่วนในการลดอาการเกล็ดเลือดต่ำ ผลบำรุงเลี้ยงเซลล์ประสาท (neurotrophic activity) ที่ช่วยป้องกัน apoptosis ของเซลล์ประสาท ซึ่งมีผลในการลดพิษต่อระบบประสาทรับความรู้สึก และการลด TNF ซึ่งช่วยลดภาวะพอมแห้งได้

ข้อมูลจากหลายการศึกษาโย่งให้เห็นความสัมพันธ์ของเมลาโทนินในการเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็ง ซึ่งโรงพยาบาลบางแห่งในประเทศยุโรป ได้มีการใช้เมลาโทนินเป็นมาตรฐานการรักษาแบบประคับประคองในผู้ป่วย มะเร็งระยะสุดท้าย (Lissoni, 2002) ส่วนหนึ่งเนื่องจาก ผู้ป่วยมะเร็งส่วนใหญ่มีอาการเหนื่อยเพลีย ซึ่งการให้เมลา โทนินในเวลากลางคืน ช่วยให้ผู้ป่วยนอนหลับได้ดียิ่งขึ้น ลดอาการอ่อนเพลีย และช่วยให้ผู้ป่วยมีความสามารถในการ ปฏิบัติกิจกรรม (performance status) ที่ดีขึ้น ซึ่งผลของเมลาโทนินในการลดอาการข้างเคียงจากเคมีบำบัด น่าจะ ช่วยลดพิษต่ออวัยวะอื่นๆในระยะยาว และมีส่วนทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันยังไม่มี รายงานการศึกษาผลของเมลาโทนินต่อผลลัพธ์ด้านคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็ง แม้ว่าคุณภาพชีวิตจะเป็นเป็นตัว บ่งชี้ / ผลลัพธ์ที่หลักที่สำคัญในการดูแลรักษาผู้ป่วยมะเร็งดังกล่าว

นอกจากนี้ แม้ว่าเมลาโทนินจะเคยมีการศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วย แต่ยังไม่มีการศึกษาใดที่สามารถอธิบาย ความสัมพันธ์ระหว่างขนาด หรือ ปริมาณที่ร่างกายสัมผัสกับเมลาโทนิน (drug exposure) กับความสำเร็จในการ ป้องกันอาการข้างเคียงของเคมีบำบัด หรือแม้แต่เพิ่มการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาในผู้ป่วยมะเร็งมาก่อน ประกอบกับความแปรปรวนที่สูงมากในชีวประสิทธิผลของเมลาโทนินที่ให้ทางรับประทาน (Lane and Moss 1985; DeMuro et al., 2000; Kovacs et al., 2000) สะท้อนให้เห็นว่าขนาดของเมลาโทนินที่ให้กับผู้ป่วยอาจไม่ใช่ตัวบ่งชี้ที่ เหมาะสมของปริมาณที่ร่างกายสัมผัสกับเมลาโทนิน ทำให้การแปลผลถึงความสำเร็จในการใช้เมลาโทนินทางคลินิก ภายใต้อาการข้างเคียงจากการป้องกันอาการข้างเคียงจากเคมีบำบัดและการเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยไม่ชัดเจน

โครงการวิจัยนี้ต้องการศึกษาผลของการใช้เมลาโทนิน ซึ่งมีราคาถูก เนื่องจาก การนำเมลาโทนินมาใช้ ทางคลินิกจะทำให้มีต้นทุนในการรักษาเพิ่มขึ้นเพียง 100 – 200 บาท ต่อการรักษา (ใช้ติดต่อกันประมาณ 6 เดือน) ต่อผู้ป่วยหนึ่งคน ในขณะเดียวกัน เมลาโทนินที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย มีรายงานความปลอดภัยในการใช้สูง มี ข้อมูลยืนยันฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและต้านออกซิเดชัน ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง ซึ่งมีผลช่วยลด อาการข้างเคียงจากเคมีบำบัด และน่าจะมีผลต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย นอกจากนี้ เมลาโทนินยังมีฤทธิ์ทางเภสัช วิทยาที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยมะเร็ง ทั้งในด้านการรักษาแบบประคับประคอง และเพิ่มการตอบสนองของมะเร็ง โดยงานวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาแรกที่ใช้รูปแบบการวิจัยที่มีการสุ่ม ปกปิด และควบคุม รวมทั้งจุดยุติด้านคุณภาพ ชีวิต เภสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ เพื่อให้ได้องค์ความรู้ใหม่ คือ ขนาดเมลาโทนินที่เหมาะสมในการนำไปใช้ใน ผู้ป่วยมะเร็งเพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก ซึ่งจะช่วยให้ได้ข้อมูลที่ครอบคลุม และเป็นประโยชน์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการดูแลผู้ป่วยได้อย่างแท้จริง

วัตถุประสงค์ของโครงการ

วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาผลของเมลาโทนิน ที่ใช้ในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับยาหลอกในการลดอาการ ข้างเคียงของเคมีบำบัด และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็ง

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลาโทนินที่ให้ในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม ในผู้ป่วยมะเร็ง
2. เพื่อศึกษาผลของเมลาโทนินที่ใช้ในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับยาหลอก ในการ ตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา

3. เพื่อศึกษาผลของเมลาโทนินที่ใช้ในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับยาหลอก ต่อภาวะ oxidative stress ของผู้ป่วย

สมมติฐานของการศึกษา

1. เมลาโทนินสามารถลดอาการข้างเคียงที่เกิดจากการใช้เคมีบำบัดได้ โดยเฉพาะอาการข้างเคียงในด้านการกดไขกระดูก (ภาวะมีเกล็ดเลือดต่ำ ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ และภาวะโลหิตจาง) ภาวะผอมแห้ง (cachexia) พิษต่อระบบประสาทรับความรู้สึก (neurotoxicity) พิษต่อหัวใจ (cardiotoxicity) และพิษต่อไต (nephrotoxicity)
2. เมลาโทนินสามารถเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยในด้านร่างกาย และการปฏิบัติกิจกรรมได้ ทั้งในระหว่างรับเคมีบำบัด และเมื่อจบคอร์สเคมีบำบัด
3. กลุ่มที่ใช้เมลาโทนินมีการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม
4. ขนาดยาที่เลือกใช้ในการวิจัยสามารถให้ระดับความเข้มข้นในพลาสมา หรือ ปริมาณที่ร่างกายสัมผัสกับเมลาโทนินที่มีความสัมพันธ์กับจุดยุติด้านประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของการใช้เคมีบำบัดในผู้ป่วย
5. เมลาโทนินสามารถลดภาวะ oxidative stress ในผู้ป่วยมะเร็งที่รับเคมีบำบัดได้

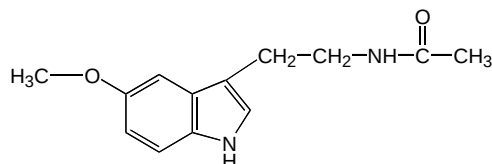
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยมาใช้วางแผนการรักษามะเร็งที่รับเคมีบำบัด เพื่อช่วยลดอาการข้างเคียง และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย
2. นำข้อมูลชีวสมมูลในผู้ป่วยมะเร็งที่ใช้จุดยุติด้านเภสัชจลนศาสตร์และความปลอดภัยของเมลาโทนิน มาช่วยในการตัดสินใจเลือกใช้เมลาโทนินในขนาดที่เหมาะสมได้อย่างมั่นใจในประสิทธิภาพและความปลอดภัย
3. เป็นแนวทางในการพัฒนาการวิจัยเพื่อศึกษาผลของเมลาโทนินในด้านอื่นๆ ที่มีการวิจัยยืนยันประสิทธิภาพในเบื้องต้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เภสัชจลนศาสตร์ของเมลาโทนิน

เมลาโทนินมีลักษณะที่ปรากฏเป็นผงสีขาวออกเหลือง คุณภาพของวัตถุดิบที่เลือกใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีความบริสุทธิ์มากกว่า 99% เก็บรักษาในที่เย็นประมาณ 4°C ให้พ้นแสงและปิดสนิท รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเมลาโทนิน (N-Acetyl-5-methoxytryptamine) เมลาโทนินมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 232.278 g/mol มีจุดหลอมเหลว 117°C ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ มีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วนในออกทานอล-น้ำ (octanol-water partition coefficient) ประมาณ 1.2-1.5 (Kandimalla et al., 1999) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน่าจะไม่มีปัญหาในการแพร่ผ่านผนังเซลล์ทั้งเพื่อการดูดซึม และกระจายตัวในร่างกาย (Merck Index, 12, 5857, 1996)



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของเมลาโทนิน

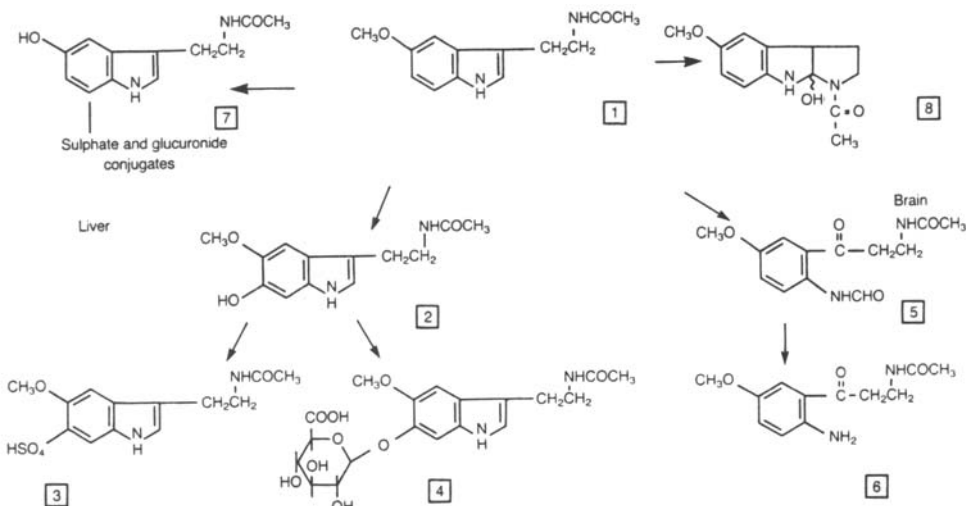
สูตรตำรับของเมลาโทนินที่ได้รับการทดสอบทางคลินิกส่วนใหญ่เป็นยารับประทาน ในรูปแบบยาเม็ด หรือ แคปซูล (Lissoni et al., 1997; 1999; 2003) หรือ สารละลาย (Konsil, 1997; Fourtillan et al., 2000) แต่เนื่องจากเม

ลาโทนิถูกทำลายโดยเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นก่อนที่จะดูดซึมจากทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสไหลเวียนโลหิต (first pass metabolism) ในสัดส่วนที่สูงมาก 99 – 63% (Fourtillan et al., 2000) รวมทั้งเมลลาโทนิมีค่าครึ่งชีวิตที่สั้นมาก (น้อยกว่า 0.5 ถึง 1 ชั่วโมง) (Iguchi et al., 1982; Claustat et al., 1986; Mallo et al., 1990; Brown et al., 1997) จึงมีการพัฒนารูปแบบการให้เมลลาโทนิในวิธีการบริหารอื่นๆ ที่สามารถหลีกเลี่ยงการสูญเสียเมลลาโทนิไปกับเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นก่อนที่จะดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และยืดระยะเวลาให้เมลลาโทนิอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น เพื่อให้มีการปรับระดับความเข้มข้น-เวลา ที่ใกล้เคียงกับการหลั่งเมลลาโทนิจากต่อมไพเนียลในธรรมชาติ เช่น การบริหารทางผิวหนัง (transdermal) (Lee et al., 1994) ทางช่องปาก (transbuccal) (Benes et al., 1997; Dawson et al., 1998) หรือทางจมูก (intranasal) (Bechgaard et al., 1999)

อย่างไรก็ตาม การใช้เมลลาโทนิในผู้ป่วยกลุ่มเป้าหมายของการวิจัยทางคลินิกที่ผ่านมา ยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการพยายามรักษาระดับความเข้มข้นของเมลลาโทนิให้มีลักษณะใกล้เคียงกับระดับความเข้มข้นตามธรรมชาติ ให้ประโยชน์ด้านการรักษาพยาบาลผู้ป่วยกลุ่มเป้าหมาย ในทางตรงกันข้ามขนาดของเมลลาโทนิที่แสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการลดอาการข้างเคียงและ/หรือเพิ่มการรอดชีวิต เป็นขนาดบริหารทางรับประทานที่ให้ระดับความเข้มข้นของเมลลาโทนิสูงกว่าระดับที่หลังจากต่อมไพเนียลหลั่งร้อยละเก้าสิบ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการบริหารอื่นๆ การรับประทานเมลลาโทนิยังเหนือกว่าทั้งในด้านค่าใช้จ่าย ต้นทุนของการพัฒนาสูตรตำรับ และความสะดวกในการใช้

แนวทางการจัดการกับปัญหาการถูกทำลายจากเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นก่อนที่จะดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในการวิจัยนี้ อาศัยการตั้งสมมุติฐานจากองค์ความรู้ด้านคุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ และเภสัชจลนศาสตร์ของเมลลาโทนิ เมื่อคำนึงถึงขนาดที่เลือกใช้ในการวิจัยนี้ (10 และ 20 มิลลิกรัม) และค่าการละลายน้ำของเมลลาโทนิ 1.2 – 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Shida et al., 1994; Kikwai et al., 2002) แล้วไม่น่าพบปัญหาด้านการละลายที่ไม่สมบูรณ์ของเมลลาโทนิเมื่อให้รับประทานพร้อมกับน้ำ 1 แก้ว รวมทั้งเมลลาโทนิยังมีความสามารถในการแพร่ผ่านผนังลำไส้เล็กได้ดี จากการศึกษาในแบบจำลองของเซลล์ Caco-2 (Yeleswaram et al., 1997) ปัญหาชีวประสิทธิผลต่ำ และความแปรปรวนที่สูงมากระหว่างบุคคล หลังการรับประทานเมลลาโทนิมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นก่อนที่จะดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่มีลักษณะอิ่มตัวได้ (saturable first pass metabolism) (Konsil, 1997; Yeleswaram et al., 1997) ซึ่งหมายถึง สัดส่วนของการเกิดเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นก่อนที่จะดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะมีค่าลดลงตามขนาดยา และความเร็วในการดูดซึมที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะของเภสัชจลนศาสตร์ที่ไม่เป็นเชิงเส้น (nonlinear pharmacokinetics) การรับประทานสูตรตำรับออกฤทธิ์เนิ่นนานของเมลลาโทนิในขนาดต่ำจะสูญเสียเมลลาโทนิไปกับเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นก่อนที่จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในสัดส่วนที่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับให้ทันที (immediate release) การศึกษาจึงเลือกที่จะพัฒนาสูตรตำรับของเมลลาโทนิแบบรับประทาน ในรูปแบบที่ละลายทันที และให้อัตราการดูดซึมที่เร็ว

เมลลาโทนิในกระแสโลหิตจะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว โดยกระบวนการเมแทบอลิซึม (6-hydroxylation) ได้เมแทบอลิท์ที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา 6-hydroxymelatonin ที่จะถูกเชื่อมต่อ (conjugation) กับ sulfate หรือ glucuronide ซึ่งจะถูกกำจัดออกทางปัสสาวะ ในขณะที่บางส่วนของ เมลลาโทนิจะถูกเปลี่ยนแปลงไปโดยกระบวนการ O-demethylation ได้ O-demethylmelatonin เมแทบอลิซึมของเมลลาโทนิในร่างกายของคนแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 เมแทบอลิซึมของเมลาโทนิน 1 = เมลาโทนิน (MW = 232), 2 = 6-hydroxymelatonin, 3 = 6-hydroxymelatonin sulphate (MW = 328), 4 = 6-hydroxymelatonin glucuronide, 5 = N-acetyl-N-formyl-5-methoxykynurenamine, 6 = N-acetyl-5-methoxykynurenamine, 7 = N-acetylserotonin, 8 = cyclic 2-hydroxymelatonin (Arendt, 1995)

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเมลาโทนิน

เมลาโทนินสามารถ neutralize hydroxyl radical ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง ได้ดีกว่า reduced glutathione ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ร่างกายสังเคราะห์ขึ้น และได้ดีกว่า mannitol ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบได้ในพืช (Tan et al., 1993; Bromme et al, 2000) นอกจากนี้ยังสามารถกำจัด peroxyl radical ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการออกซิเดชันของ polyunsaturated acids ได้มีประสิทธิภาพดีกว่าวิตามินอี และยิ่งดีกว่า trolox ซึ่งเป็น อนุพันธ์ของวิตามินอีที่ละลายได้ในน้ำ ถึง 2 เท่า (Pieri C et al., 1994)

ในกรณีของออกซิเจนเดี่ยว (singlet oxygen) ซึ่งแม้ว่าจะไม่ใช่อนุมูลอิสระเนื่องจากไม่มีอิเล็กตรอนที่ไม่ครบคู่ (unpaired electrons) แต่จัดเป็น reactive oxygen species ที่มีพิษต่อเซลล์ พบว่าเมลาโทนินสามารถยับยั้งการทำลายของเซลล์จากการกระตุ้นของออกซิเจนเดี่ยวได้ (Sewerynek et al., 1996) รวมถึงลดการทำลายของหน่วยระบบประสาทในสมอง (cerebellar neurons) ของหนูหลังจากที่มีการกระตุ้นให้เกิดออกซิเจนเดี่ยว (Cagnoli et al, 1995) เมลาโทนินยังสามารถกำจัด nitric oxide ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่สร้างโดย inducible nitric oxide synthase (iNOS) โดยปริมาณ nitric oxide ที่มากเกินไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีพิษต่อเซลล์ได้ (Noda et al, 1999; Blanchard et al, 2000) ในขณะเดียวกัน เนื่องจากความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ nitric oxide synthase เป็นตัวกำหนดปริมาณของ nitric oxide ที่สร้างขึ้น ดังนั้น nitric oxide synthase จึงจัดเป็น pro-oxidative enzyme และการลดการทำงานดังกล่าวจะถือว่ามีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเมลาโทนินยับยั้งการทำงานของ nitric oxide synthase ด้วย (Bettahi et al, 1996)

นอกจากเมลาโทนินจะมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระแล้ว ยังสามารถกระตุ้นเอนไซม์ที่สร้างหรือเปลี่ยนแปลง reactive oxygen intermediates ได้ ดังนั้นจึงเพิ่มความสามารถในการป้องกันอนุมูลอิสระได้ ซึ่ง superoxide dismutase จัดเป็น antioxidative enzyme ที่สำคัญ เนื่องจากสามารถเปลี่ยน superoxide anion radical ไปเป็น hydrogen peroxide ได้ โดยเมลาโทนินสามารถเพิ่มปริมาณ manganese และ copper superoxide dismutase ในเซลล์ได้ (Kotler et al, 1998) นอกจากนี้ เมลาโทนินยังสามารถกระตุ้น glutathione ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutathione peroxidase ซึ่งเปลี่ยนแปลง hydrogen peroxide ให้เป็นน้ำ (Barlow-Walden et al, 1995; Pablos MI, et al, 1998) ซึ่งทั้งหมดนี้ช่วยเสริมฤทธิ์การป้องกันอนุมูลอิสระของเมลาโทนิน

การศึกษาทั้งหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง ยังแสดงให้เห็นว่าเมลานินสามารถลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ โดยพบว่ามีประสิทธิภาพในการลด lipid peroxidation ได้ดีกว่าวิตามินอี และวิตามินซี (Montilla et al, 2001; Guttekin et al, 2001) นอกจากนี้ พบว่าเมื่อให้เมลานินร่วมกับวิตามินอี วิตามินซี หรือ desferrioxamine ซึ่งเป็น metal chelator ทำให้มีฤทธิ์ในการป้องกัน oxidative damage มากขึ้น (Gitto et al, 2001)

ฤทธิ์ของเมลานินในการลดอาการไม่พึงประสงค์จากเคมีบำบัด

การเกิดอาการข้างเคียงหรือพิษของเคมีบำบัด ส่วนหนึ่งเชื่อว่าเกิดจากการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ (free radical) และการเพิ่ม oxidative stress ดังนั้นสารที่มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ และต้านออกซิเดชัน จึงน่าจะมีส่วนสำคัญในการลดอาการข้างเคียงจากเคมีบำบัดที่เกิดขึ้นในเซลล์ปกติได้ ซึ่งในระยะ 10 ปีที่ผ่านมา มีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระหลายตัว เช่น วิตามินซี วิตามินอี เมลาโทนิน และ กรดไลโปอิก (lipoic acid) เป็นต้น (Rock, DeMichele, 2003) โดยการศึกษาส่วนใหญ่ให้ผลที่ดีในสัตว์ทดลอง แต่ข้อมูลการศึกษาในคนไม่ชัดเจน หรือไม่พบผลลดอาการข้างเคียงดังกล่าว ซึ่งมีเฉพาะ เมลาโทนินที่มีรายงานทั้งในหลอดทดลอง สัตว์ทดลอง และในคนว่าสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และลดการถูกทำลายของเซลล์ได้ (Reiter et al., 1996, 1997; 2000; 2001)

ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าเมลานินสามารถลดพิษต่อหัวใจ (Morishima et al., 1998; Lissoni et al., 1999; Wahab et al., 2000; Xu et al., 2001; Xu and Ashraf, 2002; Dziegiel et al., 2002; Liu et al., 2002; Kocak et al., 2003; Sahna et al., 2003; Balli et al., 2004; Ahmed et al., 2005; Kim et al., 2005) พิษต่อไตจากยา (Montilla et al., 1997; Sener et al., 2000; 2004; Hara et al., 2001; Dziegiel et al., 2002; Aydin et al., 2003; Jahovic et al., 2003) และพิษต่อปอด (Genovese et al., 2005) และเนื่องจากเมลานิน ออกฤทธิ์ต้านกระบวนการเกิดมะเร็ง ทำให้ลดอาการแทรกซ้อนของมะเร็ง ซึ่งสามารถช่วยในการรักษาแบบประคับประคอง (supportive care) ของผู้ป่วยมะเร็งได้ดีขึ้น ตัวอย่างเช่น อาการผอมแห้งจากโรคมะเร็ง (neoplastic cachexia) ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างจากภาวะโภชนาการไม่สมส่วน (malnutrition) จากสาเหตุอื่นๆ เนื่องจากมักจะเกิดจากการหลั่งของ tumor necrosis factor (TNF) ที่มากกว่าผิดปกติในผู้ป่วยมะเร็ง การศึกษาในสัตว์ทดลองและการศึกษาทางคลินิกอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าเมลานิน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการทำงานของต่อมไร้ท่อในระบบประสาท (neuroendocrine) สามารถยับยั้งการหลั่ง TNF และลดภาวะผอมแห้งจากโรคมะเร็ง (Lissoni et al., 1994)

การศึกษาผลลดอาการข้างเคียงในคนยืนยันข้อมูลที่พบในสัตว์ทดลอง โดยพบว่า ผู้ป่วยมะเร็งที่ใช้เมลานินร่วมด้วยมีรายงาน ของน้ำหนักตัวที่ลดลง (weight loss) มากกว่า 10% ที่ระยะเวลา 3 เดือน น้อยกว่า และพบระดับ TNF ลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ (Lissoni et al, 1996) ในขณะที่รายงานการวิจัยทางคลินิกด้วยรูปแบบการสุ่ม (randomized controlled trial) ในผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ มากกว่า 500 คน เปรียบเทียบการให้เมลานินร่วมกับการรักษาด้วยเคมีบำบัดหรือรังสีรักษา กับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและ/หรือรังสีรักษาเดี่ยวๆ พบว่ากลุ่มที่ใช้เมลานินร่วมด้วยมีรายงานอาการข้างเคียงน้อยกว่าในเรื่อง การกดไขกระดูก (23%) โดยเฉพาะภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia) (15-22%) ภาวะผอมแห้ง (21%) ภาวะปากอักเสบ (20%) พิษต่อระบบประสาทรับความรู้สึก (11-17%) พิษต่อหัวใจ (7-8%) พิษต่อไต (3-6%) ผมร่วง (alopecia) (8%) คลื่นไส้ หรือ อาเจียน (8%) และท้องร่วง (diarrhea) (6-14%) (Lissoni et al., 1997; 1999; 2002) ซึ่งการลดอาการข้างเคียงดังกล่าวเป็นผลจากการยับยั้งอนุมูลอิสระ ร่วมกับกลไกการออกฤทธิ์ที่เฉพาะอื่นๆของเมลานิน เช่น การมีฤทธิ์สร้างเกล็ดเลือด (thrombopoietic property) ซึ่งมีส่วนในการลดอาการเกล็ดเลือดต่ำ ผลบำรุงเลี้ยงเซลล์ประสาท (neurotrophic activity) ที่ช่วยป้องกัน apoptosis ของเซลล์ประสาท ซึ่งมีผลในการลดพิษต่อระบบประสาทรับความรู้สึก และการลด TNF ซึ่งช่วยลดภาวะผอมแห้งได้

ฤทธิ์ของเมลาโทนินในการเพิ่มการตอบสนองของมะเร็ง

ปัจจุบันมีหลักฐานยืนยันฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง (oncotic) ของเมลาโทนิน โดยการศึกษาในหลอดทดลอง ใน MCF-7 cell line ที่ได้จากน้ำซึมผ่านเยื่อหุ้มปอด (pleural effusion) ของผู้หญิงที่เป็นมะเร็งเต้านมระยะระยะลุกลาม (metastasis) พบว่าเมลาโทนินมีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ เพิ่มจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ apoptosis และยับยั้งการกระจายของเซลล์มะเร็ง (metastatic cell) นอกจากนี้พบว่า ระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินที่ 1 nmol/L ร่วมกับเคมีบำบัดสูตร CMF (cyclophosphamide, methotrexate, fluorouracil) ในขนาดที่ต่ำกว่าปกติ สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ใน MCF-7 cell lines ได้มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้เมลาโทนินหรือเคมีบำบัดเดี่ยวๆ (Blask, 1993) ซึ่งฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง และ ทำลายเซลล์ที่เป็นมะเร็ง (cytotoxic effects) ของเมลาโทนินยังมีการศึกษาและยืนยันในมะเร็งชนิดอื่นๆ เช่น มะเร็งผิวหนัง (melanoma) มะเร็งรังไข่ (ovarian carcinoma) มะเร็งในระบบประสาท (human neuroblastoma) เนื้องอกที่ต่อมพิทูอิทารี (pituitary tumor) มะเร็งกล่องเสียง (larynx carcinoma) มะเร็งช่องปาก (oral carcinoma cells) และ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (bladder carcinoma) เป็นต้น (Vijayalaxmi et al., 2002)

ผลการศึกษาในคน มีรายงานล่าสุดใน meta-analysis ของการวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มและควบคุม จำนวน 10 การศึกษา ที่มีการใช้เมลาโทนินร่วมกับการรักษามาตรฐานอื่นๆ ในผู้ป่วยมะเร็ง โดยการศึกษาส่วนใหญ่ใช้ขนาดเมลาโทนินในช่วง 10 ถึง 40 มิลลิกรัม และให้แบบรับประทานวันละครั้งเวลาเย็น พบว่า เมลาโทนินลดความเสี่ยงของการเสียชีวิตที่เวลา 1 ปี (one-year survival) ได้ 34% (relative risk: 0.66, 95% confidence interval: 0.59 – 0.73) และไม่พบรายงานอาการข้างเคียงที่รุนแรงจากการใช้เมลาโทนิน (Mills et al, 2005)

อย่างไรก็ตาม การศึกษาทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ meta-analysis ดังกล่าวมาจากโรงพยาบาลในเครือข่ายเดียวกัน และยังไม่มีการศึกษาที่ทำการเปรียบเทียบกับยาหลอก และใช้การปกปิด จึงยังต้องมีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวในรูปแบบการศึกษาที่เหมาะสมมากยิ่งขึ้น กล่าวคือ ออกแบบให้มีการป้องกันความลำเอียงในการวิจัยทางคลินิก โดยการใช้การสุ่ม การปกปิด และตัวเปรียบเทียบทั้งกับยาหลอกและขนาดที่แตกต่างกันของเมลาโทนิน รวมทั้งจุดยุติที่ทางห้องปฏิบัติการที่มีลักษณะเป็นรูปธรรม (objective) และวัดได้ เช่น ระดับความเข้มข้นของเมลาโทนิน และเมแทบอลิไตในของเหลวชีวภาพ

ฤทธิ์ของเมลาโทนินในการเพิ่มคุณภาพชีวิต

ผลของเมลาโทนินในการลดอาการข้างเคียงจากเคมีบำบัดมีการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจาย ซึ่งการวิจัยทางคลินิกที่ใช้การสุ่มและควบคุม ในผู้ป่วยมะเร็งหลายการศึกษา เปรียบเทียบการรักษาด้วยเคมีบำบัดหรือรังสีรักษา กับการใช้เมลาโทนินร่วมด้วย พบรายงานอาการข้างเคียงน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ใช้เมลาโทนิน (Lissoni, et al., 1999) ซึ่งเมลาโทนินถูกนำไปใช้เป็นการรักษาแบบ ประคับประคอง ในผู้ป่วยมะเร็งระยะแพร่กระจายในโรงพยาบาลบางแห่งในทวีปยุโรป อย่างไรก็ตาม การศึกษาทั้งหมดที่มีรายงานในปัจจุบันเป็นการศึกษาที่ไม่มีการปกปิด และส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในกลุ่มที่ผู้ป่วยหลักเดียวกัน จึงยังควรมีการศึกษาในกลุ่มประชากรอื่นๆ ที่แตกต่างกันไป และในรูปแบบที่เหมาะสมยิ่งขึ้น โดยเฉพาะการใช้ การปกปิดสองทาง (double-blind) การควบคุม และเปรียบเทียบกับยาหลอก เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของข้อมูล

ผลลัพธ์ด้านคุณภาพชีวิตเป็นจุดยุติหลักที่สำคัญของผู้ป่วยมะเร็ง เนื่องจากเป็นจุดยุติที่สะท้อนถึงประสิทธิภาพการรักษาที่ได้ผลและความปลอดภัยในการใช้เคมีบำบัดในผู้ป่วย ซึ่งองค์การอาหารและยาหลายประเทศยุโรป และสหรัฐอเมริกา กำหนดให้ต้องมีการประเมินผลลัพธ์ด้านคุณภาพชีวิตในยาใหม่ที่จะขึ้นทะเบียนในการรักษา มะเร็ง อย่างไรก็ตาม ผลของเมลาโทนินในการเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งนั้น ปัจจุบันมีเพียงรายงานผลในทางอ้อม โดยกล่าวอ้างจากผลการศึกษาของเมลาโทนินในการเพิ่มการตอบสนองของมะเร็ง และลดอาการข้างเคียง

จากเคมีบำบัด ที่เชื่อว่าน่าจะมีผลเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาที่ประเมินผลลัพธ์ด้านคุณภาพชีวิตโดยตรงในผู้ป่วยกลุ่มนี้

การตรวจวิเคราะห์ระดับเมลาโทนินในกระแสเลือด

ระดับความเข้มข้นในพลาสมาของเมลาโทนินในร่างกายตลอด 24 ชั่วโมง โดยทั่วไปมีประมาณ 0-75 pg/mL หรือ 0-300 pmol/L (Vijayalaxmi et al., 2002) การศึกษาส่วนใหญ่วิเคราะห์ตัวอย่างพลาสมาของผู้ป่วยโดยใช้ชุดทดสอบ ¹²⁵I radioimmunoassay (Frazer et al. 1983; Ludemann et al., 2001; Dominguez-Rodriguez et al., 2005) เช่น ชุดทดสอบของ Buhlmann Melatonin Direct RIA 01-RK-MDI (Buhlmann, 2005) หรือ ชุดทดสอบอื่นๆ ที่คล้ายกัน ซึ่งชุดทดสอบดังกล่าวได้ถูกออกแบบให้วัดปริมาณเมลาโทนินโดยวิธี double-antibody immunoassay ตามหลักการของ Kennaway G280 antimeatonin antibody โดยใช้ซีรัมประมาณ 800 µL ต่อตัวอย่างและตัวควบคุม วิธี radioimmunological assay สามารถวัดระดับเมลาโทนินในช่วง 1-81 pg/mL โดยมี functional sensitivity หรือ ขนาดต่ำสุดที่สามารถวัดได้ประมาณ 1.3 pg/mL ขึ้นกับบริษัทผู้ผลิตและคุณสมบัติของชุดทดสอบแต่ละชนิด ชุดทดสอบเหล่านี้ส่วนใหญ่มีความแม่นยำภายในการวิเคราะห์ (intra-assay precision) ประมาณ 6.7% ในขณะที่มีความแม่นยำระหว่างการวิเคราะห์ (inter-assay precision) ประมาณ 10.4%

การศึกษาที่มีการวัดระดับของเมลาโทนินหลังจากให้เมลาโทนินในรูปแบบผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ส่วนใหญ่เป็นการใช้เมลาโทนินเพื่อช่วยให้นอนหลับ โดยใช้เมลาโทนินในขนาด 1 – 5 มิลลิกรัม พบระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินในเลือดอยู่ในช่วง 500 – 27,240 pg/mL ซึ่งมากกว่าขนาดปกติที่พบในร่างกาย 27 – 300 เท่า (ตารางที่ 1) ซึ่งแม้ว่าจะสามารถเจือจางซีรัมให้อยู่ในช่วงที่ชุดทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้ (นั่นคือ 1-81 pg/mL) แต่เนื่องจากชีวประสิทธิภาพของเมลาโทนินในอาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัยทางคลินิกแต่ละคนมีความแตกต่างกัน 99 – 63% (Fourtillan et al., 2000) ทำให้ต้องเจือจางความเข้มข้นในช่วง 2 – 10,000 เท่า (DeMuro et al., 2000) โดยใช้วิธีการทดสอบซ้ำๆ ในแต่ละความเข้มข้น จนได้ความเข้มข้นในช่วงที่ชุดทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้ ในขณะที่การศึกษานี้จะให้ผู้ป่วยรับประทานเมลาโทนินในขนาด 10 – 20 มิลลิกรัม ซึ่งสูงกว่าขนาดที่ใช้ช่วยให้นอนหลับ และการวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบแต่ละครั้งใช้ค่าใช้จ่ายประมาณ 400 บาท ดังนั้น วิธีวิเคราะห์โดยใช้ชุดทดสอบ radioimmunological assay จะทำให้ใช้ค่าใช้จ่ายค่อนข้างมาก และไม่เหมาะกับการศึกษานี้

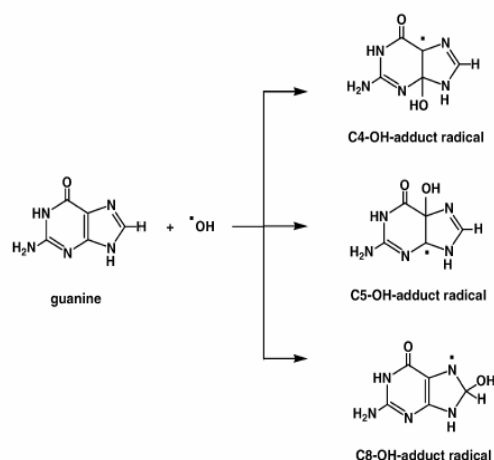
การวิเคราะห์ระดับเมลาโทนินโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีการใช้ (Harumi, 2000) ซึ่งใช้ได้กับตัวอย่างที่มีระดับของเมลาโทนินสูง การศึกษานี้จะต้องมีการตรวจสอบ (calibrate) วิธีการวิเคราะห์ และปรับแต่งวิธีการวิเคราะห์ให้ได้มาตรฐานก่อนนำมาใช้

การตรวจวัดภาวะเครียดออกซิเดชัน

Lipid peroxidation เป็นกระบวนการที่เกิดจากการทำลายโมเลกุลไขมัน โดยเฉพาะไขมันประเภท polyunsaturated fatty acids (PUFAs) โดยอนุมูลอิสระ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ lipid peroxidation ถูกใช้เป็นพารามิเตอร์เพื่อศึกษาการทำลายของอนุมูลอิสระ โดย 8-isoprostane (8-epi-PGF₂α) เป็น หนึ่งใน F₂-isoprostanes ซึ่งเป็นกลุ่มของอนุพันธ์ที่มีโครงสร้างคล้ายกับ prostaglandin (PGF₂) และเป็นตัวชี้วัดที่ใช้มีการศึกษา มาก เพื่อใช้ระบุ ภาวะ lipid peroxidation ทั้งหมดที่เกิดขึ้นในร่างกาย (Loeckie L, et al., 1999)

นอกจากนี้ 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) จัดเป็นตัวชี้วัดสำคัญที่แสดงถึงการทำลายโครงสร้าง DNA จากอนุมูลอิสระที่เกิดโดยปฏิกิริยาที่อาศัยเอนไซม์เฉพาะ (specific enzymatic cleavage) หลังจากที่ถูกอนุมูลอิสระเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยา 8-hydroxylation ณ ตำแหน่งเบสกวีนีน (guanine) ทั้งใน DNA ของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial DNA) และใน DNA ของนิวเคลียส (nuclear DNA) ในรูปของ DNA adduct (Cooke, M.S., et al.,

2000) เนื่องจากเบสกวีนีนมีความไวสูงต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและพบว่าตำแหน่งที่ 8 บนเบสกวีนีนเป็นตำแหน่งที่การเติม hydroxyl group (hydroxylation reaction) เกิดขึ้นได้ง่ายที่สุด (รูปที่ 4) ดังนั้นการเกิดขึ้นของ 8-OHdG จึงเป็น DNA adduct ที่พบได้มากที่สุด



รูปที่ 3 : แสดงการเกิดขึ้นของอนุพันธ์ของเบสกวีนีนจากปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxylation reaction) โดยอนุมูลอิสระ

การตรวจวัดระดับ 8-OHdG เป็นที่ยอมรับว่าสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดที่มีความไวที่แสดงถึงการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกายจากสาเหตุต่างๆ ที่มีการทำลายโครงสร้าง DNA โดยอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 1 ระดับเมลาโทนินในเลือด หลังจากให้เมลาโทนินในขนาดต่างๆ

Study	ขนาดและรูปแบบของ เมลาโทนิน	ระดับความเข้มข้นใน พลาสมาสูงสุด (pg/mL)	หมายเหตุ เวลา ณ ระดับความเข้มข้น ในพลาสมาสูงสุด
Epstein	0.1 to 0.3 mg daytime	Normal nighttime levels	
DeMuro et al.	2mg oral	2175 ± 1645	
	4mg oral	5766 ± 2731	
	2 mg IV	96,850 ± 55,024	
Meeking et al.	5mg oral	1638 ± 61.9	At 30 minutes
Kovacs et al.	3 mg oral	4,701 ± 6415 (range 940-27,240)	At 60 minutes, 28 fold variation among subjects
Vakkuri et al.	100 mg oral	108,750 (435 nmol/L)	At 60 minutes
Waldhauser et al.	80 mg oral in gelatine capsule	6,300-54,000 (350-10,000 normal nighttime levels)	60-150 minutes
Aldhous et al.	2 mg oral in gelatine or corn oil	3-4 times	30-60 minutes
Wei-Li et al.	0.5 mg oral	480-9200 (2-39 nmol/L)	

ความปลอดภัยของเมลาโทนิน

เมลาโทนินถูกนำมาศึกษาวิจัยทางคลินิกอย่างจริงจังมากกว่า 40 ปี และมีประวัติความปลอดภัยในการใช้ที่ดีในทางคลินิก และมีการทดลองพิษวิทยาทั้งในระดับเฉียบพลัน (acute) รองเฉียบพลัน (subacute) รองเรื้อรัง (subchronic toxicity) เรื้อรัง (chronic) และไม่ก่อให้เกิดมะเร็ง (noncarcinogenicity) ไม่ปรากฏว่าเมลาโทนินมีฤทธิ์เปลี่ยนแปลงพันธุกรรม (mutagenicity) ในทางตรงข้ามเมลาโทนินออกฤทธิ์ต้านการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม (antimutagenicity) และต้านการขยายตัวของเซลล์ (antiproliferation) (CAS No. 73-31-4, Technical Resources International, Inc. for NCI, 1996; National Toxicity Program, 2001) การศึกษาในสัตว์ทดลองไม่สามารถกำหนดขนาดยาที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย (LD50) ในร้อยละ 50 ได้ และการศึกษาขนาดยาสูงถึง 800 mg/kg ในหนู กระต่าย แมว และสุนัข ก็ไม่พบความเป็นพิษ (Vijayalaxmi, 2002) ส่วนการศึกษาในคนไม่พบอาการข้างเคียงในการใช้เมลาโทนินขนาด 1-300 มิลลิกรัม และไม่พบอาการข้างเคียงที่ร้ายแรงของการให้เมลาโทนินขนาด 10 มิลลิกรัม เป็นเวลา 28 วัน (Sebra et al., 2000) รวมถึงในการใช้เมลาโทนินสูงถึง 1 กรัมเป็นเวลา 30 วัน (Nordlund, 1977)

อาการข้างเคียงของเมลาโทนินที่มีรายงานส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์สงบระบบ โดยเฉพาะการใช้อยู่ในเวลากลางวัน ซึ่งทำให้เกิดอาการสับสน อ่อนเพลีย และง่วงนอน (Rogers et al., 1998) อย่างไรก็ตาม การศึกษาส่วนใหญ่ในผู้ป่วยมะเร็งมักให้เมลาโทนินในเวลากลางคืน เพื่อลดอาการข้างเคียงดังกล่าว ส่วนอาการข้างเคียงทั่วไปอื่นๆ ที่มีรายงานในการใช้เมลาโทนิน ได้แก่ ปวดศีรษะ นอนไม่หลับ ผื่น ระบายเคืองกระเพาะอาหาร ผื่นร้าย (Malhotra S, et al., 2004) จากรายงาน meta analysis ทั้งหมดที่ศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งไม่พบรายงานอาการข้างเคียงของเมลาโทนิน แม้ในการศึกษาระยะยาวที่ใช้เมลาโทนินขนาด 20 มิลลิกรัม เป็นเวลาถึง 5 ปี (Lissoni et al, 2003) ในขณะที่เกี่ยวกับการใช้เมลาโทนินในขนาดสูงเพื่อคุมกำเนิดในผู้หญิง 1,400 คน ด้วยเมลาโทนินขนาด 75 มิลลิกรัมวันละครั้งเป็นเวลา 4 ปีก็ไม่พบรายงานอาการข้างเคียง (Silman, 1993)

บทที่ 2 ระเบียบวิธีวิจัย

รูปแบบการวิจัย: Randomized, double-blind, placebo, controlled study

สถานที่ทำการวิจัย: โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และโรงพยาบาลขอนแก่น

จุดยุติของการศึกษา (Study endpoints)

จุดยุติหลัก (Primary endpoints): เพื่อประเมินอาการข้างเคียงของเคมีบำบัดและคุณภาพชีวิตในเรื่อง

1. การกดไขกระดูก (bone marrow suppression) ซึ่งในที่นี้รวมถึง ภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia: เกล็ดเลือดน้อยกว่า $100,000 \text{ cells/mm}^3$) ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (neutropenia: เม็ดเลือดขาวน้อยกว่า $3,000 \text{ cells/mm}^3$) และ ภาวะเม็ดเลือดแดงต่ำ (anemia: hemoglobin น้อยกว่า 10 g/dL) โดยจะประเมินทุกครั้งก่อนผู้ป่วยรับเคมีบำบัด
2. ภาวะผอมแห้ง (cachexia) หมายถึง น้ำหนักตัวลดลงมากกว่า 10% ของน้ำหนักตัวก่อนเริ่มรับการรักษา ภายในช่วงเวลา 3 เดือนของการรับเคมีบำบัด โดยจะประเมินทุกครั้งก่อนผู้ป่วยรับเคมีบำบัด
3. พิษต่อระบบประสาทรับรู้ความรู้สึก (neurotoxicity) หมายถึง สูญเสียระบบรับรู้ความรู้สึกหรือมีอาการชา โดยมีอาการชาในระดับปานกลาง นั่นคือ มากกว่าหรือเท่ากับเกรด 2 ตามเกณฑ์ของ CTCAE version 3 (อาการชาบริเวณการใช้แขน มือ หรือนิ้ว แต่ยังไม่รบกวนกิจวัตรประจำวัน)
4. พิษต่อไต (nephrotoxicity) หมายถึง ระดับ serum creatinine เพิ่มขึ้นมากกว่า 0.5 mg/dL ของระดับก่อนเริ่มรับการรักษา โดยจะประเมินทุกครั้งก่อนผู้ป่วยรับเคมีบำบัด
5. พิษต่อหัวใจ (cardiotoxicity) หมายถึง มีอาการเมื่อทำงานหนัก นั่นคือ New York Heart Association Functional (NYHA) Classification ระดับ 2
6. ค่าคะแนนคุณภาพชีวิตรวมของผู้ป่วยมะเร็ง (FACT-G) เพิ่มขึ้นมากกว่า 10 คะแนน โดยจะประเมิน 4 ครั้ง คือ ก่อนรับการรักษาด้วยเคมีบำบัด และระหว่างรับการรักษาด้วยเคมีบำบัด ที่ cycle 2, 3 และหลังรับการรักษา 6 เดือน

จุดยุติรอง (Secondary endpoints): เพื่อประเมินการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา

และเภสัชจลนศาสตร์ ในเรื่อง

1. เพิ่มการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัด เมื่อผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ cycle ที่ 3 และ 6 โดยจะประเมินการตอบสนองเป็น complete response (CR), partial response (PR), stable disease (SD), progressive disease (PD) ตามเกณฑ์ของ Recist criteria
2. ตรวจวัดระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินในพลาสมา เมื่อผู้ป่วยเข้ารับการรักษากับเคมีบำบัด ณ โรงพยาบาล โดยเก็บตัวอย่างเลือด cycle ละ 1 ครั้ง เป็นจำนวน 4 cycle ซึ่งตัวอย่างเลือด 4 ครั้ง นี้ จะเก็บตัวอย่างกลางคืน 2 ครั้ง (ช่วงเวลา 20.30-21.30) และเช้า 2 ครั้ง (ช่วงเวลา 6.30 – 8.30)
3. ตรวจวัดระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินในน้ำลาย เมื่อผู้ป่วยเข้ารับการรักษากับเคมีบำบัด ณ โรงพยาบาล และหรือระหว่างที่รับการรักษาหรือติดตามที่หน่วยผู้ป่วยนอก โดยจะเก็บตัวอย่างน้ำลาย cycle ละ 2 ครั้ง (หรือเฉลี่ยเดือนละ 2 ครั้ง กรณีผู้ป่วยที่มารักษาที่หน่วยผู้ป่วยนอก) โดยเก็บตัวอย่างน้ำลายในเวลากลางคืน ที่เวลา 30 นาที และ 60 นาทีหลังรับประทานเมลาโทนิน

4. ตรวจวัดปริมาณ MDA ในเลือด และ 8-isoprostane (8-epi PGF_{2α}) ในปัสสาวะ โดยเก็บตัวอย่าง เดือนละ 1 ครั้ง

การคำนวณจำนวนตัวอย่าง (sample size calculation)

เนื่องจากงานวิจัยนี้มีสมมุติฐาน และจุดยุติที่เกี่ยวข้องหลายสมมุติฐานและหลายตัวแปร การคำนวณจำนวนตัวอย่างที่ได้เลือกทั้งหมด 120 คน โดยมี 40 คน ต่อกลุ่มการรักษาสามารถให้กำลังการศึกษาในการพิสูจน์แต่ละสมมุติฐานได้ไม่ต่ำกว่า 80% หลักการคำนวณขนาดตัวอย่างขึ้นอยู่กับแบบทดสอบทางสถิติและชนิดของตัวแปรจุดยุติ ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ ตัวแปรทวิภาค (binary variables) (ที่ได้รวมเอาตัวแปรจัดประเภท (categorical variables) ที่ผ่านการสุ่มเพื่อลดความซับซ้อนในการคำนวณขนาดตัวอย่างลง เนื่องจากไม่สามารถหาข้อมูลอ้างอิงถึงอัตราการเกิด (incidence rates) สำหรับแต่ละประเภทของตัวแปรจัดประเภทได้ เช่น คะแนนความรุนแรงของอาการข้างเคียงตาม Common Toxicity Criteria เป็นต้น) และตัวแปรต่อเนื่อง (continuous variables) โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

หลักการคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับจุดยุติของตัวแปรทวิภาคในการพิสูจน์สมมุติฐานที่ 1 และ 3:

สำหรับตัวแปรทวิภาคสูตรในการคำนวณขนาดตัวอย่างแสดงในสมการที่ 1 (Machin et al., 1997)

$$m = \frac{\left\{ z_{1-\alpha/2} \sqrt{(1+\phi)\pi(1-\pi)} + z_{1-\beta} \sqrt{\phi\pi_1(1-\pi_1) + \pi_2(1-\pi_2)} \right\}^2}{\phi\delta^2} \quad \text{สมการที่ 1}$$

เมื่อ

m = จำนวนตัวอย่างในกลุ่มควบคุมที่ได้รับเพียงเคมีบำบัด (ได้รับยาหลอก)

ϕ = สัดส่วนของจำนวนตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเมลาโทนิน $\phi = 2$ (เมื่อ $n = \phi m$ หรือ $n = 2m$)

π_1 = จุดยุติของตัวแปรทวิภาคในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว

π_2 = จุดยุติของตัวแปรทวิภาคในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและเมลาโทนิน (ขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม)

$$\bar{\pi} = \frac{\pi_1 + \phi\pi_2}{1 + \phi}$$

$$\delta = \pi_2 - \pi_1$$

α = ระดับนัยสำคัญ กำหนดไว้ที่ 0.05

β = ความน่าจะเป็นของการยอมรับสมมุติฐานทางเลือก กำหนดไว้ที่ 0.20

สำหรับจุดยุติด้านอาการไม่พึงประสงค์ของเคมีบำบัด

การคำนวณขนาดตัวอย่างจะคำนวณโดยใช้อาการข้างเคียงหลักเพียง 2 ชนิด คือ การกดไขกระดูก และ น้ำหนักลดมากกว่า 10% ของน้ำหนักตัวก่อนรับเคมีบำบัด เนื่องจากเป็นจุดยุติที่มีลักษณะเป็นรูปธรรม (objective) และวัดได้ และมีข้อมูลสนับสนุนจากการวิจัยที่ผ่านมาว่าเห็นการเปลี่ยนแปลงหลังใช้เมลาโทนิน

Bone Marrow Suppression

π_1 = อัตราการเกิด Bone Marrow Suppression ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว (จาก
ประสบการณ์การดูแลผู้ป่วยของนักวิจัย) เท่ากับ 0.8

π_2 = อัตราการเกิด Bone Marrow Suppression ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและเมลาโทนิน
(ขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม) ที่นักวิจัยต้องการพิสูจน์เท่ากับ 0.5

$$\bar{\pi} = \frac{\pi_1 + \phi\pi_2}{1 + \phi} = \frac{0.8 + (2)(0.5)}{1 + 2} = 0.6$$

$$\delta = \pi_2 - \pi_1 = -0.3$$

$$\alpha = 0.05 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\alpha/2} = 1.96, \beta = 0.2 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\beta} = 0.84$$

เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ลงในสมการที่ 1 จะต้องใช้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละไม่น้อยกว่า 30 คน การเลือกใช้
จำนวนตัวอย่าง 40 คนต่อกลุ่มการรักษาจึงให้กำลังการศึกษาได้มากกว่า 80%

น้ำหนักตัวลดมากกว่า 10% ของน้ำหนักตัวก่อนรับเคมีบำบัด

π_1 = อัตราการเกิดน้ำหนักตัวลดมากกว่า 10% ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว (จาก
ประสบการณ์การดูแลผู้ป่วยของนักวิจัย) เท่ากับ 1.0

π_2 = อัตราการเกิดน้ำหนักตัวลดมากกว่า 10% ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและเมลาโทนิน (ขนาด
10 และ 20 มิลลิกรัม) ที่นักวิจัยต้องการพิสูจน์เท่ากับ 0.8

$$\bar{\pi} = \frac{\pi_1 + \phi\pi_2}{1 + \phi} = \frac{1.0 + (2)(0.8)}{1 + 2} = 0.877$$

$$\delta = \pi_2 - \pi_1 = -0.2$$

$$\alpha = 0.05 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\alpha/2} = 1.96, \beta = 0.2 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\beta} = 0.84$$

เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ลงในสมการที่ 1 จะต้องใช้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละไม่น้อยกว่า 28 คน การเลือกใช้
จำนวนตัวอย่าง 40 คนต่อกลุ่มการรักษาจึงให้กำลังการศึกษาได้มากกว่า 80%

สำหรับจุดยุติ: การตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา

π_1 = อัตราการตอบสนองของมะเร็ง (complete and partial response) เท่ากับ 0.15 ในกลุ่มที่ได้รับการรักษา
ด้วยเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว (Lissoni, 1999)

π_2 = อัตราการตอบสนองของมะเร็ง (complete and partial response) ที่ต้องการพิสูจน์ในการวิจัยนี้เท่ากับ
0.4 ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดและเมลาโทนิน (ขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม) (Lissoni,
1999)

$$\bar{\pi} = \frac{\pi_1 + \phi\pi_2}{1 + \phi} = \frac{0.15 + (2)(0.4)}{1 + 2} = 0.317$$

$$\delta = \pi_2 - \pi_1 = 0.25$$

$$\alpha = 0.05 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\alpha/2} = 1.96, \beta = 0.2 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\beta} = 0.84$$

เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ลงในสมการที่ 1 จะต้องใช้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละไม่น้อยกว่า 38 คน การเลือกใช้
จำนวนตัวอย่าง 40 คนต่อกลุ่มการรักษาจึงให้กำลังการศึกษาที่ต้องการได้

สำหรับจุดยุติ: อัตราการรอดชีวิตในระยะเวลา 1 ปี

π_1 = อัตราการรอดชีวิตในระยะเวลา 1 ปี เท่ากับ 0.2 ในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว (Lissoni et al., 2003)

π_2 = อัตราการรอดชีวิตในระยะเวลา 1 ปี ที่ต้องการพิสูจน์ในการวิจัยนี้เท่ากับ 0.6 ในกลุ่มที่ได้รับการรักษา

ด้วยเคมีบำบัดและเมลาโทนิ (ขนาด 10 และ 20 mg) (Lissoni et al., 2003) $\pi = \frac{\pi_1 + \phi\pi_2}{1 + \phi}$

$$= \frac{0.2 + (2)(0.6)}{1 + 2} = 0.467$$

$$\delta = \pi_2 - \pi_1 = 0.4$$

$$\alpha = 0.05 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\alpha/2} = 1.96, \beta = 0.2 \text{ ได้ค่า } Z_{1-\beta} = 0.84$$

เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ลงในสมการที่ 1 จะต้องใช้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละไม่น้อยกว่า 17 คน การเลือกใช้จำนวนตัวอย่าง 40 คนต่อกลุ่มการรักษาจึงให้กำลังการศึกษาได้มากกว่า 80%

หลักการคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับจุดยุติของตัวแปรต่อเนื่องในการพิสูจน์สมมุติฐานที่ 2

สำหรับตัวแปรต่อเนื่อง ที่ต้องการเปรียบเทียบผลกระทัระหว่างการรักษาด้วยยาหลอก และเมลาโทนิสองขนาด (10 และ 20 มิลลิกรัม) สูตรในการคำนวณขนาดตัวอย่างแสดงในสมการที่ 2 (Montgomery, 2001)

$$\phi^2 = \frac{nD^2}{2a\sigma^2} \quad \text{สมการที่ 2}$$

เมื่อ

Φ = พารามิเตอร์ทางสถิติในกราฟดำเนินลักษณะเฉพาะ (operating characteristic curve) แสดงในรูปที่ 3

D = ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของจุดยุติตามสมมุติฐาน ที่เมื่อความแตกต่างมีค่ามากกว่า

D สมมุติฐานว่างจะถูกปฏิเสธ (ดูสมการที่ 3 และ 4 หน้า 37 ประกอบ)

a = จำนวนกลุ่มรักษาเท่ากับ 3

σ = เป็นส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในจุดยุติตามสมมุติฐาน (กรณีไม่ทราบค่าที่แท้จริงจะใช้ค่าประมาณแทน)

โดยกำหนดให้ความน่าจะเป็นในการปฏิเสธสมมุติฐานว่าง หรือ กำลังการศึกษา (power of study) ไม่น้อยกว่า 0.80 (1- β) ที่ระดับความเชื่อมั่น (α) เท่ากับ 0.05

สำหรับจุดยุติ: คะแนนคุณภาพชีวิต

D = กำหนดให้ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของคะแนนคุณภาพชีวิตที่ต้องการพิสูจน์อย่างน้อย 10 คะแนน

^

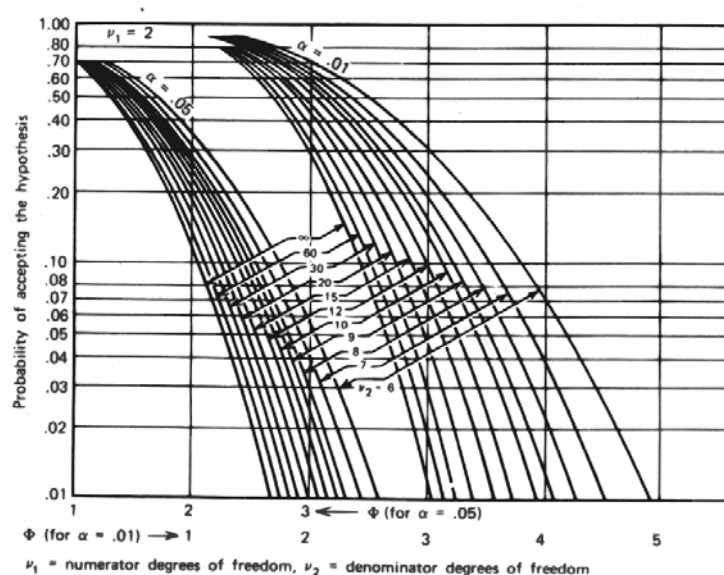
σ = ค่าประมาณของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจุดยุติคะแนนคุณภาพชีวิตประมาณจาก เท่ากับ 10

คะแนน (Ratanatharathorn, 2001)

ดังนั้น

$$\Phi^2 = \frac{n(10)^2}{2(3)(10^2)} = 0.167n$$

เมื่อเลือกขนาดตัวอย่างกลุ่มละ 40 คน ค่า $\square$ จะได้เท่ากับ 2.89 เมื่ออ่านจากกราฟดำเนินลักษณะเฉพาะในรูปที่ 4 ที่ $\alpha = 0.05$ จะได้ $1-\beta > 0.80$



รูปที่ 4 กราฟดำเนินลักษณะเฉพาะ (Operating Characteristic Curve) ของการวิเคราะห์ความแปรปรวน (จาก Montgomery DC. Design and Analysis of Experiments in Design and Analysis of Experiments, 4th, John Wiley & Sons, Inc., 2001, pages 647)

การสุ่มผู้ป่วยลงกลุ่มรักษา (randomization of treatment allocation)

ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การศึกษาจะถูกสุ่มให้เข้าสู่กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ศึกษา (เมลาโทนิ 10 หรือ 20 มิลลิกรัม) โดยใช้วิธี mixed-box randomization และ stratify ตามชนิดของมะเร็ง ซึ่งรหัส (code) ของการสุ่มตัวอย่างจะสร้างขึ้นด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์โดยนักสถิติประจำโครงการวิจัยล่วงหน้า ใส่ในซองปิดผนึก และจะมีเพียงเภสัชกรที่ทำหน้าที่เตรียม/จ่ายเมลาโทนิ หรือ ยาหลอก ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการประเมินผลลัพธ์ด้านอาการข้างเคียง คุณภาพชีวิต หรือการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา ทราบว่าผู้ป่วยแต่ละคนจะได้รับการรักษาอะไร (จะไม่มีกรณีใดที่รหัสถูกเปิด)

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria)

1. เพศชายหรือหญิง
2. อายุระหว่าง 18 – 70 ปี
3. ได้รับวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งครั้งแรก โดยมีผลการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา (histological biopsy) ยืนยันว่าเป็นมะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจาย มะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer ระยะที่มากกว่าหรือเท่ากับ 3B มะเร็ง head and neck ที่อยู่ในระยะแพร่กระจาย หรือ มะเร็ง soft tissue sarcoma ระยะแพร่กระจาย

4. ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดมาก่อน
5. ไม่เคยได้รับ biological therapy เช่น Interferon, interleukin
6. มีสมรรถภาพทางร่างกายค่อนข้างดี ประเมินจาก ECOG score โดยต้องมีค่า ECOG score น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 นั่นคือ ในเวลากลางวัน ใช้เวลานอนอยู่บนเตียงน้อยกว่า 50% สามารถเคลื่อนไหวได้ และช่วยเหลือตนเองได้ แต่ไม่สามารถทำงานใดได้
7. ยินดีเข้าร่วมการศึกษา และไม่มีปัญหาในการให้ตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ และน้ำลาย และลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัยทางคลินิก
8. เป็นผู้ป่วยที่มีการทำงานของระบบเลือด ไต ตับ หัวใจ ปกติ นั่นคือ
 - มีเกล็ดเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ $100,000 \text{ cells/mm}^3$ เม็ดเลือดขาวมากกว่าหรือเท่ากับ $3,000 \text{ cells/mm}^3$ และ hemoglobin มากกว่าหรือเท่ากับ 10 g/dL
 - ระดับ serum creatinine น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1.5 mg/dL
 - ระดับ bilirubin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.0 mg/dL และ AST น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.5 เท่าของค่าปกติ หรือน้อยกว่า 4 เท่าของค่าปกติ ในกรณีที่มี liver metastasis
 - New York Heart Association Functional (NYHA) Classification น้อยกว่าหรือเท่ากับระดับ 2

เกณฑ์การแยกผู้ป่วยออกจากโครงการ (Exclusion criteria)

1. มีการสูญเสียระบบรับรู้ความรู้สึกส่วนปลาย โดยมีอาการชาในระดับมากกว่าหรือเท่ากับ 2 ตามเกณฑ์ของ CTCAE version 3 นั่นคือ อาการชาบริเวณการใช้แขน มือ หรือนิ้ว แต่ยังไม่รบกวนกิจวัตรประจำวัน
2. มีมะเร็งมากกว่า 1 ชนิด
3. มีการกระจายของมะเร็งไปยังสมอง
4. ภาวะโรคแทรกซ้อนที่ยังควบคุมไม่ได้ ในที่นี้ ได้แก่ uncontrolled diabetes mellitus (blood glucose > 200 mg/dL), uncontrolled hypertension, unstable angina, มีประวัติ congestive heart failure หรือมีประวัติ myocardial infarction ในช่วง 1 ปีที่ผ่านมา
5. มีภาวะติดเชื้อร่วมด้วย
6. ได้รับการผ่าตัดหรือรังสีรักษาภายในช่วงระยะเวลา 1 เดือนที่ผ่านมา

เมลาโทนินที่ใช้ในการศึกษา

เนื่องจากยังไม่มี การขึ้นทะเบียนเมลาโทนินในประเทศไทย เมลาโทนินที่ใช้ในการศึกษานี้จะต้องขอรับอนุมัติการนำเข้าวัตถุดิบเพื่อการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ก่อนจากนั้นจะมีการเตรียมเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ เพื่อใช้สำหรับการศึกษาวิจัยในคน ณ General Drug House ซึ่งเป็นโรงงานผลิตยาที่มี Good Manufacturing Practice (GMP) การวิจัยนี้จะใช้สูตรตำรับของเมลาโทนินในรูปแบบแคปซูล ขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมจะมีการทดสอบคุณภาพ สารปนเปื้อน ปริมาณและความคงตัวก่อนนำมาใช้ในการศึกษาทุกหน่วยการผลิต ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตแล้วจะเก็บไว้ในตู้เย็นช่องธรรมดา

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัยในคน

ก่อนเริ่มการศึกษา

โครงการวิจัยต้องได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการศึกษาวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ก่อนเริ่มการศึกษา จากนั้นแพทย์นักวิจัยร่วมจะเป็นผู้คัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการตามเกณฑ์ที่กำหนด แพทย์นักวิจัยร่วมอธิบายผู้ป่วยเกี่ยวกับรายละเอียดของโครงการวิจัย รวมถึงสิ่งที่ผู้ป่วยต้องปฏิบัติ และผู้ป่วยลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (รูปที่ 5 และ 6)

ระหว่างการศึกษา

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา นอกจากจะได้รับแผนการรักษาเคมีบำบัด และการติดตามการรักษาตามมาตรฐานของโรงพยาบาลศรีนครินทร์แล้ว ผู้ป่วยต้องรับประทานยาที่ศึกษาตามกำหนด โดยจะมีการประเมินผลผลลัพธ์ของการรักษาในด้านอาการข้างเคียงและคุณภาพชีวิต และเก็บตัวอย่างเลือด น้ำลาย และปัสสาวะตามกำหนดเวลาของการศึกษา (รูปที่ 5 และ 6) ตามแบบแผนการสุ่มตัวอย่างที่กำหนดไว้ล่วงหน้าโดย

กลุ่มศึกษา: ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดตามแบบแผนการรักษาตามชนิดของมะเร็งที่ผู้ป่วย ได้รับการวินิจฉัยร่วมกับเมลาโทอิน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามรายละเอียดดังต่อไปนี้

- **กลุ่มศึกษาที่ 1** รับประทานเมลาโทอินขนาด 10 มิลลิกรัม วันละ 1 ครั้ง ในเวลาก่อนนอน ในวันแรกที่

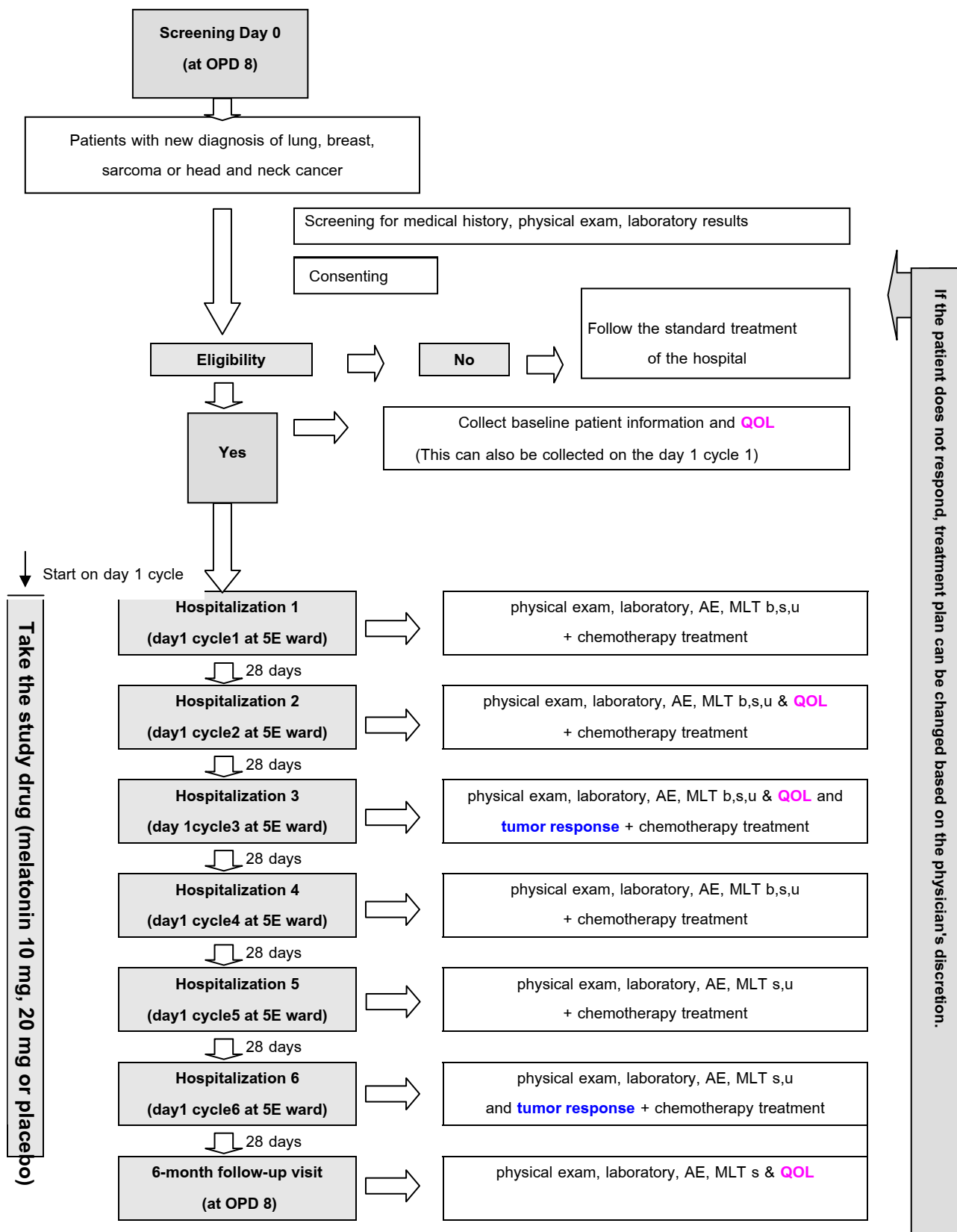
เข้ารับการรักษาดด้วยเคมีบำบัด และรับประทานเมลาโทอินทุกวันติดต่อกันจนกระทั่งจบ

คอร์สการรักษาด้วยเคมีบำบัด หรืออย่างน้อย 6 เดือน

- **กลุ่มศึกษาที่ 2** รับประทานเมลาโทอินขนาด 20 มิลลิกรัม วันละ 1 ครั้ง ในเวลาก่อนนอน ในวันแรกที่

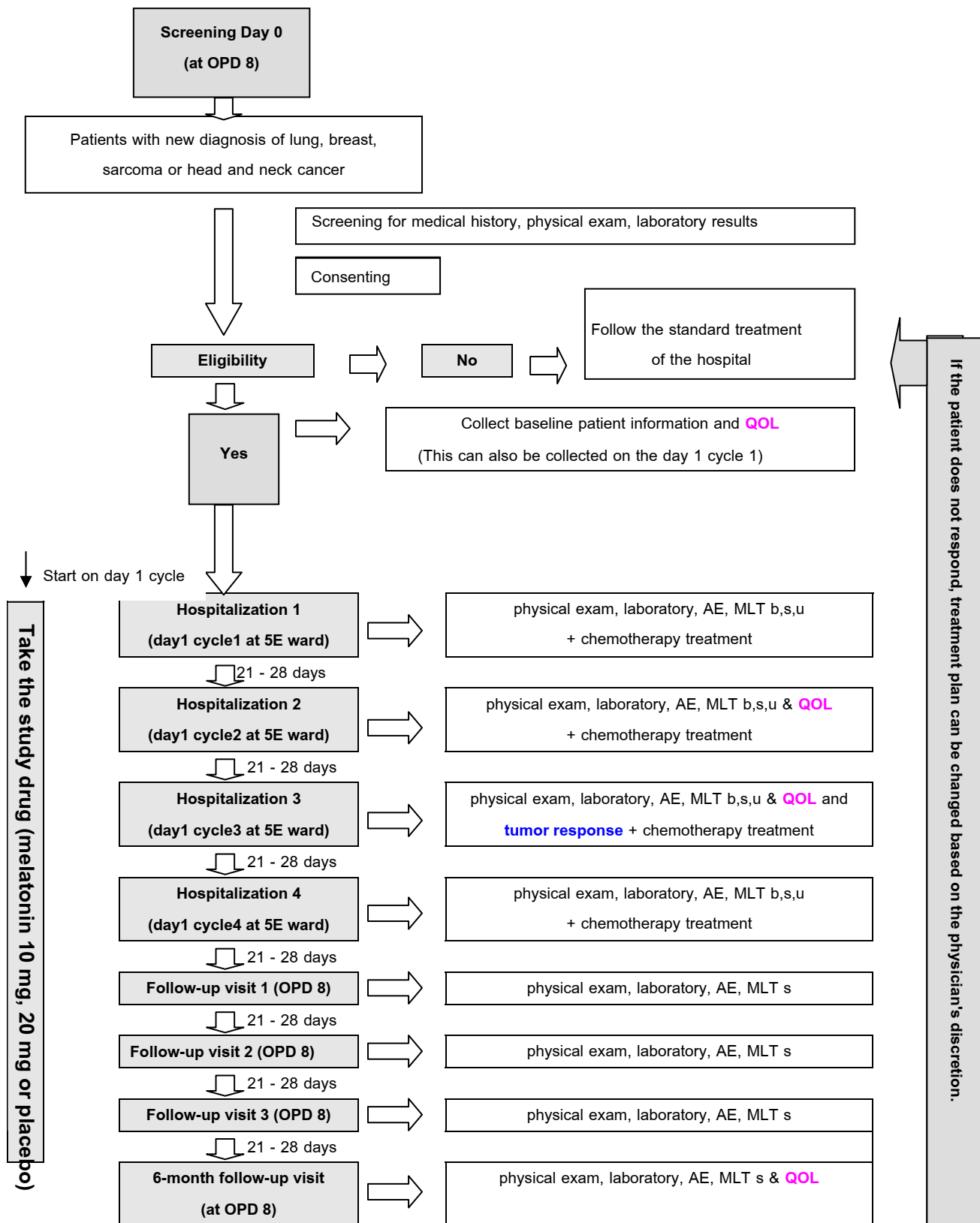
เข้ารับการรักษาดด้วยเคมีบำบัด และรับประทานเมลาโทอินทุกวันติดต่อกันจนกระทั่งจบคอร์สการรักษาด้วยเคมีบำบัด หรืออย่างน้อย 6 เดือน

กลุ่มควบคุม: ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดตามแบบแผนการรักษาตามชนิดของมะเร็งที่ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยร่วมกับยาหลอกวันละ 1 ครั้ง ในเวลากลางคืน ในวันแรกที่เข้ารับการรักษาดด้วยเคมีบำบัด และรับประทานทุกวันติดต่อกันจนกระทั่งจบคอร์สการรักษาด้วยเคมีบำบัด



รูปที่ 5 Diagram of the trial for sarcoma and head/neck cancer patients

AE = Adverse events, MLT = Melatonin, b = blood, s = saliva, u = urine, OPD = Out patient department, QOL = Quality of life



รูปที่ 6 Diagram of the trial for lung and breast cancer patients

AE = Adverse events, MLT = Melatonin, b = blood, s = saliva, u = urine, OPD = Out patient department, QOL = Quality of life
Patients with breast cancer will receive chemotherapy at OPD for all six cycles. Only MLT from saliva will be collected.

เมลาโทนินและยาหลอกที่ใช้ในการศึกษา

บริษัท General Drug House จะเตรียมยาหลอกและเมลาโทนินในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม ซึ่งจะใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตใน lot เดียวกันทั้งการศึกษา โดยจะมีการบันทึกวันที่ผลิต และวันหมดอายุไว้เป็นข้อมูลด้วย ผู้ป่วยจะรับประทาน เมลาโทนินหรือยาหลอกวันละครั้ง ครั้งละ 1 แคปซูล ในเวลาก่อนนอน โดยระบุให้เป็นเวลาหลัง 21.00 น. เป็นต้นไป และกำหนดให้ผู้ป่วยบันทึกเวลาที่นอนที่ตนเองรับประทานยาทุกวัน เพื่อใช้ในการคำนวณค่าทางเภสัชจลนศาสตร์

เฉพาะวันแรกของการรับเคมีบำบัดที่โรงพยาบาล ใน cycle ที่ 1 - 4 ซึ่งเป็นวันที่จะเก็บตัวอย่างเลือดนั้น จะปรับเวลาให้ยาเป็น 19.00 น. เพื่อจะได้ไม่รบกวนผู้ป่วยในการเก็บตัวอย่างเลือดหลังจากรับประทานยา (ประมาณ 1 ชั่วโมงหลังจากรับประทานยา)

แบบแผนการรักษาด้วยเคมีบำบัดตามชนิดของมะเร็ง

ผู้ป่วยมะเร็งที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดตามแบบแผนการรักษาของโรงพยาบาลศรีนครินทร์ โดยผู้ป่วยเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายด้านการรักษาด้วยเคมีบำบัดและการรักษาอื่นๆในระหว่างที่อยู่ในโรงพยาบาล ตามสิทธิการรักษาของผู้ป่วย รายละเอียดของการรักษามีดังต่อไปนี้

1. มะเร็งปอดชนิด non-small cell lung cancer ระยะ III, IV ได้รับยาสูตรมาตรฐาน ตามสิทธิการรักษา ดังต่อไปนี้
 - a. PE regimen ประกอบด้วย cisplatinum 75 mg/m^2 D1 และ etoposide 100 mg/m^2 D1-3 ให้ทุก 3 สัปดาห์ เป็นจำนวนทั้งสิ้น 4 cycles สำหรับผู้ป่วยที่ใช้สิทธิบัตรทอง
 - b. Paclitaxel and carboplatin regimen ประกอบด้วย paclitaxel 200 mg/m^2 D1 และ carboplatin AUC 6 D2 ให้ทุก 3 สัปดาห์ เป็นจำนวนทั้งสิ้น 4 cycles สำหรับผู้ป่วยที่ใช้สิทธิราชการ ประกันสังคม หรือจ่ายเงินเอง
2. มะเร็งเต้านมระยะแพร่กระจาย
ได้รับยาสูตร FAC ซึ่งประกอบด้วย 5-fluorouracil 500 mg/m^2 และ adriamycin 50 mg/m^2 และ cyclophosphamide 500 mg/m^2 D1 ให้ห่างกันทุก 3 สัปดาห์ เป็นจำนวนทั้งสิ้น 6 cycles
3. มะเร็งศีรษะและลำคอระยะแพร่กระจาย
สูตรมาตรฐานคือ cisplatinum 100 mg/m^2 D1 ร่วมกับ 5-fluorouracil 1000 mg/m^2 D1-5 ให้ห่างกันทุก 4 สัปดาห์ จำนวนทั้งสิ้น 6 cycles
4. มะเร็งเนื้อเยื่อเกี่ยวพันระยะแพร่กระจาย
ได้รับ adriamycin 50 mg/m^2 D1 ร่วมกับ ifosfamide 2.5 gm/m^2 D1-2 ร่วมกับ mesna 60 % of total ifosfamide dose ในแต่ละวัน ให้ห่างกันทุก 4 สัปดาห์ จำนวนทั้งสิ้น 6 cycles

การรักษาอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับ

การศึกษานี้เป็นแบบ intention to treat การรักษาอื่นๆ จะได้รับตามมาตรฐานที่เป็นวิธีการปกติของการดูแลผู้ป่วยของหน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยผู้ป่วยจะได้รับการป้องกันอาการคลื่นไส้อาเจียนโดยยากลุ่ม ondansetron 16 mg IV ร่วมกับ dexamethasone 10 mg IV วันละหนึ่งครั้งในช่วงที่ได้ยาเคมีบำบัด ยกเว้นผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอระยะแพร่กระจาย และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันระยะแพร่กระจาย ที่จะได้รับ ยากลุ่มondansetron 24 mg IV ร่วมกับ dexamethasone 10 mg IV วันละหนึ่งครั้งในช่วงที่ได้ยาเคมีบำบัด และผู้ป่วยทุกคนจะได้รับยา plasil (10 mg) 1 เม็ด 3 เวลาในระหว่างช่วงที่ผู้ป่วยอยู่โรงพยาบาล และจะให้กลับไปรับประทานที่บ้านเป็นเวลา 5 วัน เพื่อบรรเทาอาการคลื่นไส้อาเจียนถ้าผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้อาเจียน

มากระหว่างอยู่โรงพยาบาล ส่วนเรื่องผลข้างเคียงเรื่องการกดไขกระดูก จะใช้ยากระตุ้นเม็ดเลือดขาวเฉพาะตามที่มีข้อบ่งชี้เท่านั้น จะไม่ใช่เป็น primary prophylaxis ในผู้ป่วยที่ไม่เคยมีปัญหारेื่องเม็ดเลือดขาวต่ำร่วมกับมีไข้ (febrile neutropenia) จะไม่มีการใช้ยาอื่นใดในการป้องกันหรือลดผลข้างเคียง เช่น ยา amifostine เป็นต้น

การตัดสินใจรักษาด้วยเคมีบำบัดสูตรที่สองหรือสามขึ้นอยู่กับดุลพินิจของแพทย์หลังจากที่ประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัดในช่วงแรกคือหลัง 3 cycles ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษา แพทย์สามารถตัดสินใจปรับเปลี่ยนแผนการรักษาได้ตามความเหมาะสม

การตรวจร่างกายและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับการตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการตามแบบแผนการดูแลผู้ป่วยที่ได้รับเคมีบำบัดของโรงพยาบาลศรีนครินทร์ (ตารางที่ 2) ได้แก่

การตรวจร่างกาย

จะประเมินก่อนผู้ป่วยรับการรักษา และทุกครั้ง que ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด เป็นการตรวจโดยแพทย์ประจำทีมวิจัยในเรื่อง สัญญาณชีพ (vital sign) ของผู้ป่วย (ความดันโลหิต ชีพจร อัตราการหายใจ และอุณหภูมิ) น้ำหนัก รวมถึงอาการและอาการแสดงอื่นๆตามหลักเกณฑ์และแนวทางปฏิบัติของการประเมินอาการข้างเคียงของเคมีบำบัดต่อระบบต่างๆของผู้ป่วยตามเกณฑ์การประเมินของ Common Toxicity Criteria (version 3.0)

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

จะตรวจก่อนผู้ป่วยรับการรักษา และทุกครั้งที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด ตามรายละเอียดดังต่อไปนี้

- Clinical chemistry ได้แก่ total and direct bilirubin, aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase, albumin, blood sugar, blood urea, creatinine, potassium, sodium, chloride, bicarbonate
- Haematology ได้แก่ hemoglobin, hematocrit, white blood count, red blood cell, reticulocyte count, platelet count, differential count: neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils
- Routine urinalyses ได้แก่ appearance, pH, bacteria, WBC, RBC, sugar

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลาโทอิน

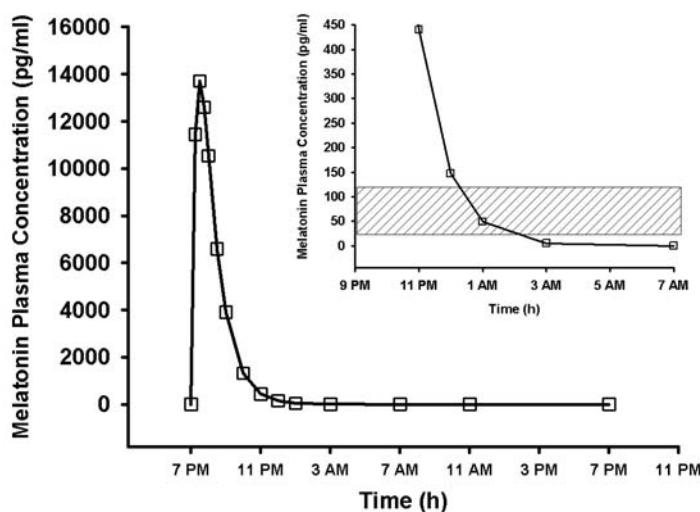
การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลาโทอินอาศัยการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของเมลาโทอินในพลาสมา และ น้ำลาย การเก็บตัวอย่างเลือดและน้ำลาย ถูกออกแบบเพื่อให้สามารถประมาณค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ประชากรของเมลาโทอินในผู้ป่วยที่เข้าร่วมการวิจัยทางคลินิกได้ โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือด 4 ครั้ง คือ cycle ละ 1 ครั้ง เป็นจำนวน 4 cycle ซึ่งจะกำหนดให้เก็บที่เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงหลังรับประทานยา นั่นคือช่วงเวลา 20.30-21.30 จำนวน 2 ครั้ง (cycle ที่ 1 และ 3) และ เก็บตัวอย่างที่เวลาประมาณ 12 ชั่วโมงหลังรับประทานยา นั่นคือ ที่ช่วงเวลา 6.30 – 8.30 จำนวน 2 ครั้ง (cycle ที่ 2 และ 4)¹

¹ การศึกษาระบุให้ผู้ป่วยรับประทานยาก่อนนอน และถ้าเป็นไปได้ ควรเป็นหลังเวลา 21.00 น. เป็นต้นไป แต่ในวันแรกของการรับเคมีบำบัดแต่ละ cycle จะกำหนดให้ผู้ป่วยรับประทานยาเวลา 19.00 น. เพื่อไม่ให้เกิดการเก็บตัวอย่างเลือดและน้ำลายรบกวนเวลานอนของผู้ป่วย

ส่วนตัวอย่างน้ำลายจะเก็บ cycle ละ 2 ครั้ง (หรือเฉลี่ยเดือนละ 2 ครั้ง กรณีผู้ป่วยที่มารักษาที่หน่วยผู้ป่วยนอก) โดยเก็บตัวอย่างน้ำลายในเวลากลางคืน หลังรับประทานเมลาโทนิน 30 นาที และ 60 นาที ตามลำดับ นอกจากนี้ จะเก็บตัวอย่างปัสสาวะสะสมตลอดคืน โดยเก็บเฉพาะในเดือนที่ผู้ป่วยมารับเคมีบำบัดที่หอผู้ป่วย cycle ละ 1 ครั้ง

ซึ่งเป็นจุดเวลาที่ได้รับการออกแบบด้วยเทคนิค (D optimal sampling) ด้วยโปรแกรม ADAPT II (D'Argenio, D.Z. and Schumitzky A, 1997.) เพื่อให้สามารถประมาณค่าพารามิเตอร์ของประชากร ได้แก่ เคลียแรนซ์ (CL/F) ปริมาตรการกระจายตัว (V/F) และค่าคงที่ของอัตราการดูดซึมของเมลาโทนิน (k_a) ได้ โดยอาศัยการจำลองจากผลการศึกษากลศาสตร์ของสารละลายเมลาโทนินขนาด 750 μg ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 11 คน (Konsil, 1997) ระดับความเข้มข้นที่ได้จะนำไปประมาณค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของประชากร ด้วยโปรแกรม Kinetica 4.0 หรือ NONMEM และกราฟระดับความเข้มข้น-เวลาของเมลาโทนินในผู้ป่วยแต่ละคน จะประมาณ

ผลการจำลองระดับความเข้มข้นของเมลาโทนิน-เวลา หลังรับประทานเมลาโทนิน 10 mg เมื่อเวลา 19:00 น ตรง (19:00 น) โดยอาศัยข้อมูลจากการศึกษากลศาสตร์ประชากรของเมลาโทนินของ Konsil (Konsil, 1997) ด้วยโปรแกรม ADAPT II แสดงในรูปที่ 7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มีโอกาสสูงที่เมลาโทนินที่ได้จากการรับประทานในขนาด 10 และ 20 mg จะถูกกำจัดหมดจากร่างกายหลังจากตื่นนอน ทำให้คาดการณ์ได้ว่าอาการข้างเคียงที่เกิดจากระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินที่สูงกว่าระดับความเข้มข้นปกติที่หลังจากตอมไฟแนลน่าจะเกิดขึ้นได้น้อย



รูปที่ 7 ผลการจำลองระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินที่ได้จากการรับประทานสารละลายเมลาโทนิน 10 mg เวลา 19:00 น กับผู้ป่วย (สำหรับขนาด 20 มิลลิกรัมจะให้ระดับความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของขนาด 10 มิลลิกรัม) พื้นที่แรเงาในกราฟภาพเล็กแสดงช่วงระดับความเข้มข้นของเมลาโทนินที่หลังจากตอมไฟแนลในเวลากลางคืนในอาสาสมัครสุขภาพดี (Konsil, 1997)

การประเมินผลด้านลัพท์ของการรักษา

อาการไม่พึงประสงค์จากเคมีบำบัด

อาการข้างเคียงจากเคมีบำบัดที่พบก่อน และในระหว่างคอร์สการรักษาด้วยเคมีบำบัดจะมีการบันทึกตาเกณฑ์มาตรฐานของ Common Toxicity Criteria (version 3.0) ซึ่งจะเก็บข้อมูลโดยแพทย์นักวิจัยในวันแรกที่ผู้ป่วย

มารับการรักษาที่โรงพยาบาลในแต่ละ cycle หรือที่หน่วยผู้ป่วยนอก กรณีติดตามการรักษา หรือในผู้ป่วยที่ไม่ได้มารับเคมีบำบัดที่โรงพยาบาล (ตารางที่ 2)

คุณภาพชีวิต

คุณภาพชีวิตจะประเมินโดยใช้แบบประเมิน FACT-G ร่วมกับอาการที่เฉพาะกับมะเร็งหรืออาการข้างเคียงบางชนิด ซึ่งในที่นี้ได้แก่ FACT-B, FACT-L และ FACT-Head& neck (รายละเอียดดูในการประเมินคุณภาพชีวิต) เนื่องจากผู้ป่วยมะเร็งแต่ละชนิด มีระยะเวลาการรับยาแตกต่างกัน จึงกำหนดช่วงเวลาของการเก็บข้อมูลคุณภาพชีวิตเพื่อให้ประเมินคุณภาพชีวิตได้ใกล้เคียงกับ cycle ที่มารับยาให้มากที่สุด การประเมินผลด้านคุณภาพชีวิตกำหนดทั้งในระยะสั้น และระยะยาว โดยแบ่งเป็น ประเมินก่อนได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัด และหลังเริ่มได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน (สัปดาห์ที่ 4 – 5), 2 เดือน (สัปดาห์ที่ 7 – 9) และ 6 เดือน (สัปดาห์ที่ 25-26) ซึ่งในที่นี้หมายถึง วันเริ่มเข้าการศึกษา (baseline) วันแรกของการรับเคมีบำบัด cycle ที่ 2 และ cycle ที่ 3 และ หลังได้รับการรักษา 6 เดือน (สัปดาห์ที่ 24)

การเก็บข้อมูลคุณภาพชีวิตจะใช้วิธีการสัมภาษณ์ โดยใช้ผู้สัมภาษณ์ 2 คน และก่อนเก็บข้อมูล จะมีการอบรมผู้สัมภาษณ์ และประเมินความเที่ยงของผู้สัมภาษณ์ (inter-rater reliability) โดยต้องมีค่าสัมประสิทธิ์ความเที่ยง (intra-class correlation) มากกว่า 0.7 ก่อนเริ่มเก็บข้อมูลจริง

การตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา

แพทย์นักวิจัยร่วมจะประเมินการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาด้วยเคมีบำบัด ที่การรักษา cycle ที่ 3 และ cycle ที่ 6 (เฉพาะผู้ป่วยที่ตอบสนอง) โดยจะประเมินการตอบสนองเป็น complete response (CR), partial response (PR), stable disease (SD), progressive disease (PD)ตามเกณฑ์ของ RECIST criteria โดย CR หมายความว่ารอยโรคหายไปทั้งหมด และไม่มีรอยโรคใหม่เกิดขึ้นในระหว่างการรักษา PR หมายความว่ามีความหนาแน่นที่วัดในแนวยาวที่สุดของรอยโรคลดลงร้อยละ 30 เทียบกับก่อนการรักษาและไม่มีรอยโรคใหม่เกิดขึ้น SD หมายความว่าไม่มีรอยโรคที่ยุบได้มากกว่าร้อยละ 30 และไม่มีการเพิ่มขนาดขึ้นร้อยละ 20 PD หมายความว่าก่อนเดิมมีขนาดโตขึ้นมากกว่าร้อยละ 20 หรือมีรอยโรคใหม่เกิดขึ้นในช่วงระหว่างการรักษา โดยการตอบสนองที่ถือว่ามีความสำคัญทางคลินิกคือ CR หรือ PR โดยจะเปรียบเทียบเป็นสัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับการตอบสนองแบบมี clinical significant ระหว่างสองกลุ่มการรักษา

การประเมินคุณภาพชีวิต

การวิจัยนี้จะประเมินทั้งคุณภาพชีวิตทั่วไปของผู้ป่วยมะเร็ง และเฉพาะโรคมะเร็ง และเฉพาะอาการข้างเคียง โดยใช้แบบประเมิน Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) version 4 ของทีมวิจัย Functional Assessment of Chronic Illness Therapy (FACIT) ซึ่ง conceptual framework ของคุณภาพชีวิตแบบทั่วไปของผู้ป่วยมะเร็ง (FACT-G) ในการศึกษาี้ หมายถึง มิติทางร่างกาย (physical well-being) สังคม (social well-being) จิตใจ (emotional well-being) และการประกอบกิจกรรม (functional well-being) โดยจะประเมินร่วมกับแบบประเมินคุณภาพชีวิตแบบเฉพาะ ซึ่งได้แก่ เฉพาะกับมะเร็งเต้านม (FACT-B) มะเร็งปอด (FACT-L) และมะเร็ง head&neck (FACT-H&N) โดยมีรายละเอียดของแบบประเมินในตารางที่ 3

แบบประเมินคุณภาพชีวิต FACT สร้างโดย Cella และทีม โดยสร้างจากข้อคำถามที่มาจากทั้งผู้เชี่ยวชาญ และผู้ป่วยมะเร็งโดยตรง จึงมีความสอดคล้องกับกลุ่มผู้ป่วยดังกล่าว โดยมีรายงานยืนยันผลความตรง (validity) จากการทดสอบด้วยวิธี known group validity ซึ่งสามารถแยกแยะกลุ่มผู้ป่วยตามความรุนแรงของโรคได้ และมีข้อมูลยืนยันความตรงตามโครงสร้างของแบบสอบถาม จากการวิเคราะห์ด้วย factor analysis แบบสอบถามมีความสามารถ

ในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลง (responsiveness) จึงมีความไวที่ดีและสามารถใช้ประเมินผลการรักษาที่เวลาต่าง ๆ ได้ ผลการทดสอบความเที่ยงพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเที่ยง (Cronbach's alpha) มากกว่า 0.7 ซึ่งแสดงถึงความน่าเชื่อถือของข้อคำถามในแบบประเมินแต่ละมิติ และพบค่าสัมประสิทธิ์ความเที่ยงจากการทดสอบซ้ำ (test-retest reliability) มากกว่า 0.7 ซึ่งแสดงค่าแบบสอบถามมีความเที่ยงในการวัดข้อมูลซ้ำ (Cella et al., 1993) นอกจากนี้ แบบประเมิน FACT ได้มีการทดสอบ 'minimal important difference (MID)' ซึ่งหมายถึง ระดับการเปลี่ยนแปลงของคะแนนขั้นต่ำที่ให้ผลนัยสำคัญทางคลินิกกับผู้ป่วย ดังนั้น ทำให้การแปลผลของคะแนนคุณภาพชีวิตจากแบบสอบถามดังกล่าวมีความสอดคล้องกับผู้ป่วยมากขึ้น (Eton et al., 2004)

แบบประเมินคุณภาพชีวิต FACT ฉบับภาษาไทย มีการแปลและทดสอบด้วยกระบวนการ cross-cultural validation เพื่อให้สอดคล้องกับคนไทย ซึ่งผลการทดสอบในผู้ป่วยมะเร็ง 364 คนได้ผลตรงกับแบบสอบถามต้นฉบับ (Ratanatharathorn et al., 2001) โดยมีความตรงทั้งโดยวิธี factor analysis และ known group validation โดยสามารถแยกผู้ป่วยที่มีภาวะโรคแตกต่างกันได้ แบบสอบถามมีความเที่ยงที่ดี ทั้งการทดสอบโดย test-retest reliability และ Cronbach's alpha (0.75 – 0.90) นอกจากนี้ การทดสอบการใช้แบบประเมินด้วยวิธีสัมภาษณ์ (n = 424) ในผู้ป่วยที่มีการศึกษาน้อย โดยเป็นการศึกษาระดับประถมหรือต่ำกว่าถึง 80% และประชากรส่วนหนึ่งเป็นผู้ป่วยที่รับบริการที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ ซึ่งเป็นกลุ่มประชากรที่จะใช้ในการศึกษานี้ พบว่ามีสัมประสิทธิ์ความเที่ยงอยู่ในช่วง 0.71 – 0.82 และมีความตรงตามโครงสร้าง โดยสามารถแจกแจงผู้ป่วยที่มี performance status ที่แตกต่างกันได้อย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งมีความไวต่อความเปลี่ยนแปลงของอาการปวดได้ดี (Pratheepawanit et al., 2005)

ตารางที่ 3 รายละเอียดแบบสอบถามคุณภาพชีวิตที่ใช้ในการศึกษา

ชนิดแบบสอบถาม	รายละเอียด	จำนวนมิติ	จำนวนคำถาม
แบบทั่วไป			
FACT-G	ประเมินคุณภาพชีวิตทั่วไปของผู้ป่วยมะเร็ง	4	27
แบบเฉพาะ			
FACT-B*	ประเมินคุณภาพชีวิตเฉพาะของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม	1	10
FACT-L*	ประเมินคุณภาพชีวิตเฉพาะของผู้ป่วยมะเร็งปอด	1	9
FACT-H&N*	ประเมินคุณภาพชีวิตเฉพาะของผู้ป่วยมะเร็ง head&neck	1	12

* ผู้ป่วยแต่ละคนเลือกใช้เพียง 1 แบบ ขึ้นกับชนิดของมะเร็งของผู้ป่วย ยกเว้น ผู้ป่วย sarcoma ซึ่งจะใช้เฉพาะแบบประเมินคุณภาพชีวิตแบบทั่วไป เนื่องจากยังไม่มีการพัฒนาแบบประเมินคุณภาพชีวิตที่เฉพาะสำหรับผู้ป่วยกลุ่มนี้

ตารางที่ 2 รายละเอียดการเก็บข้อมูลที่เวลาต่างๆ

Melatonin / placebo dosing (Take the study drug for 6 months despite a progressive disease)			Melatonin 10 mg at 21.00 pm																																							
			Melatonin 20 mg at 21.00 pm																																							
			Placebo at 21.00 pm																																							
			↑ Start double-blind placebo dosing																																							
			← 21 – 28 days →				← 21 – 28 days →				← 21 – 28 days →				← 21 – 28 days →				← 21 – 28 days →				← 21 – 28 days →																			
			Chemotherapy (Lung & breast)				1 st cycle				2 nd cycle				3 rd cycle				4 th cycle																							
			Chemotherapy (Sarcoma & H/N)				↑ 1 st cycle				↑ 2 nd cycle				↑ 3 rd cycle				↑ 4 th cycle				↑ 5 th cycle				↑ 6 th cycle															
No. Hospitalization/visit	Screening	Lung & breast	H1				H2				H3				H4					O1					O2					O3				6-month FU								
	Screening	Sarcoma and H/N	H1				H2				H3				H4					H5					H6								6-month FU									
Study week	0		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25 – 26															
Informed consent	x /																																									
Medical history	x /		x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
Physical exam	x /		x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
Laboratory tests	x /		x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
Compliance			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
Primary endpoints																																										
- Thrombocytopenia			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Neutropenia			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Anemia			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- ECOG / fatigue	x /		x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Cachexia			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Neurotoxicity			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Nephrotoxicity			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Cardiotoxicity			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- FACT (QOL)	x /					x	/		x		/																						x /									
Secondary endpoints																																										
- Tumor response									x /														/																			
- Survival																																	→One year after tx									
- Melatonin in plasma			x /			x	/		x		/	x			/				/				/				/															
- Metabolite in urine			x /			x	/		x		/	x			/				/				/				/															
- Melatonin in saliva			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Adverse events (tx)			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Safety (melatonin)			x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									
- Sleep quality	x /		x /			x	/		x		/	x			/	x			/	x			/	x			/	x					x /									

การตรวจวัดระดับความเครียดออกซิเดชัน

โครงการวิจัยได้วางแผนตรวจวัดระดับความเครียดออกซิเดชัน โดยใช้ 2 ตัวชี้วัด คือ ปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) และ 8-isoprostane (8-epi-PGF_{2α}) ในปัสสาวะ แต่ภายหลังมีปัญหาความไม่พร้อมของเครื่องมือ HPLC ที่กำหนดสำหรับวัด ปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) จึงได้เปลี่ยนมาเป็นการวัดระดับ Malondialdehyde (MDA) ในพลาสมาแทน โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์ดังนี้

การตรวจวัดระดับ Malondialdehyde (MDA) ในตัวอย่างพลาสมา

การตรวจวัดระดับ Malondialdehyde (MDA) ในตัวอย่างพลาสมาใช้วิธี TBA โดยใช้ตัวอย่างพลาสมา 1 มิลลิลิตร เติม 0.5 ml 5 mM EDTA และเขย่า จากนั้นใส่ 8.1% SDS solution ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่า และใส่ 10% TCA reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร ปิดฝา และ incubate ที่อุณหภูมิ 95 °C ใน waterbath เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในภาคน้ำแข็ง นำเข้าเครื่อง centrifuged ที่ความเร็ว 3000 rpm (550 g) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้น pipette ส่วนที่ใสไปใส่ใน 3.5 ml quartz cuvette วัดค่าความดูดกลืนแสงของ MDA-TBA pink complex formed ที่ค่าความยาวคลื่น 532 nm

การตรวจวัดระดับ 8-isoprostane (8-epi-PGF_{2α}) ในตัวอย่างปัสสาวะ

ระดับ 8-isoprostane เป็นผลลัพธ์ของกระบวนการ lipid peroxidation การทดสอบใช้ชุดตรวจวิเคราะห์ ACE Competitive Enzyme Immunoassay 516315 test kit (Cayman Chemical, Inc, MI USA) การวิเคราะห์ใช้สารละลายตัวอย่างจำนวน 8 ความเข้มข้น (0–500 pg/ml of 8-isoprostane) วิเคราะห์ความเข้มข้นละสองตัวอย่าง เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐาน น้ำที่ใช้ล้างและเจือจางตัวอย่างและสารมาตรฐานใช้ Ultrapure water (Cayman Chemical, Inc, MI USA) โดย Elisa เพลสที่เตรียมแล้วนำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Anthos ELISA reader (Labtec Instruments, Sabzburg, Austria) ที่การดูดกลืนแสง 450 nm ร่วมกับโปรแกรม ADAP 1.6 software

ชุดวิเคราะห์นี้มีรายงาน Cross-reactivities ของ EIA แอนติบอดี กับ 8-iso-PGF_{2α} ต่ำ โดยรายงาน cross-reactivities > 0.1% สำหรับ 8-iso Prostaglandin F_{3α} 20.6%, 2,3-dinor-8-iso Prostaglandin F_{2α} 4.00%, 8-iso Prostaglandin E₂ 1.84%, 2,3-dinor-8-iso Prostaglandin F_{1α} 1.70%, 8-iso Prostaglandin E₁ 1.56%, Prostaglandin F_{1α} 0.71%, Prostaglandin F_{3α} 0.66%, Prostaglandin E₁ 0.39%, Prostaglandin D₂ 0.16%, 6-keto Prostaglandin F_{1α} 0.14%, Prostaglandin F_{2α} 0.14% ทั้งนี้ แม้ว่ามีรายงาน cross-reactivity กับ 8-iso Prostaglandin F_{3α} (20.6%) สูง แต่สารนี้ไม่พบในปัสสาวะของมนุษย์ Proudfoot et al., 1999) อีกทั้ง cross-reactivity เหล่านี้ไม่มีผลรบกวนความถูกต้องของการวิเคราะห์ปริมาณ 8-isoprostane ในตัวอย่าง ชุดวิเคราะห์สามารถวัดปริมาณ 8-isoprostane ได้ต่ำถึง 2.7 pg/ml (80% B/B0).

การวิเคราะห์ระดับเมลาโทนินในเลือด

ทีมวิจัยได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์เมลาโทนินในพลาสมา โดยใช้ HPLC – fluorescence detector (HPLC SpectraSystems P1500 isocratic pump and SpectraSystems FL2000 detector, Thermo Scientific, USA). เนื่องจากจะช่วยประหยัดต้นทุนในการวิเคราะห์ ได้มากกว่าวิธีวิเคราะห์มาตรฐานอื่นๆ เช่น RIA หรือ ELISA และเพื่อเพิ่มศักยภาพของทีมวิจัยในการวิเคราะห์ระดับเมลาโทนินในงานวิจัยอื่นๆต่อไป ซึ่งวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวจะสามารถใช้กับการวิเคราะห์เมลาโทนินในน้ำลายได้ด้วย การทดสอบวิธีการวิเคราะห์เมลาโทนินในพลาสมานั้น ศึกษาโดยใช้ blank plasma ที่ได้จากคลังเลือดกลาง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ เตรียมตัวอย่างพลาสมาจากอาสาสมัคร 6 คน โดย aliquot ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จากตัวอย่างแต่ละคน ตัวอย่างที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะใช้วิเคราะห์ ตรวจวัด interference, selectivity และ limit of quantification (LOQ) และเลือกใช้ N-acetylserotonin (NAS) เป็น internal standard เนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายกับเมลาโทนิน มีความคงตัว และดูดกลืนแสงที่ค่าเดียวกันกับเมลาโทนิน

เตรียมสารละลายเมลานินมาตรฐาน (Shanghai Chemical Co. Ltd., PR China) ตามความเข้มข้นที่กำหนด จากนั้นเติม NAS (2,000 ng/mL) และ dichloromethane (500 µL) นำไปเขย่าด้วยความเร็ว 1,000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีด้วย Wrist shaker (Wrist Action Shaker, Burrell Corporation, USA) แล้วจึงนำเข้าเครื่อง centrifuged (Ultracentrifuge Kubota 6200, Kubota Corporation, Japan) ที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที รอให้ตกตะกอนเป็นเวลา 5 นาที pipette ส่วนชั้น organic ชั้นล่างไปใส่ใน Eppendorf tube ใหม่ แล้วระเหย dichloromethane ออกโดยแก๊สไนโตรเจน จากนั้นละลายส่วนที่เหลือใน 100% acetonitrile (Labscan Asia Co., Thailand) จำนวน 50 µL นำไป sonicate เป็นเวลา 30 นาที ด้วยเครื่อง Ultrasonic bath, Crest Ultrasonic, Malaysia). จัดตัวอย่างเข้าไปในเครื่อง HPLC (SpectraSystems P1500 isocratic pump, USA) โดยใช้ HiQ Sil C18V column (5 µm, 250 mm x 4.6 mm, 25 °C) (KYA Tech Corporation, Japan) และใช้ 25% acetonitrile/phosphate buffer เป็น mobile phase, pH 7.0 (pH meter SevenEasy Mettler Toledo, Thermo Fisher Scientific, UK) กำหนด flow rate ที่ความเร็ว 1.0 mL/min และกำหนด Fluorescence excitation and emission wavelengths (SpectraSystems FL2000 detector, Thermo Scientific, USA) ที่ 286 nm และ 346 nm ตามลำดับ การวิเคราะห์ทำโดยใช้เครื่อง Clarity Software (DataPlex, USA)

ทำการทดสอบวิธี HPLC มาตรฐานที่กำหนด โดยวัด linearity and range ใช้เมลานินความเข้มข้น 86.4, 302.4, 1,080 และ 2,160 ng/mL ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานใหม่ทุกสัปดาห์ จากนั้นวัด precision โดยการฉีดเมลานินความเข้มข้น 86.4 ng/mL จำนวน 5 ครั้ง แล้ววัด %CV นอกจากนี้ ตรวจวิเคราะห์หา accuracy, inter-day precision และ intra-day precision โดยใช้ spiked เมลานินมาตรฐานความเข้มข้น 86.4 302.4, 1,080 ng/mL โดยทำการวัด 3 ครั้ง และทำ calibration curve ในแต่ละวัน จากนั้นวัด recovery โดยคำนวณเปรียบเทียบกับ calibration curve ที่เตรียมจากการละลายเมลานินมาตรฐานใน 100% acetonitrile เปรียบเทียบกับเมลานินมาตรฐานที่ได้จากการสกัดจากพลาสมา ซึ่งตามเกณฑ์ Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation กำหนดให้ accuracy และ recovery ของมาตรฐานเมลานินอยู่ในช่วง 82 – 110% (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) และ %CV < 10%.

การประเมินความปลอดภัยของเมลานิน

การศึกษาจะประเมินอาการข้างเคียง (adverse effects: AEs) ของเมลานินตลอดการศึกษา AEs ในที่นี้หมายถึง ความผิดปกติทางคลินิกหรือทางห้องปฏิบัติการที่เริ่มพบ หรือที่เพิ่มความรุนแรงภายในเวลา 7 วันของการเริ่มการศึกษา ซึ่งได้มาจากการตรวจร่างกาย และข้อมูลการซักประวัติอื่นๆ เช่น เวลาที่เริ่มมีอาการ ความรุนแรงของอาการ ระยะเวลาของอาการ และการรักษาอื่นร่วมด้วย โดยใช้เกณฑ์การประเมินของ Common Toxicity Criteria (version 3.0) ทั้งนี้ให้แพทย์ประจำทีมวิจัยเป็นผู้พิจารณาและวินิจฉัยอาการข้างเคียงที่พบดังกล่าว กรณีอาการที่พบบ่อยคล้ายกับอาการข้างเคียงของเคมีบำบัดให้แพทย์ประจำทีมวิจัยเป็นผู้ตัดสินชี้ขาด

เกณฑ์การให้ผู้ป่วยเลิกจากการศึกษา (Discontinuation criteria)

- 1 ผู้ป่วยสมัครใจถอนตัวออกจากกิจกรรมการวิจัยทางคลินิก
- 2 ผู้ป่วยมีปัญหาทางสุขภาพที่เป็นอุปสรรคต่อความปลอดภัย ทั้งนี้ให้อยู่ในดุลยพินิจของแพทย์นักวิจัยร่วม

เกณฑ์การพิจารณาเลิกหรือยุติการศึกษาทั้งโครงการ (Termination criteria)

การคัดเลือกอาสาสมัครและการศึกษาวิจัยในคนจะถูกระงับชั่วคราวเมื่อพบเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้ายแรงระหว่างการศึกษ (serious adverse event, SAEs) ตามมาตรฐานของเกณฑ์การพิจารณาของ Common Toxicity Criteria (version 3.0) ตั้งแต่เกรด 3 ขึ้นไป และยังไม่สามารถสรุปผลการสอบสวนสาเหตุของ SAEs นั้นได้

การศึกษาวินิจฉัยทางคลินิกจะถูกยุติทั้งโครงการหากพบว่ามี SAEs ที่เกิดจากเมลาโทอินที่ให้ ทั้งนี้การสอบสวนและตัดสินใจยุติการศึกษาจะอยู่ในดุลยพินิจของแพทย์นักวิจัยร่วม ทีมนักวิจัย โดยจะมีการปรึกษากับคณะกรรมการพิจารณาการศึกษาวินิจฉัยในคนของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แบบทดสอบทางสถิติ ที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของตัวแปรจุดยุติสำหรับแต่ละสมมุติฐาน สำหรับการพิสูจน์ว่าเมลาโทอินจะสามารถเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยได้ทั้งในระหว่างและหลังจบคอร์ส เคมีบำบัด หรือ การเปรียบเทียบผลกระทบของเมลาโทอินที่มีต่อตัวแปรจุดยุติที่เป็นตัวแปรต่อเนื่อง ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมกับการทดสอบคอนทราสต์เชิงตั้งฉาก (orthogonal contrast) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ (coefficients) ของคอนทราสต์เชิงตั้งฉาก ที่เกี่ยวข้อง 3 กลุ่มรักษา กล่าวคือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (ยาหลอก) กลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับเมลาโทอินในขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม ตามลำดับ

สำหรับการทดสอบสถิติผลกระทบของเมลาโทอินที่มีต่อจุดยุติที่เป็นตัวแปรทวิภาค เช่น การกดไขกระดูก น้ำหนักลดมากกว่า 10% ของน้ำหนักตัวที่วัดได้ก่อนได้รับเคมีบำบัด การตอบสนองของมะเร็ง (คำนวณเป็นร้อยละของ Complete response (CR) Partial response (PR) และ CR ร่วมกับ PR อัตราการรอดชีวิตในระยะเวลา 1 ปี และอาการข้างเคียง (ร้อยละของการเกิด) ใช้แบบทดสอบทางสถิติไคกำลังสอง (chi-square test) โดยกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

สำหรับการทดสอบสถิติผลกระทบของเมลาโทอินที่มีต่อจุดยุติที่เป็นตัวแปรจัดประเภท เช่น อาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นและมีการให้เกรดตาม CTCAE และ ระดับพารามิเตอร์ของภาวะออกซิเดชัน จะใช้แบบทดสอบสถิติของ Mann Whitney U Test โดยกำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

การวิเคราะห์สถิติไคกำลังสอง Mann Whitney U Test การทดสอบความแปรปรวน และการทดสอบคอนทราสต์เชิงตั้งฉากทำในโปรแกรม SPSS (version 12) และ STATGRAPHICS Plus 5.0 (Manugistics, Statgraphics Plus for Windows Manual, Manugistics, 2001)

การวิเคราะห์ผลลัพธ์ด้านคุณภาพชีวิต

ข้อมูลคุณภาพชีวิตจะมีการป้อนรหัสใหม่ (recode) และคิดคะแนนตามหลักเกณฑ์และแนวทางปฏิบัติ การคำนวณคะแนนของ FACT โดยคะแนนจะมีลักษณะต่อเนื่อง และมีคะแนนเต็มในช่วง 108 – 156 คะแนน ขึ้นกับชนิดของแบบสอบถาม ซึ่งคะแนนที่มากจะหมายถึงคุณภาพชีวิตที่ดี จากนั้นจะวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนคุณภาพชีวิตที่เวลาต่างๆ โดยใช้ repeated measure analysis และประเมินผลของการให้เมลาโทอินต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย โดยใช้ linear regression โดยควบคุมปัจจัยในด้านอายุ ชนิดของมะเร็ง ระยะของโรค และระดับคุณภาพชีวิตก่อนเริ่มรับการรักษา (baseline) จากนั้นแสดงข้อมูลเป็นร้อยละของผู้ป่วยที่คุณภาพชีวิตดีขึ้น (improved) ไม่เปลี่ยนแปลง (stable) และแย่ลง (declined) นั่นคือ คะแนน FACT-G เพิ่มขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับ 6 คะแนน เปลี่ยนแปลงน้อยกว่า 6 คะแนน และลดลงมากกว่าหรือเท่ากับ 6 คะแนน โดยคำนวณจากการเปลี่ยนแปลงของคะแนน FACT-G 6 คะแนน ที่มีผลนัยทางคลินิก (clinically significant) (Eton, 2004) ร้อยละของกลุ่มผู้ป่วยในแต่ละผลลัพธ์คุณภาพชีวิต ที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างเมลาโทอินและยาหลอก วิเคราะห์โดยใช้สถิติ Chi-square test

บทที่ 3 ผลการศึกษา

สรุปภาพการดำเนินงานของโครงการ MIRCIT Trial ตั้งแต่ 1 ธันวาคม 2549 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2554

โครงการ MIRCIT Trial ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2549 โดยได้ยื่นขอรับการพิจารณาล่วงหน้าก่อนทราบผลพิจารณาทุนจากสกว. ทำให้สามารถเริ่มเก็บข้อมูล ได้ภายในเวลากำหนดทุน โครงการ MIRCIT Trial ได้มีการพัฒนาและปรับโครงการมาเป็นระยะๆ เพื่อให้สอดคล้องกับ ความเป็นไปได้ในการคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมทั้งปรับการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูลตัวอย่างชีวภาพที่ เกี่ยวข้อง ซึ่งทุกขั้นตอนได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุกครั้ง และการดำเนินการ เป็นไปตาม Good Clinical Practice (GCP) ทั้งนี้ โครงการ MIRCIT Trial ได้เริ่มเก็บข้อมูลผู้ป่วยรายแรกในวันที่ 16 สิงหาคม 2550 และในช่วงเวลาที่ผ่านมามีการรายงานความก้าวหน้าและต่ออายุโครงการมาอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันมี อาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาแล้ว 168 คน คาดว่าจะเก็บข้อมูลได้ครบตามกำหนด (174 คน) ภายในเดือนมิถุนายน 2554

หนึ่งในเป้าหมายการดำเนินการวิจัย MIRCIT Trial คือ ให้ผู้ป่วยได้รับประโยชน์จากงานวิจัยอย่างแท้จริง จึง เตรียมการเพื่อให้ผู้ป่วยสามารถเข้าถึงยาและมียาใช้ได้หากผลการศึกษายืนยันให้เห็นว่าเมลาโทินมีประโยชน์ต่อ ผู้ป่วยมะเร็งจริง ดังนั้นจึงได้ติดต่อฝ่าย R&D ของบริษัทเอนเนอร์รลตรีกเฮาส์ เพื่อขอความร่วมมือ (in kind) ในการ ผลิตผลิตภัณฑ์เมลาโทินและยาหลอกสำหรับใช้ในการวิจัย เนื่องจากเป็นโรงงานที่มี Good Manufacturing Practice (GMP) โดยได้ร่วมในการพัฒนาสูตรตำรับและผลิตผลิตภัณฑ์เมลาโทินที่ได้มาตรฐาน การร่วมมือดังกล่าวนำไปสู่การ ขยายความร่วมมือในการวิจัยมากขึ้น โดยนักวิจัยได้รับอนุมัติทุนสนับสนุนจาก สกว. ตามโครงการความร่วมมือกับ ภาคอุตสาหกรรม (TRF-MAG) ตั้งแต่ปี 2550 – 2553 แล้ว จำนวน 5 ทุน เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับการขึ้นทะเบียนเมลา โทินเป็นยาสำหรับผู้ป่วยโรคมะเร็งในประเทศไทย โดยล่าสุดบริษัทเอนเนอร์รลตรีกเฮาส์ได้ยื่นหลักฐานผลิตภัณฑ์ไป ยังองค์การอาหารและยา ประเทศไทย เพื่อขอขึ้นทะเบียนเมลาโทินสำหรับเป็นยาเพื่อใช้ในการผู้ป่วยมะเร็งเมื่อเดือน กุมภาพันธ์ 2554 และอยู่ระหว่างรอผลการพิจารณา

ปัญหาหลักของโครงการ MIRCIT Trial คือ ทุนวิจัยมีงบประมาณจำกัดและไม่เพียงพอ ส่วนหนึ่งเนื่องจากเป็น โครงการวิจัยทางคลินิกขนาดใหญ่ งานวิจัยมีความซับซ้อนและต้องติดตามผู้ป่วยเป็นเวลานาน มีการประสานงานกับ เจ้าหน้าที่หลายฝ่าย จึงต้องจ้างผู้ช่วยวิจัยในการประสานและติดตามเรื่องดังกล่าวอย่างใกล้ชิด ทำให้มีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ยังมีการวัดผลลัพธ์ทางห้องปฏิบัติการหลายอย่าง ซึ่งล้วนใช้งบประมาณจำนวนมาก ทั้งนี้ หลังจากได้รับทุน พัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกว.-สกว. นักวิจัยได้ติดต่อขอความร่วมมือทั้งแบบ in kind และ in cash จากหลายหน่วยงาน เพื่อให้สามารถดำเนินโครงการได้ตามที่กำหนด ซึ่งผลจากกิจกรรมดังกล่าว ทำให้ทีมวิจัย ได้ขยายไปสู่การตั้งกลุ่มวิจัย โดยเริ่มจากกลุ่มวิจัยในคณะเภสัชศาสตร์ในปี 2550 ก่อนที่จะขยายไปสู่กลุ่มวิจัยเมลาโทิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปี 2552 ซึ่งการพัฒนาดังกล่าวทำให้กลุ่มวิจัยมีเงินสนับสนุนโครงการ MIRCIT Trial ได้ อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ ยังได้ขยายการวิจัยไปสู่การศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี (วทยา มั่นประเสริฐ และคณะ 2553, ทุน TRF-MAG) การพัฒนาผลิตภัณฑ์เมลาโทินรูปแบบต่างๆ (ทุน TRF-MAG 4 ทุน) การศึกษาปริมาณเมลาโทินใน ผลไม้ (ทุน TRF ชุดโครงการสมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต 2 ทุน) รวมถึงการพัฒนานวัตกรรมเมลาโทินและการทดสอบ ฤทธิ์การต้านมะเร็งและด้านการอักเสบของอนุพันธ์ต่างๆ (ทุนอุดหนุนการวิจัย ปี 2553 และ 2554) และล่าสุดพัฒนา ไปสู่แผนงานวิจัยนวัตกรรมผลิตภัณฑ์เมลาโทินเพื่อเสริมประสิทธิภาพการรักษาและเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโรคมะเร็ง ที่ครอบคลุมตั้งแต่กลไกการออกฤทธิ์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ ในศึกษาในสัตว์ทดลอง และการทดสอบทางคลินิก ครอบคลุมโรคพยาธิใบไม้ตับ มะเร็งท่อน้ำดี มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ และมะเร็งต่อมลูกหมาก (ทุน สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ปี 2554, กำลังรอผลการพิจารณา) ซึ่งโครงการและทุนวิจัยต่างๆนี้ได้พัฒนา มาจากทุนได้รับทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกว.-สกว.ทั้งสิ้น

นอกจากปัญหาเรื่องทุนวิจัยแล้ว โครงการ MIRCIT Trial ยังมีความล่าช้าในการเก็บข้อมูล ส่วนหนึ่งเนื่องจากคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาได้น้อย โดยเฉลี่ยเพียง 2-3 คนต่อเดือน แม้ต่อมาจะปรับแผนโดยเพิ่มทีมแพทย์และโรงพยาบาลที่เข้าร่วมการศึกษาแล้วก็ตาม เพื่อให้สอดคล้องกับการดำเนินงานจริง นักวิจัยจึงได้ขอปรับเปลี่ยนโครงการวิจัย MIRCIT Trial ส่วนที่ขอทุนทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.-สกว.ที่เสนอต่อสกว.ใหม่ โดยลดจำนวนขนาดตัวอย่างจากเดิม 120 คน เป็น 30 คน และเพิ่มการตรวจวัดระดับเมลาโทนินในน้ำลาย เพิ่มการตรวจวัดภาวะออกซิเดชัน โดยวัดปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) และ 8-isoprostane (8-epi-PGF_{2α}) ในปัสสาวะ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนินและยาหลอก ทั้งนี้ ได้รับอนุมัติเปลี่ยนแปลงการดำเนินการจากฝ่ายวิชาการ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแล้ว ตามหนังสือเลขที่ นร 6808/319/2551 ลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551

แม้จะมีการปรับแผนและได้รับทุนสนับสนุนจากหลายหน่วยงานดังกล่าว เหตุสำคัญที่ทำให้โครงการ MIRCIT Trial ส่วนที่ได้รับจากสกว. ไม่สามารถปิดโครงการได้ เนื่องจากไม่สามารถตีพิมพ์ผลงานวิจัยตามข้อกำหนดของทุนวิจัย ซึ่งแม้จะได้รับคำชมในเรื่องรูปแบบการวิจัยและ innovation แต่ปัญหาของกลุ่มตัวอย่างที่น้อย (30 คน) ไม่เพียงพอสำหรับตอบโจทย์วิจัยทางคลินิกเป็นเหตุผลสำคัญที่ไม่ได้รับการตอบรับตีพิมพ์ใน 4 วารสารดังกล่าว (รายละเอียดในภาคผนวก) ดังนั้น นักวิจัยจึงได้ขอเก็บข้อมูลให้ครบตามกำหนด 174 คน (ขยายจำนวนเพิ่มขึ้น โดยพิจารณาจากผลการวิเคราะห์เบื้องต้น) ก่อนวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อการตีพิมพ์ และใช้เป็นผลงานเพื่อปิดโครงการต่อไป อย่างไรก็ตาม เนื่องจากได้รับแจ้งจากสกว.ให้ดำเนินการปิดโครงการ MIRCIT Trial ภายในเดือนกุมภาพันธ์ 2554 ดังนั้น รายงานวิจัยนี้จึงแสดงเฉพาะผลการดำเนินช่วงแรก และผลการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น (preliminary results) ของผู้ป่วย 30 คนแรก ซึ่งเป็นส่วนที่ได้รับทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.-สกว.

การเตรียมผลิตภัณฑ์เมลาโทนินสำหรับการวิจัยทางคลินิก

หลังจากสั่งซื้อและนำเข้าวัตถุดิบเมลาโทนินแล้ว ได้มีการทดสอบคุณภาพและการปนเปื้อนตามมาตรฐานที่กำหนด จากนั้นติดต่อบริษัทเอนเนอร์ราลตรีกเฮาส์ เพื่อขอความอนุเคราะห์ในการพัฒนาสูตรตำรับ และผลิตเมลาโทนินแคปซูลสำหรับงานวิจัย และยาหลอก โดยทีมวิจัยเป็นผู้วิเคราะห์ตรวจสอบคุณภาพ และร่วมคัดเลือกสูตรตำรับที่ใช้ การวิเคราะห์คุณภาพเมลาโทนินสำหรับงานวิจัย ดำเนินการโดยทีมวิจัยตามมาตรฐานสากลของยา โดยปรับจากมาตรฐานสหรัฐอเมริกา (USP) เนื่องจาก ยังไม่มีการกำหนดมาตรฐานของเมลาโทนิน การวิเคราะห์คุณภาพพิจารณาในเรื่องความแตกต่างของน้ำหนักแต่ละแคปซูล (weight variation) ปริมาณยาในแต่ละแคปซูล (content uniformity) การวิเคราะห์ปริมาณยาเฉลี่ย (assay) และ ความสามารถในการละลายของยา (dissolution) ซึ่งคุณภาพทั้งหมดผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานของ USP ดังแสดงในตารางที่ 4

การเตรียมทีมงานวิจัยทางคลินิก

เพื่อให้สามารถดำเนินการวิจัยทางคลินิกตามมาตรฐาน Good Clinical Practice (GCP) นักวิจัยได้เข้าอบรม GCP และ GLP และติดต่อ Family Health International ซึ่งเป็นองค์กรต่างประเทศ ที่ควบคุมคุณภาพการวิจัยทางคลินิกในประเทศไทย เพื่อเป็นที่ปรึกษาและให้คำแนะนำในการเตรียมความพร้อมก่อนเริ่มงานวิจัย จากนั้นได้ติดต่อประสานงานกับเจ้าหน้าที่โรงพยาบาล ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานวิจัย รวมทั้งเตรียมเอกสาร และ Standard Operating Procedure (SOP) สำหรับการวิจัยทางคลินิก เพื่อให้งานวิจัยมีคุณภาพตามมาตรฐานสากล โดยมีผู้ช่วยวิจัย 1 คน ที่ช่วยในส่วนการติดตามผู้ป่วย และการเก็บตัวอย่างเลือดและน้ำลายตามเวลาที่กำหนด

ตารางที่ 4 คุณภาพของผลิตภัณฑ์เมลาโทนินที่ใช้ในงานวิจัย

	USP regulation	Melatonin 10 mg	Melatonin 20 mg	Comment
Weight variation %label (RDS)	Within 85-115% label claim and RDS < 6%	100.10 (0.98)	100.13 (1.04)	Pass
Content uniformity % label (RDS)	Within 85-115% label claim and RDS < 6%	93.36 (2.08)	100.13 (1.04)	Pass
Assay (mg)	No USP monograph*	10.33	19.70	Pass
Dissolution	Q + 5% within 20-30 mins, Q = 75%	>85% in 20 mins	>85% in 20 mins	Pass

* As there is no USP monograph for melatonin, US Pharmacopeia 29/NF 24 2006 Asian Edition *Validation of Compendial Methods <1225>* was followed for assay requirements.

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา

มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาจำนวน 30 คน โดยแบ่งเป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มเมลาโทนิน 10 มิลลิกรัม และกลุ่มเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม อย่างละ 10 คน ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่มไม่แตกต่างกัน โดยผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ย 55 ปี เป็นเพศชายร้อยละ 60 จบการศึกษาในระดับประถมร้อยละ 67 และส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยมะเร็งปอด (93%) ได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดสูตร platinum-based เป็นส่วนใหญ่ (97%) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (83%) มีความสามารถในการปฏิบัติกิจกรรม (ECOG score) เท่ากับ 1 นั่นคือ สามารถปฏิบัติกิจกรรมทั่วไปได้ แต่ทำกิจกรรมที่ใช้แรงงานมากไม่ได้ ผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่มรายงานคะแนนคุณภาพชีวิตไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยบางส่วนรายงานอาการเหนื่อยเพลีย น้ำหนักลด และเบื่ออาหารตั้งแต่มิได้รับการรักษา แต่ไม่มีรายงานภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ เม็ดเลือดแดงต่ำ และคลื่นไส้ อาเจียน (ตารางที่ 5)

ผลของเมลาโทนินต่อระดับความเครียดออกซิเดชันในผู้ป่วย

โครงการวิจัยได้วางแผนตรวจระดับความเครียดออกซิเดชัน โดยใช้ 2 ตัวชี้วัด คือ ปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) และ 8-isoprostane (8-epi-PGF_{2α}) ในปัสสาวะ แต่ภายหลังมีปัญหาความไม่พร้อมของเครื่องมือ HPLC ที่กำหนดสำหรับวัด ปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) จึงได้เปลี่ยนมาเป็นการวัดระดับ Malondialdehyde (MDA) ในพลาสมาแทน ซึ่งผลการศึกษาในผู้ป่วย 13 คนที่มีตัวอย่างพลาสมา พบว่า 10 คนได้รับเมลาโทนิน 10 มิลลิกรัม 4 คนได้รับเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม และ 4 คนได้รับยาหลอก เมื่อเปรียบเทียบผล MDA ที่เคมีบำบัดคอร์สที่ 3 (หรือหลังการรักษาด้วยเมลาโทนิน 2 เดือน) กับก่อนการรักษา พบว่าเมลาโทนินลดระดับ MDA ได้ดีกว่ายาหลอก และผลแปรผันตามขนาดเมลาโทนิน โดยลดระดับ MDA ได้เท่ากับ -1.02, -0.85 and -0.61 μmol/L ในกลุ่มเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม เมลาโทนิน 10 มิลลิกรัม และ ยาหลอกตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ 8-isoprostane ในปัสสาวะแสดงข้อมูลคล้ายกับผล MDA โดยพบว่า ระดับ 8-isoprostane ในปัสสาวะของผู้ป่วยเพิ่มขึ้นมากกว่า 12 เท่าหลังรับเคมีบำบัด โดยเพิ่มจาก 1,030 ± 1,133 pg/mL (1.6 ± 1.6, pg/mL corrected for overnight urine volume) ก่อนการรักษา เป็น 14,135 ± 10,909 (23.8 ± 20.4 corrected) ที่ 1 เดือนหลังการรักษา และ 11,894 ± 4044 (32.8 ± 30.4 corrected) ที่เวลา 2 เดือนของการรักษา ทั้งนี้ เห็นแนวโน้มของการลดระดับ ปริมาณ 8-isoprostane ในกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนินมากกว่ากลุ่มควบคุม แต่ยังไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างไม่เพียงพอ (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 5: ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา (N = 30)

	Placebo (n=10)	MLT 10 mg (n=10)	MLT 20 mg (n=10)	P value†
Age (Mean±SD)	50±8.0	56±14.8	59±9.2	0.227
Male (%)	6 (60)	5 (50)	7 (70)	0.893
Married (%)	8 (89)	8 (80)	8 (80)	1.000
Primary education (%)	7 (78)	7 (70)	6 (60)	0.879
Cancer type: number of patient (%)				
Non-small cell lung cancer	10 (100)	9 (78)	9 (90)	0.396
Metastatic head and neck cancer	0 (0)	0 (0)	1 (10)	
Metastatic tissue sarcoma	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Treatment regimen				
Cisplatin + etoposide	7 (70)	6 (60)	6 (60)	0.662
Carboplatin + paclitaxol	3 (30)	3 (30)	3 (30)	
Adriamycin + ifosphamide	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Cisplatin + 5-fluorouracil	0 (0)	0 (0)	1 (10)	
Adverse events (%)				
Anemia	1 (13)	0 (0)	1 (11)	0.751
Liver dysfunction	1 (13)	1 (11)	2 (22)	1.000
Neuropathy	0 (0)	1 (11)	0 (0)	1.000
Fatigue	7 (87)	5 (56)	5 (62)	0.430
Weight loss	5 (62)	5 (56)	4 (44)	0.885
Anorexia	3 (38)	5 (56)	3 (38)	0.686
Mucositis	0 (0)	2 (22)	0 (0)	0.308
Nausea	0 (0)	2 (22)	1 (11)	0.751
Performance status (%)				
ECOG score = 1	10 (100)	7 (70)	8 (80)	0.19
ECOG score = 2	0 (0)	3 (30)	2 (20)	
Quality of life				
Physical (Mean±SD)	19±4.5	20±5.3	20±7.1	0.885
Social (Mean±SD)	19±3.7	18±5.1	14±3.9	0.066
Emotional (Mean±SD)	17±4.3	17±4.1	19±4.3	0.517
Functioning (Mean±SD)	14±5.5	12±3.7	12±7.9	0.663
Total FACT-G (Mean±SD)	69±12.3	67±11.3	65±17.0	0.836

ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group,

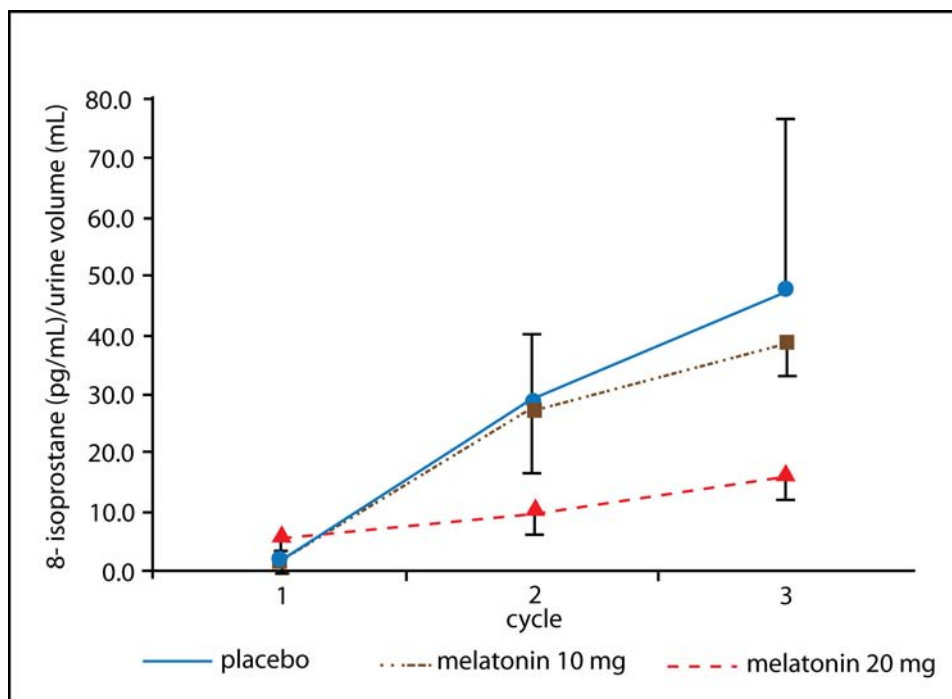
FACT-G = Functional Assessment of Cancer Therapy - General

† Fisher's exact test for categorical data and ANOVA test for numerical data

Quality of life: higher scores means better

ตารางที่ 6 ระดับ MDA ในพลาสมาของผู้ป่วยมะเร็งที่รับเคมีบำบัดคอร์สที่ 1, 2 และ 3

	Plasma MDA level (μmol/L)								
	Melatonin 20 mg			Melatonin 10 mg			Placebo		
	Cycle 1 (N= 4)	Cycle 2 (N= 3)	Cycle 3 (N= 1)	Cycle 1 (N= 5)	Cycle 2 (N= 4)	Cycle 3 (N= 2)	Cycle 1 (N= 4)	Cycle 2 (N= 2)	Cycle 3 (N= 1)
Mean	2.24 ± 1.06	1.95 ± 0.29	1.01	3.39 ± 2.39	1.59 ± 0.28	1.55 ± 0.16	2.52 ± 1.18	1.53 ± 0.09	1.49
Median	2.03	1.81	1.01	2.40	1.57	1.55	2.10	1.52	1.49
(IQR)	(1.34, 3.33)	(1.76, 2.29)	(1.01, 1.01)	(1.91, 5.21)	(1.33, 1.87)	(1.44, 1.67)	(1.69, 3.76)	(1.46, 1.51)	(1.49, 1.49)
Min-Max	1.29 – 3.59	1.76 - 2.29	1.01 - 1.01	1.92 - 7.61	1.30 – 1.92	1.44 - 1.67	1.67 - 4.20	1.46 - 1.59	1.49 - 1.49
Median Diff	C2– C1 -0.22	C3– C2 -0.80	C3– C1 -1.02	C2 – C1 -0.83	C3– C2 -0.02	C3– C1 -0.85	C2 – C1 -0.58	C3– C2 -0.03	C3– C1 -0.61



ภาพที่ 8: กราฟแสดงระดับ 8-isoprostane ของผู้ป่วยในแต่ละคอร์สของเคมีบำบัด (cycle 1-3) โดยเป็นค่าก่อนรับเคมีบำบัด (cycle 1) และหลังรับเคมีบำบัด 1 เดือน (cycle 2) และ 2 เดือน (cycle 3)

ผลของเมลาโทนินต่ออาการไม่พึงประสงค์จากเคมีบำบัด

กลุ่มที่รับเมลาโทนินมีรายงานอาการไม่พึงประสงค์น้อยกว่ากลุ่มควบคุมในเรื่องอาการเหนื่อยเพลีย เบื่ออาหาร และน้ำหนักลด นอกจากนี้กลุ่มที่รับเมลาโทนินยังมีรายงานอุบัติการณ์น้อยกว่าในเรื่อง ภาวะโลหิตจาง (hemoglobin < 10 g/dL) และน้ำหนักลดมากกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนักก่อนเริ่มการรักษา อย่างไรก็ตาม พบรายงานชาปลายมือปลายเท้าในกลุ่มที่รับเมลาโทนินมากกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 อุตบัติการณัของอาการไม่พึงประสงคัที่รายงานในแตละคอรัสของเคมีบำบัดในแตละกลุ่ม

Adverse events*	Placebo	Melatonin 10 mg	Melatonin 20 mg
Anemia	5	3	7
Mucositis	4	5	4
Neuropathy	1	5	5
Fatigue	21	17	12
Anorexia	16	14	11
Weight loss	12	7	10
Hemoglobin < 10 g/dL	9	6	6
Weight loss > 5%	8	4	3

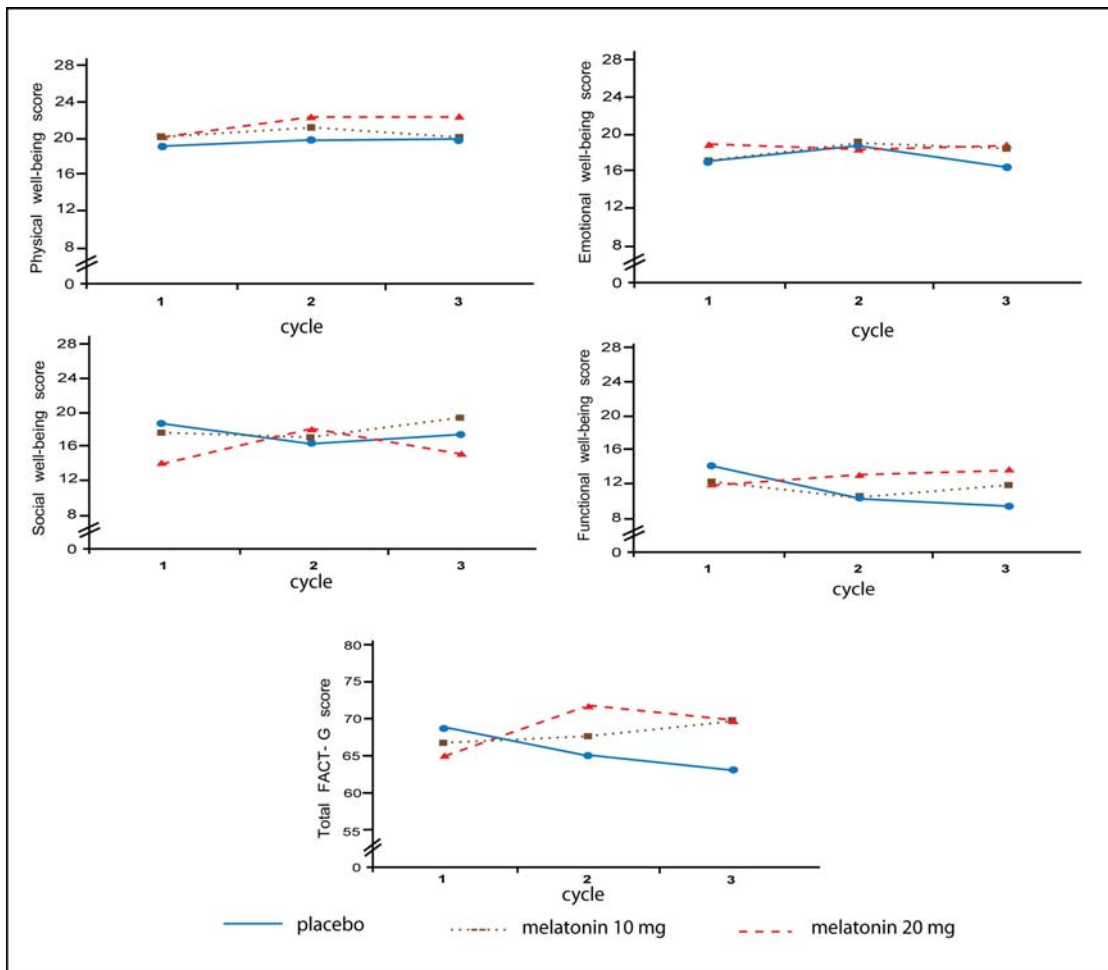
* Report of adverse events by physician-rated CTCAE grading, except hemoglobin < 10 g/dL and weight loss > 5% where laboratory results and actual body weight were used.

ผลของเมลาโทนินต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็ง

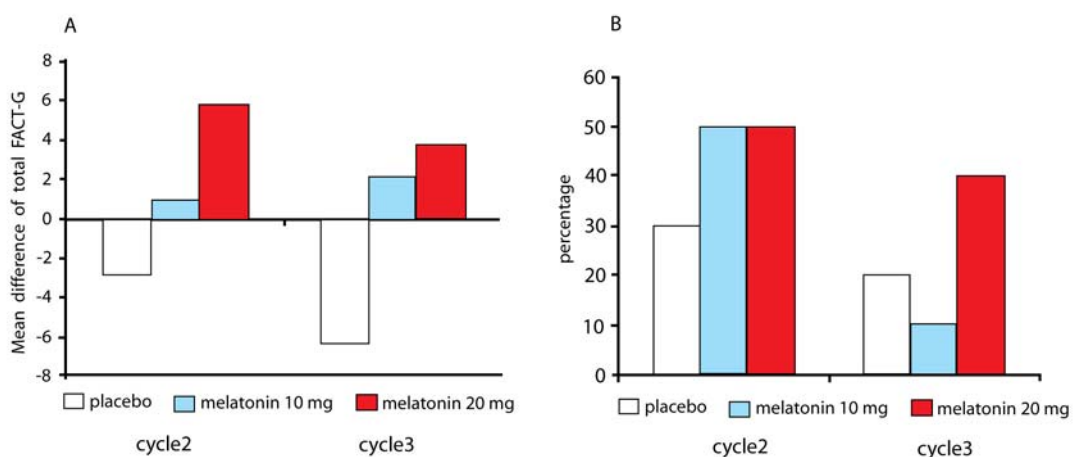
ที่เวลา 1 และ 2 เดือน หลังการรักษาผู้ป่วยในกลุ่มเมลาโทนินรายงานคะแนนคุณภาพชีวิตคงที่หรือดีขึ้น ในขณะที่พบรายงานคุณภาพชีวิตคงที่หรือแย่ลงในกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 9) โดยพบว่าหลังการรักษาที่เวลา 2 เดือน ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของคะแนนรวมคุณภาพชีวิต FACT-G ลดลง 6.3 คะแนน (95% CI; -18.5, 6.0) ในกลุ่มควบคุม แต่เพิ่มขึ้น 2.1 คะแนน (95% CI; -16.9, 21.2) ในกลุ่มที่รับเมลาโทนิน 10 มิลลิกรัม และเพิ่มขึ้น 3.7 คะแนน (95% CI; -4.9, 12.4) ในกลุ่มที่รับเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม (ตารางที่ 8) แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างไม่เพียงพอ และเนื่องจากผู้ป่วยบางส่วนไม่มารับการรักษาที่เวลา 1 และ 2 เดือน จึงไม่มีข้อมูลคุณภาพชีวิตในผู้ป่วยดังกล่าว การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ intention-to-treat โดยกำหนดให้ผู้ป่วยที่ไม่มารับการรักษาคือผู้ที่มิคะแนนคุณภาพชีวิตที่แย่ลง จะเห็นว่าผู้ป่วยที่รับเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัมมีร้อยละของผู้ป่วยที่มีคะแนนรวมคุณภาพชีวิต FACT-G ดีขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งที่เวลา 1 เดือนหลังรับการรักษา (ร้อยละ 50 และร้อยละ 30) และที่เวลา 2 เดือนหลังรับการรักษา (ร้อยละ 40 และร้อยละ 20) ดังแสดงในภาพที่ 10

ผลของเมลาโทนินต่อการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา

การตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาไม่แตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่ม ทั้งนี้ ผู้ป่วยที่มีข้อมูลการรักษาที่ 2 เดือน (หรือเคมีบำบัดคอร์สที่ 3 ของการรักษา) จำนวน 16 คน ไม่พบการตอบสนองแบบ complete response หรือก่อนมะเร็งยุบมากกว่าร้อยละ 50 แต่พบรายงาน partial response หรือก่อนมะเร็งยุบน้อยกว่าร้อยละ 50 จำนวน 4 ราย โดยเป็นกลุ่มเมลาโทนิน 2 ราย และกลุ่มควบคุม 2 ราย นอกจากนี้ ผู้ป่วยจำนวน 4 รายในแต่ละกลุ่มรายงานภาวะโรคคงที่ (stable disease)



ภาพที่ 9: กราฟแสดงค่าคะแนนคุณภาพชีวิตแต่ละมิติและคะแนนรวมคุณภาพชีวิต (FACT-G) ของผู้ป่วยแต่ละกลุ่มที่รายงานในแต่ละคอร์สของเคมีบำบัด (cycle 1- 3)



ภาพที่ 10: กราฟแสดงความแตกต่างของคะแนนรวมคุณภาพชีวิต (FACT-G) เปรียบเทียบกับค่าก่อนรับการรักษา [panel A] และร้อยละของรายงานคะแนนรวมคุณภาพชีวิต (FACT-G) ที่ดีขึ้น (คะแนนเพิ่มขึ้นมากกว่า 5 คะแนนเปรียบเทียบกับก่อนรักษา) หลังการรักษา 1 เดือน (cycle 2) และ 2 เดือน (cycle 3) [panel B]

ตารางที่ 8 คะแนนคุณภาพชีวิตที่รายงานในแต่ละคอร์สของเคมีบำบัด

Quality of life domains	Placebo			Melatonin 10 mg			Melatonin 20 mg		
	Cycle 1 n = 10	Cycle 2 n = 9	Cycle 3 n = 8	Cycle 1 n = 10	Cycle 2 n = 10	Cycle 3 n = 7	Cycle 1 n = 10	Cycle 2 n = 7	Cycle 3 n = 7
Physical	19.1 ± 4.5	19.9 ± 6.3	20.1 ± 5.3	20.2 ± 5.3	21.2 ± 3.9	20.1 ± 5.1	20.2 ± 7.1	22.3 ± 6.6	22.4 ± 5.4
Diff (95% CI)	-	1.2 (-3.7, 6.1)	1.0 (-2.9, 4.9)	-	1.0 (-2.8, 4.8)	-1.0 (-6.6, 4.6)	-	1.9 (-4.1, 7.8)	2.0 (-2.0, 6.0)
Social	18.6 ± 3.7	16.3 ± 5.5	17.4 ± 5.1	17.5 ± 5.1	17.0 ± 3.8	19.4 ± 6.3	14.1 ± 3.9	18.0 ± 4.4	15.1 ± 3.8
Diff (95% CI)	-	-2.3 (-6.0, 1.4)	-1.3 (-4.4, 1.9)	-	-0.5 (-4.2, 3.2)	2.0 (-5.3, 9.3)	-	5.6 (-0.3, 11.5)	2.7 (-2.4, 7.8)
Emotional	17.0 ± 4.3	18.7 ± 3.9	16.3 ± 6.3	17.0 ± 4.1	19.0 ± 3.1	18.4 ± 3.1	18.9 ± 4.3	18.4 ± 5.7	18.6 ± 5.1
Diff (95% CI)	-	1.8 (-0.4, 4.0)	-1.1 (-4.3, 2.0)	-	2.0 (-2.3, 6.3)	2.0 (-2.3, 6.3)	-	-0.7 (-5.3, 3.8)	-0.6 (-2.8, 1.6)
Functioning	14.1 ± 5.5	10.2 ± 4.4	9.4 ± 3.7	12.1 ± 3.7	10.5 ± 5.2	11.7 ± 7.1	11.9 ± 7.9	13.0 ± 6.8	13.6 ± 8.2
Diff (95% CI)	-	-3.6 (-10.5, 3.4)	-4.9 (-11.4, 1.7)	-	-1.6 (-4.8, 1.6)	-0.9 (-5.1, 3.4)	-	-1.0 (-6.1, 4.1)	-0.4 (-4.1, 3.2)
FACT-G	68.8 ± 12.3	65.1 ± 14.9	63.1 ± 15.5	66.8 ± 11.3	67.7 ± 10.9	69.7 ± 19.5	65.1 ± 17.0	71.7 ± 21.8	69.7 ± 21.3
Diff (95% CI)	-	-2.8 (-17.8, 12.0)	-6.3 (-18.5, 6.0)	-	0.9 (-9.0, 10.8)	2.1 (-16.9, 21.2)	-	5.7 (-10.2, 21.7)	3.7 (-4.9, 12.4)

Diff (95% CI) = mean of difference of scores on cycle 2, 3 compared to baseline (95% confident interval)

All comparisons of scores on cycle 2, 3 with those of baseline within group using Paired t-test and between groups using t-test were not significant (p > 0.05).

ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เมลาโทนินในพลาสมา

วิธีการวิเคราะห์เมลาโทนินในพลาสมาที่พัฒนาขึ้นได้มาตรฐานตามเกณฑ์ที่กำหนด ผลการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่างๆแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 11 โดยค่า calibration curve ของเมลาโทนินมีค่า $r^2 = 0.9998$ และวัดความเข้มข้นของเมลาโทนินได้อยู่ในช่วง 7.2–180 ng/mL วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่า detection limit ที่ระดับ 3 ng/mL (3.3 times the signal to noise ratio of 0.011mV) และสามารถวัดความเข้มข้นได้ต่ำสุดถึง 10 ng/mL (10 times the signal to noise ratio) ค่า precision แสดงในตารางที่ 10 โดยวิธีดังกล่าวให้ค่า The intra-day precision ที่ความเข้มข้น 25.2 ng/mL เท่ากับ 3.72% และ inter-day precision เท่ากับ 5.21%

ตารางที่ 11 แสดง accuracy และ precision ซึ่งพบร้อยละ recovery ของเมลาโทนินในพลาสมาที่ความเข้มข้น 7.2, 25.2 และ 90 ng/mL เท่ากับ 101.54%, 96.32% และ 96.27% ตามลำดับ โดยมีค่า Inter-day และ inter-day precision ของเมลาโทนินที่ความเข้มข้น 90 ng/mL เท่ากับ 4.8% และ 5.9% ตามลำดับ นอกจากนี้ ค่า retention time ของ NAS และ เมลาโทนิน อยู่ที่ประมาณ 5 และ 9 นาที ตามลำดับ ทั้งนี้ ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (CV) ของค่า retention time นั้นน้อยกว่า 0.4% โดยสามารถ separate ระหว่าง peak ของ NAS และ เมลาโทนินได้อย่างชัดเจนในค่าการดูดกลืนแสงที่กำหนด (ภาพที่ 12)

ตารางที่ 9. Linearity and range for the determination of melatonin standard

Sample	Melatonin (ng/mL)	Area	Height	Rt (minutes)
1	7.20	10.23	0.27	8.92
2	25.20	41.72	0.89	8.89
3	90.00	164.06	3.05	8.89
4	180.00	343.87	6.57	8.96

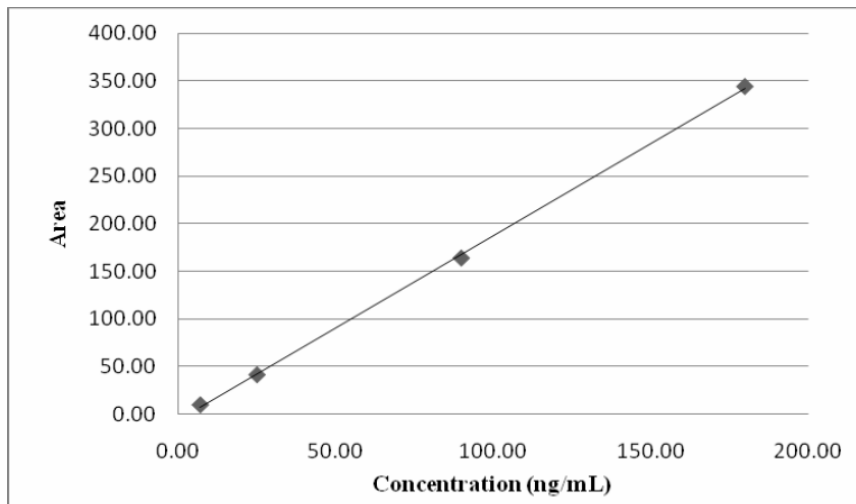
Extraction of melatonin standards in the 7.2-180 ng/mL concentration range.
The linear regression equation is $Y = 1.94X - 6.32$, $r = 0.9998$; and $r^2 = 0.9996$.

ตารางที่ 10. Precision for the determination of melatonin standard

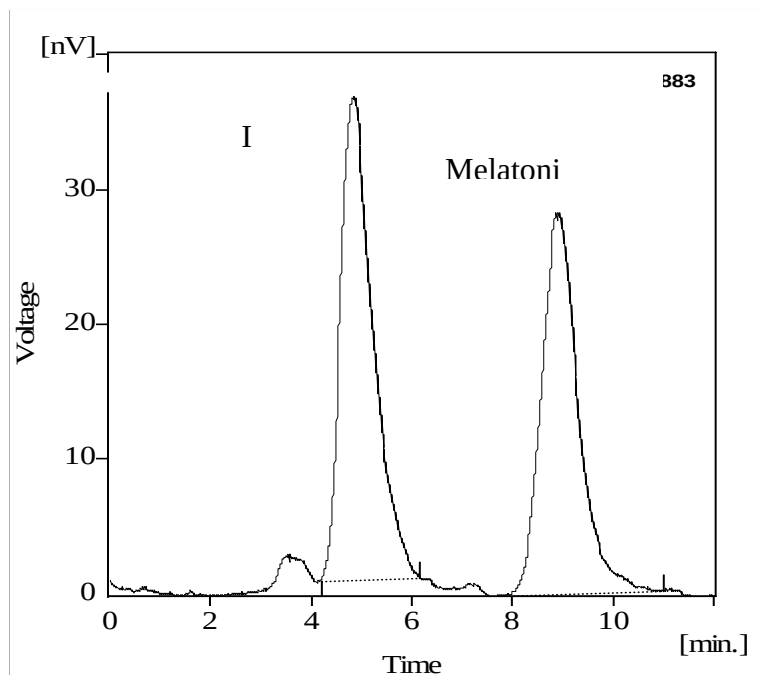
Sample	Area	Height	Rt (minutes)	Melatonin (ng/mL)
1	38.38	0.88	8.93	23.10
2	42.00	0.94	8.88	24.97
3	41.72	0.89	8.89	24.82
4	38.61	0.87	8.94	23.22
5	39.39	0.84	8.93	23.62
%CV	4.31	4.40	0.30	3.72

ตารางที่ 11. Accuracy and precision for the determination of melatonin in plasma

Melatonin added (ng)	Melatonin found (ng)	Melatonin recovery	%CV
7.20 (n=4)	7.31	101.54	6.69
25.20 (n=7)	24.27	96.32	5.21
90.00 (n=12)	86.64	96.27	5.89



ภาพที่ 11. Linearity of peak area versus concentration of extracted melatonin standard



ภาพที่ 12. HPLC chromatogram from extracted melatonin standard in plasma (90 ng/mL). IS is the internal standard.

ผลของระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลาย

แม้ว่าจะได้วิธีการวิเคราะห์ระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลายแล้ว นักวิจัยยังไม่ได้วัดระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลายในตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วย เนื่องจากไม่มีงบประมาณเพียงพอ ส่วนหนึ่งเนื่องจากใช้งบประมาณไปกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ ประกอบกับงบประมาณในส่วนการศึกษาทางคลินิกและการวิเคราะห์ระดับความเครียดออกซิเดชันเป็นค่าใช้จ่ายที่สูงกว่าที่กำหนดไว้ในเบื้องต้น จึงยังไม่สามารถวิเคราะห์วัดระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลายในตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วยได้ในขณะนี้

บทที่ 4 สรุปและวิจารณ์

การศึกษาแสดงให้เห็นว่ากลุ่มที่ได้รับเมลาโทนินร่วมกับการรักษาด้วยเคมีบำบัดตามมาตรฐานมีแนวโน้มของระดับความเครียดออกซิเดชันน้อยกว่า มีรายงานอาการไม่พึงประสงค์น้อยกว่า และมีรายงานคุณภาพชีวิตที่เพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างต่อการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาและอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วย ซึ่งการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่มีรูปแบบการศึกษาแบบ randomized, controlled, double-blind trial ที่มีการศึกษาเมลาโทนินใน 2 ขนาดความแรง และศึกษาระดับความเครียดออกซิเดชันร่วมกับคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ทั้งนี้ ผลการศึกษาเบื้องต้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Lissoni et al. (1992, 2002, 2003) ที่พบอัตราการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ในผู้ป่วยกลุ่มที่รับเมลาโทนินต่ำกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้ การศึกษาที่ผ่านมาถึงรายงานผลของเมลาโทนินในการลดภาวะเครียดออกซิเดชันผ่านตัวชี้วัดหลายตัว รวมถึงระดับ Malondialdehyde (MDA) และระดับ 8-isoprostane แต่การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่รายงานผลในผู้ป่วยที่รับเคมีบำบัด

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาเบื้องต้นยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของตัวชี้วัดต่างๆ เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยยังน้อย จึงยังต้องมีการศึกษาต่อในขนาดตัวอย่างที่ใหญ่ขึ้นเพื่อยืนยันผลการศึกษานี้อีกครั้ง

ปัญหาและอุปสรรค

1. ทุนวิจัยมีงบประมาณจำกัด และไม่เพียงพอกับการทำงานวิจัย นักวิจัยจึงต้องขอทุนวิจัยจากแหล่งทุนอื่นๆ มาช่วยสนับสนุนเพิ่มเติม จึงเสียเวลาในส่วนการประสานงานหาทุน และส่งรายงานค่อนข้างมาก
2. การผลิตเมลาโทนินแคปซูลสำหรับงานวิจัย ใช้วัตถุดิบปริมาณน้อย ในขณะที่โรงงานที่ผลิตมีเครื่องจักรใหญ่ สำหรับภาคอุตสาหกรรม การผลิตใน batch แรก ไม่ผ่านมาตรฐานเนื่องจากปริมาณยาในแต่ละแคปซูล (content uniformity) แตกต่างเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนด ซึ่งในครั้งแรกทีมวิจัยตัดสินใจเริ่มงานวิจัยทางคลินิก เนื่องจากจะยึดผลการวัดระดับยาในเลือด แทนขนาดยาที่รับประทาน ทั้งนี้ พิจารณาจากชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยาที่มีความแตกต่างกันมากในแต่ละบุคคล แต่ภายหลังโรงงานสามารถยืมเครื่องผสมขนาดเล็กจากคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้ จึงได้ส่งวัตถุดิบไปผลิตใหม่ ทำให้การวิจัยทางคลินิกล่าช้าออกไปกว่ากำหนดการเดิม แต่ก็ช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีขึ้น
3. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เมลาโทนินจากตัวอย่างชีวภาพด้วยวิธี HPLC ยังไม่ได้ผลตามเวลาที่กำหนด ส่วนหนึ่งเนื่องจากสารเคมีที่ต้องการใช้มีราคาแพงมาก จึงแก้ปัญหาโดยพัฒนาวิธีใหม่ รวมทั้งสังเคราะห์สารเคมีบางตัวขึ้นใช้เอง อย่างไรก็ตามกระบวนการดังกล่าวใช้เวลามาก ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์เมลาโทนินในตัวอย่างเลือดและน้ำลายของผู้ป่วยในโครงการได้ทัน
4. การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัยเป็นไปได้ช้ากว่าแผนการที่กำหนด ส่วนหนึ่งเนื่องจากได้มีการปรับ protocol ให้เข้มงวดมากขึ้นกว่าโครงการวิจัยที่กำหนดในครั้งแรก โดยเฉพาะในเรื่อง inclusion criteria ทั้งนี้ เพื่อลดอคติหรือปัจจัยกวนอื่นๆ ที่อาจมีผลกระทบต่อผลลัพธ์ของงานวิจัย ซึ่งเบื้องต้น ได้แก้ปัญหาโดยการติดต่อเชิญแพทย์ผู้เชี่ยวชาญโรคปอดเข้าร่วมในงานวิจัย และขยายโรงพยาบาลที่ร่วมโครงการวิจัยออก เพื่อให้สามารถคัดเลือกผู้ป่วยได้มากขึ้น
5. งานวิจัยต้องประสานงานหลายฝ่าย และบุคลากรทางการแพทย์ (แพทย์ พยาบาล เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ) สลับเปลี่ยนหมุนเวียนไปเรื่อยๆ ทำให้ประสานงาน และติดตามงานได้ยาก ในขณะที่

ทั้งงานวิจัยมีความซับซ้อน เนื่องจากต้องติดตามผู้ป่วยเป็นเวลานาน และเวลารับประทานยา และการเก็บตัวอย่างชีวภาพ ต้องเป็นไปตาม protocol ดังนั้น จึงต้องจ้างผู้เชี่ยวชาญในการประสานและติดตามเรื่องดังกล่าว ทำให้มีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น

- 6 การวิจัยทางคลินิกใช้ระยะเวลานาน ทำให้การตีพิมพ์ทำได้ไม่รวดเร็วเหมือนงานวิจัยประเภท basic research ดังนั้น การปิดโครงการโดยพิจารณาจากการตีพิมพ์เพียงอย่างเดียวจึงเป็นไปได้ยากสำหรับงานวิจัยในลักษณะนี้

ความเห็นและข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันมีข้อมูลจำนวนมากที่ยืนยันประสิทธิภาพของเมลาโทนินในการรักษามะเร็ง ทั้งหลักฐานทางห้องปฏิบัติการ สัตว์ทดลอง การศึกษาในคน และ ผลการศึกษาแบบ meta-analysis ซึ่ง protocol ของงานวิจัยนี้ นอกจากเรียนปรึกษากับนักวิจัยที่ปรึกษาของโครงการอย่างต่อเนื่องแล้ว ยังได้มีโอกาสปรึกษากับนักวิจัยต่างประเทศ (Prof. Paolo Lissoni) ซึ่งเป็นนักวิจัยหลักที่ศึกษาการใช้เมลาโทนินในผู้ป่วยมะเร็ง นอกจากนี้ ผลการศึกษาเบื้องต้นในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีก็พบแนวโน้มผลที่ดีเช่นเดียวกัน ดังนั้น โครงการ MIRCIT Trial หากเก็บข้อมูลได้ครบตามกำหนด 174 คน (ซึ่งขยายจำนวนเพิ่มขึ้นจากเดิมที่กำหนด 120 คน เนื่องจากผลการวิเคราะห์เบื้องต้นพบผู้ป่วย loss of follow up จำนวนมาก) คาดว่าจะมีโอกาสตีพิมพ์ค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตาม การวิจัยทางคลินิกใช้ระยะเวลานาน การตีพิมพ์ทำได้ช้าเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยประเภท basic research ดังนั้น การปิดโครงการตามข้อกำหนดของสกว. โดยพิจารณาจากการตีพิมพ์เพียงอย่างเดียวจึงไม่เหมาะสมสำหรับงานวิจัยในลักษณะนี้

ปัญหาสำคัญของการศึกษาเมลาโทนิน คือ เมลาโทนินเป็นฮอร์โมนในร่างกาย และจัดเป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มอาหารเสริมในหลายประเทศ บริษัทฯไม่สามารถจดลิขสิทธิ์เป็นเจ้าของได้ ทำให้ไม่มีทุนสนับสนุนการวิจัยอย่างจริงจังจากบริษัทฯ โดยเฉพาะการศึกษาทางคลินิก ซึ่งต้องใช้เงินหลายสิบล้านเหรียญสหรัฐ ข้อมูลหลักฐานของเมลาโทนินส่วนใหญ่จึงมาจากการศึกษาโดยนักวิชาการ ซึ่งมีทุนวิจัยจำกัด และเป็นการศึกษาขนาดเล็ก นอกจากนี้ ยังไม่มีการขึ้นทะเบียนเมลาโทนินเป็นยา และในขนาดยาที่สูง ในข้อบ่งใช้สำหรับผู้ป่วยมะเร็ง ทำให้แพทย์ไม่มีโอกาสได้รู้จักและใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เป็นผลให้ผู้ป่วยส่วนใหญ่โดยเฉพาะในประเทศไทยที่องค์การอาหารและยากำหนดให้เมลาโทนินจัดเป็นยานั้นเข้าถึงยาไม่ได้

โครงการ MIRCIT Trial อาศัยความอนุเคราะห์ (in kind และ in cash) จากหลายหน่วยงาน ทั้งภาครัฐและเอกชน และได้ขยายความร่วมมือร่วมกับบริษัทเอนเนอร์จี้เฮอร์สเพื่อนำไปสู่การขึ้นทะเบียนเมลาโทนินในประเทศ และประชาชนมีรายได้ โดยได้รับทุนสนับสนุนจาก สกว./สสว. (TRF-MAG) จำนวน 5 ทุน แต่ทุนดังกล่าวก็มีงบประมาณที่จำกัด ซึ่งเพียงพอสำหรับการศึกษาแบบ preliminary เพื่อข้อมูลทางวิชาการ แต่ยังไม่พอสำหรับเป็นข้อมูลขึ้นทะเบียนยา ซึ่งต้องการจำนวนคนเข้าร่วมการศึกษาที่มากขึ้น ซึ่งหมายถึงงบประมาณที่มากขึ้นด้วย ดังนั้น การสนับสนุนอย่างจริงจังจากรัฐบาลจึงมีความจำเป็น เนื่องจากเป็นโครงการที่ใช้งบประมาณมาก โดยเฉพาะหากต้องขยายเป็นการศึกษาใน phase III ซึ่งต้องเป็น multicenter trial โดยเชื่อว่า การสนับสนุนดังกล่าวจากรัฐบาล จะช่วยให้ประเทศไทยมียาที่มีประสิทธิภาพ และราคาถูก ใช้สำหรับผู้ป่วยมะเร็ง และอาจมีผลต่อโรคอื่นๆ ที่กำลังมีการศึกษา แต่ไม่ได้ครอบคลุมในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

Ahmed HH, Mannaa F, Elmegeed GA, Doss SH. Cardioprotective activity of melatonin and its novel synthesized derivatives on doxorubicin-induced cardiotoxicity. <i>Bioorg Med Chem</i> 2005; 13(5):1847-57.
Aldhous M, Franey C, Wright J and Arendt J. Plasma concentrations of melatonin in man following oral absorption of different preparations. <i>Br. J. Clin. Pharmacol.</i> 1985; 19;4:517-521.
Anon. Amifostine Protects a Broad Range of Normal Tissues From Chemotherapy- and Radiotherapy-Associated Toxicity. <i>Drug Ther Perspect</i> 2001; 17(21):1-5
Arendt J. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. London, Chapman Hall, 1995.
Aydin G, Ozcelik N, Cicek E, Soyoz M. Histopathologic changes in liver and renal tissues induced by Ochratoxin A and melatonin in rats. <i>Hum Exp Toxicol</i> 2003; 22(7):383-91.
Balli E, Mete UO, Tuli A, Tap O, Kaya M. Effect of melatonin on the cardiotoxicity of doxorubicin. <i>Histol Histopathol</i> 2004; 19(4):1101-8.
Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M <i>et al.</i> Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. <i>Neurochem Int</i> 1995; 26(5):497-502.
Bartsch C, Kvetnoy I, Kvetnaia T <i>et al.</i> Nocturnal urinary 6-sulfatoxymelatonin and proliferating cell nuclear antigen-immunopositive tumor cells show strong positive correlations in patients with gastrointestinal and lung cancer. <i>J Pineal Res</i> 1997; 23(2):90-6.
Bechgaard E, Lindhardt K, Martinsen L. Intranasal absorption of melatonin in vivo bioavailability study. <i>Int. J. Pharm.</i> 1999;182, 1–5.
Benes L, Claustrat B, Horriere F, Geoffriau M, Konsil J, Parrot KA, DeGrande G, McQuinn RL, Ayres JW. Transmucosal, oral controlled-release, and transdermal drug administration in human subjects: a crossover study with melatonin. <i>J. Pharm. Sci.</i> 1997; 86, 1115–1119.
Bettahi I, Pozo D, Osuna C, Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Guerrero JM. Melatonin reduces nitric oxide synthase activity in rat hypothalamus. <i>J Pineal Res</i> 1996; 20(4):205-10.
Blanchard B, Pompon D, Ducrocq C. Nitrosation of melatonin by nitric oxide and peroxynitrite. <i>J Pineal Res</i> 2000; 29(3):184-92.
Blask DE, Lemus-Wilson AM, Wilson ST, et al: Neurohormonal modulation of cancer growth by pineal melatonin, in Touitou Y, Arendt J, Pevet P (eds): Melatonin and the Pineal Gland: From Basic Science to Clinical Application. Amsterdam, the Netherlands, Elsevier,1993, pp 303-310.
Bondy SC, Lahiri DK, Perreau VM et al. Retardation of brain aging by chronic treatment with melatonin. <i>Ann N Y Acad Sci</i> 2004; 1035:197-215.
Bromme HJ, Morke W, Peschke D, Ebelt H, Peschke D. Scavenging effect of melatonin on hydroxyl radicals generated by alloxan. <i>J Pineal Res</i> 2000; 29(4):201-8.
Brown EN, Choe Y, Shanahan TL, et al: A mathematical model of diurnal variations in human plasma melatonin levels. <i>Am J Physiol</i> 1997; 272:506-516.
Bubenik GA, Blask DE, Brown GM et al. Prospects of the clinical utilization of melatonin. <i>Biol Signals Recept</i> 1998; 7(4):195-219.
Buhlmann Laboratories AG. (2005). www.buhlmann.ch Last visited 18/11/48.

Cagnoli CM, Atabay C, Kharlamova E, Manev H. Melatonin protects neurons from singlet oxygen-induced apoptosis. <i>J Pineal Res</i> 1995; 18(4):222-6
Cella DF, Tulskey DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, et al. The Functionnal Assessment of Cancer Therapy scale: development and validation of the general measure. <i>J Clin Oncol</i> 1993; 11(3):570-9.
Claustrat B, Brun J, Garry P, et al: A once-repeated study of nocturnal plasma melatonin patterns and sleep recordings in six normal young men. <i>J Pineal Res</i> 1986; 3:301-310.
D'Argenio, D.Z. and A. Schumitzky. ADAPT II User's Guide: Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Systems Analysis Software. Biomedical Simulations Resource, Los Angeles, 1997.
Dawson D, Rogers NL, van den Heuvel CJ, Kennaway DJ, Lushington K. Effect of sustained nocturnal transbuccal melatonin administration on sleep and temperature in elderly insomniacs. <i>J. Biol. Rhythms</i> 1998; 13,532–538.
Daya S, Walker RB, Glass BD, Anoopkumar-Dukie S. The effect of variations in pH and temperature on stability of melatonin in aqueous solution. <i>J Pineal Res.</i> 2001 Sep;31(2):155-8.
DeMuro RL, Nafziger AN, Blask DE, Menhinick AM and Bertino JS. The Absolute Bioavailability of Oral Melatonin. <i>Clin. Pharmacolog.</i> 2000; 40:781-784.
Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez M, Ferrer-Hita J, Vargasa M and Reiter RJ. Elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and impaired nocturnal synthesis of melatonin in patients with myocardial infarction. <i>Atherosclerosis</i> 2005; 180:101–105.
Dziegiel P, Jethon Z, Suder E et al. Role of exogenous melatonin in reducing the cardiotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. <i>Exp Toxicol Pathol</i> 2002; 53(6):433-9
Dziegiel P, Suder E, Surowiak P et al. Role of exogenous melatonin in reducing the nephrotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. <i>J Pineal Res</i> 2002; 33(2):95-100.
Epstein FH. (1997). Melatonin in Humans. <i>The New England Journal of Medicine</i> 336;3:186-195.
Fourtillan JB, Brisson AM, Gobin P, Ingrand I, Decourt JP, Girault J. Bioavailability of melatonin in humans after day-time administration of D(7) melatonin. <i>Biopharm Drug Dispos.</i> 2000 Jan;21(1):15-22.
Frazer S, Cowen P, Franklin M, Franley C and Ardent J. Direct Radioimmunoassay for Melatonin in Plasma. <i>Clinical Chemistry.</i> 1983; 29;2:396-397.
Genovese T, Di Paola R, Mazzon E, Muia C, Caputi AP, Cuzzocrea S. Melatonin limits lung injury in bleomycin treated mice. <i>J Pineal Res</i> 2005; 39(2):105-12.
Gitto E, Tan DX, Reiter RJ <i>et al.</i> Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. <i>J Pharm Pharmacol</i> 2001; 53(10):1393-401.
Gutteskin F, Delitas N, Yasar S, et al: In vivo changes in antioxidant systems and of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. <i>Arch Toxicol</i> 2001; 75:88-96.
Hara M, Yoshida M, Nishijima H et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. <i>J Pineal Res</i> 2001; 30(3):129-38.

Harumi T and Matsushima S.. Review: Separation and assay methods for melatonin and its precursors. <i>Journal of Chromatography B</i> . 2000; 747:95–110.
Iguchi H, Kato JI, Ibayashi H: Melatonin serum levels and metabolic clearance rate in patients with liver cirrhosis. <i>J Clin Endocrinol Metab</i> 1982; 54:1025-1027.
Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, Yegen BC, Sener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. <i>J Pineal Res</i> 2003; 34(4):282-7
Kandimalla KK, Kanikkannan N, Singh M. Optimization of a vehicle mixture for the transdermal delivery of melatonin using artificial neural networks and response surface method, <i>J. Controlled Release</i> 1999; 61, 71–82.
Kikwai L, Kanikkannan N, Babu RJ, Sing M. Effect of vehicles on the transdermal delivery of melatonin across porcine skin in vitro. <i>J. Controlled Release</i> 2002; 83, 307–311.
Kim C, Kim N, Joo H et al. Modulation by melatonin of the cardiotoxic and antitumor activities of adriamycin. <i>J Cardiovasc Pharmacol</i> 2005; 46(2):200-10.
Kocak G, Erbil KM, Ozdemir I et al. The protective effect of melatonin on adriamycin-induced acute cardiac injury. <i>Can J Cardiol</i> 2003; 19(5):535-41.
Konsil J. Formulation and Pharmacokinetics of Melatonin. PhD. Thesis, Oregon State University, 1997.
Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. <i>J Pineal Res</i> 1998; 24(2):83-9.
Kovacs J, Brodnrr W, Kirchlechner V, Arif T, and Waldhauser F. Measurement of Urinary Melatonin: A Useful Tool for Monitoring Serum Melatonin after Its Oral Administration. <i>The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism</i> (2000); 85;2:666-670.
Lagana A, Marino A, Fago G, Pardo-Martinez B and Bizzarrii M. Sensitive assay for melatonin in human serum by liquid chromatography. <i>Analytica Chemica Acta</i> . 1995; 316:377-385.
Lane, E. A.; Moss, H. B. Pharmacokinetics of melatonin in man: first pass hepatic metabolism. <i>J. Clin. Endocrinol. Metab</i> . 1985, 61, 1214-1216
Lee BJ, Parrott KA, Ayres JW, Sack RL Preliminary evaluation of transdermal delivery of melatonin in human subjects. <i>Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol</i> . 1994; 85:337–346.
Leon J, Acuna-Castroviejo D, Sainz RM, Mayo JC, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin and mitochondrial function. <i>Life Sci</i> 2004; 75(7):765-90.
Leon J, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. <i>J Pineal Res</i> 2005; 38(1):1-9.
Lissoni P, Barni S, Tancini G <i>et al</i> . Role of the pineal gland in the control of macrophage functions and its possible implication in cancer: a study of interactions between tumor necrosis factor-alpha and the pineal hormone melatonin. <i>J Biol Regul Homeost Agents</i> 1994; 8(4):126-9.
Lissoni P, Paolorossi F, Tancini G <i>et al</i> . Is there a role for melatonin in the treatment of neoplastic cachexia? <i>Eur J Cancer</i> 1996; 32A(8):1340-3.
Lissoni P, Tancini G, Barni S <i>et al</i> . Treatment of cancer chemotherapy-induced toxicity with the pineal hormone melatonin. <i>Support Care Cancer</i> 1997; 5(2):126-9.

Lissoni P, Barni S, Mandala M <i>et al.</i> Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status. <i>Eur J Cancer</i> 1999; 35(12):1688-92.
Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care? <i>Support Care Cancer</i> 2002; 10(2):110-6.
Lissoni P, Chilelli M, Villa S, Cerizza L, Tancini G. Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial. <i>J Pineal Res</i> 2003; 35(1):12-5.
Liu X, Chen Z, Chua CC <i>et al.</i> Melatonin as an effective protector against doxorubicin-induced cardiotoxicity. <i>Am J Physiol Heart Circ Physiol</i> 2002; 283(1):H254-63.
Ludemann P, Zwernemann S and Lerchl A. Clearance of melatonin and 6-sulfatoxymelatonin by hemodialysis in patients with end-stage renal disease. <i>J. Pineal Res.</i> 2001; 31:222–227.
Machin D, Campbell MJ, Fayers PM, Pinol APY Table 5.3 In <i>Sample Size Tables for Clinical Studies</i> , Blackwell Science Ltd., 1997, 18-60 ¹
Majsterek I, Gloc E, Blasiak J, Reiter RJ. A comparison of the action of amifostine and melatonin on DNA-damaging effects and apoptosis induced by idarubicin in normal and cancer cells. <i>J Pineal Res</i> 2005; 38(4):254-63.
Malhotra S, Sawhney G, Pandhi P. The therapeutic potential of melatonin: a review of the science. <i>MedGenMed</i> 2004; 6(2):46.
Mallo C, Zaidan R, Galy G, <i>et al</i> : Pharmacokinetics of melatonin in man after intravenous infusion and bolus injection. <i>Eur J Clin Pharmacol</i> 1990; 38:297-301.
Meeking DR, Wallace JD, Cuneo RC. Forsling M and Russell-Jones DL. Exercise induced GH secretion is enhanced by the oral ingestion of melatonin in healthy adult male subjects. <i>European Journal of Endocrinology</i> 1999; 141:22-26.
Merck Index, 12, 5857, 1996
Mills E, Wu P, Seely D, Guyatt G. Melatonin in the treatment of cancer: a systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis. <i>J Pineal Res</i> 2005; 39(4):360-6.
Montgomery DC. Experiments with a Single Factor: The Analysis of Variance in Design and Analysis of Experiments in Design and Analysis of Experiments, 4 th , John Wiley & Sons, Inc., 2001, pages 107 – 110.
Montilla P, Tunez I, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin: effect of melatonin administration. <i>Nephron</i> 1997; 76(3):345-50.
Montilla P, Cruz A, Padillo FJ <i>et al.</i> Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra-hepatic bile duct ligation in rats. <i>J Pineal Res</i> 2001; 31(2):138-44.
Morishima I, Matsui H, Mukawa H <i>et al.</i> Melatonin, a pineal hormone with antioxidant property, protects against adriamycin cardiomyopathy in rats. <i>Life Sci</i> 1998; 63(7):511-21.
Noda Y, Mori A, Liburdy R, Packer L. Melatonin and its precursors scavenge nitric oxide. <i>J Pineal Res</i> 1999; 27(3):159-63.
Nordlund JJ, Lerner AB: The effects of oral melatonin on skin color and on the release of pituitary hormones. <i>J Clin Endocrinol Metab</i> 1977; 45:768-774.

Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GG <i>et al.</i> Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. <i>Neurochem Int</i> 1998; 32(1):69-75.
Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. <i>Life Sci</i> 1994; 55(15):PL271-6.
Pratheepawanit N, Phunmanee A, Sookprasert A, Lertsinudom S, Weerareeyakul T. Quality of Life in Thai Cancer Patients: Validation of an Interview-administered FACT-G. <i>Quality of Life Newsletter</i> 2002; 29: 17-18.
Pratheepawanit N, Lerkiatbundit S, Thienthong S, Krisanaprakornkit W, Limwattananon C, Pakkhem A. Validation of FACT-G (Thai version) in low literate patients. <i>Patient Reported Outcomes</i> 2005; 34: 9-10.
Ratanatharathorn V <i>et al.</i> Quality of Life, Functional Assessment of Cancer Therapy-General. <i>J Med Assoc Thai</i> 2001; 84:1430-1442.
Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. <i>Eur J Endocrinol</i> 1996; 134(4):412-20.
Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. <i>Life Sci</i> 1997; 60(25):2255-71.
Reiter RJ, Tan DX, Acuna-Castroviejo D, <i>et al.</i> Melatonin: Mechanisms and actions as an antioxidant. <i>Curr Topics Biophys</i> 2000; 24:171-183.
Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. <i>Ann N Y Acad Sci</i> 2001; 939:200-15.
Rock E, DeMichele A. Nutritional Approaches to Late Toxicities of Adjuvant Chemotherapy In Breast Cancer Survivors. <i>Nutr Mngt Chemother Toxicity</i> 2003; 133:3785s-3793s
Rogers NL, Phan O, Kennaway DJ, Dawson D. Effect of daytime oral melatonin administration on neurobehavioral performance in humans. <i>J Pineal Res</i> 1998; 25(1):47-53.
Sahna E, Parlakpınar H, Ozer MK, Ozturk F, Ozugurlu F, Acet A. Melatonin protects against myocardial doxorubicin toxicity in rats: role of physiological concentrations. <i>J Pineal Res</i> 2003; 35(4):257-61.
Sebra MLV, Bignotto M, Pinto LR Jr, <i>et al.</i> Randomized, double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. <i>J Pineal Res</i> 29:193-200, 2000 <i>Res</i> 2000; 29:34-39.
Sener G, Satioglu H, Kabasakal L <i>et al.</i> The protective effect of melatonin on cisplatin nephrotoxicity. <i>Fundam Clin Pharmacol</i> 2000; 14(6):553-60.
Sener G, Sehirli O, Yegen BC, Cetinel S, Gedik N, Sakarcan A. Melatonin attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats. <i>J Pineal Res</i> 2004; 37(1):17-25.
Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiorri D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin. <i>Hepatogastroenterology</i> 1996; 43(10):898-905.
Shida CS, Castrucci AM, Lamy-Freund MT. High melatonin solubility in aqueous medium. <i>J Pineal Res.</i> 1994 May;16(4):198-201.
Silman RE. Melatonin: a contraceptive for the nineties. <i>Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol</i> 1993; 49(1-2):3-9.

Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Maestroni GJ, Esquifino AI, Hardeland R, Cardinali DP. Role of melatonin in neurodegenerative diseases. <i>Neurotox Res</i> 2005; 7(4):293-318.
Szmuszkowicz J, Anthony WC, Heinzelman RV Synthesis of N-acetyl-5-methoxytryptamine. <i>J Org. Chem</i> 1960; 25:857-9.
Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, et al. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. <i>Endocrine J</i> 1993; 1:57-60.
Vakkuri O, Leppaluoto J, Kauppila A. Oral Administration and distribution of melatonin in human serum, saliva and urine. <i>Life Science</i> 1985; 5;37:488-495.
Vijayalaxmi CRT, Reiter R.J. and Herman TS. Melatonin: From Basic Research to Cancer Treatment Clinics. <i>J. Clin. Oncol.</i> 2002; 20,10: 2575-2601.
Vijayalaxmi CRT, Reiter RJ, Tan DX, Herman TS, Thomas CR Jr., Melatonin As A Radioprotective Agent: A Review. <i>Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.</i> , 2004; 59:3:639–653,
Wahab MH, Akoul ES, Abdel-Aziz AA. Modulatory effects of melatonin and vitamin E on doxorubicin-induced cardiotoxicity in Ehrlich ascites carcinoma-bearing mice. <i>Tumori</i> 2000; 86(2):157-62.
Wei-Li Di, A. Kadva, A. Johnston and R. Silman. Variable Bioavailability of Oral Melatonin. <i>New England Journal of Medicine</i> 1997; 336;14:1028-1029.
Xu MF, Tang PL, Qian ZM, Ashraf M. Effects by doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals. <i>Life Sci</i> 2001; 68(8):889-901.
Xu M, Ashraf M. Melatonin protection against lethal myocyte injury induced by doxorubicin as reflected by effects on mitochondrial membrane potential. <i>J Mol Cell Cardiol</i> 2002; 34(1):75-9.
Yale University 2005. Yale and Medicine, 1951-2001. Lerner A. http://info.med.yale.edu/library/exhibits/yalemed3/1971-1981.html Last accessed 29/11/48
Yeleswaram K, McLaughlin LG, Knipe JO, Schabdach D. J Pharmacokinetics and oral bioavailability of exogenous melatonin in preclinical animal models and clinical implications. <i>Pineal Res.</i> 1997 Jan;22(1):45-51.

Output จากโครงการวิจัย

- 1 ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ - ไม่มี
หมายเหตุ ผลงานวิจัยที่ได้รับทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.-สกว.นั้น เป็นส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มตัวอย่าง 30 คน ซึ่งได้ submit ไปยังวารสารต่าง ๆ จำนวน 4 ครั้ง แต่ไม่ได้รับการตอบรับด้วยเหตุผลเดียวกัน คือ กลุ่มตัวอย่างน้อยเกินไป อย่างไรก็ตาม นักวิจัยได้ขอทุนสนับสนุนจากหน่วยงานต่าง ๆ จึงสามารถการเก็บข้อมูลต่อได้ และได้ขยายจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นจากเดิมที่กำหนด 120 คน เป็น 174 คน เนื่องจากผลการวิเคราะห์เบื้องต้นพบผู้ป่วย loss of follow up จำนวนมาก ปัจจุบันมีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาแล้ว 170 คน ดังนั้น นักวิจัยจึงได้รอเก็บข้อมูลให้ครบ 174 ก่อนวิเคราะห์ข้อมูลอีกครั้ง แต่เนื่องจากต้องติดตามผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 6 เดือน จึงคาดว่าจะพร้อมส่งตีพิมพ์ได้อีกครั้งประมาณเดือนพฤศจิกายน 2554
- 2 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 - 2.1 เชิงพาณิชย์ (มีการนำไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ)
 - 2.1.1 ร่วมพัฒนาสูตรตำรับและทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์เมลาโทนินแคปซูล 10 และ 20 มิลลิกรัมกับบริษัทเอนเนอร์จี้ดราฟท์เฮาส์สำหรับใช้ในการวิจัย ซึ่งนำไปสู่ความร่วมมือในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ผ่านทุนความร่วมมือ TRF-MAG โดยล่าสุดบริษัทเอนเนอร์จี้ดราฟท์เฮาส์ได้ยื่นหลักฐานผลิตภัณฑ์เมลาโทนินไปยังองค์การอาหารและยา ประเทศไทย เพื่อขอขึ้นทะเบียนเมลาโทนินสำหรับเป็นยาเพื่อใช้ในการผู้ป่วยมะเร็งเมื่อเดือน กุมภาพันธ์ 2554 และอยู่ระหว่างรอผลการพิจารณา
 - 2.2 เชิงนโยบาย (มีการกำหนดนโยบายอิงงานวิจัย/เกิดมาตรการใหม่/เปลี่ยนแปลงระเบียบข้อบังคับหรือวิธีทำงาน)
 - 2.3 เชิงสาธารณะ (มีเครือข่ายความร่วมมือ/สร้างกระแสความสนใจในวงกว้าง) - มีเครือข่ายความร่วมมือที่เพิ่มขึ้น และได้พัฒนามาเป็นกลุ่มวิจัยเมลาโทนิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีพ.ศ. 2551 ปัจจุบันมีทีมนักวิจัยในกลุ่มวิจัยกว่า 30 คน ที่มีประสบการณ์และความเชี่ยวชาญจากหลายสาขา และได้รับทุนสนับสนุนจากหลายหน่วยงาน ดังนี้
 - 2.3.1 ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (สกว.- สว.) เรื่อง ชีวประสิทธิผลของเมลาโทนิน 10 และ 20 มิลลิกรัมแคปซูล สัญญาเลขที่ MRG-OSMEP505S084 จำนวน 300,000 บาท
 - 2.3.2 ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (สกว.- สว.) เรื่อง ประสิทธิภาพของเมลาโทนินในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี สัญญาเลขที่ MRG-OSMEP505S083 จำนวน 300,000 บาท
 - 2.3.3 บริษัทเอนเนอร์จี้ดราฟท์เฮาส์ โดยร่วมทุนวิจัย (cofunding) เพื่อศึกษาชีวประสิทธิผลของเมลาโทนินแคปซูลขนาด 10 และ 20 มิลลิกรัม จำนวน 580,000 บาท
 - 2.3.4 ทุนสนับสนุนกิจกรรมกลุ่มวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 20,000 บาท โดยได้จัดตั้งกลุ่มวิจัยเมลาโทนินมาเป็นระยะเวลา 1 ปี ในปี 2550
 - 2.3.5 ทุนกลุ่มวิจัยเมลาโทนิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นจำนวนเงิน 1 ล้านบาทต่อปี ตั้งแต่ปี 2551
 - 2.3.6 ทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 ชื่อแผนงานวิจัยพัฒนาและทดสอบอนุพันธ์เมลาโทนินเพื่อใช้เสริมฤทธิ์การต้านมะเร็ง

และลดอาการข้างเคียงของเคมีบำบัด รวมงบประมาณทั้งสิ้น 675,000 บาท (3 โครงการย่อย)

- 2.3.7 ทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ชื่อแผนงานวิจัยพัฒนาและทดสอบอนุพันธ์เมลลาโทนินเพื่อใช้เสริมฤทธิ์การต้านมะเร็ง และลดการอักเสบ รวมงบประมาณทั้งสิ้น 395,000 บาท (2 โครงการย่อย)
- 2.3.8 ทุน สกว.-อุตสาหกรรม (TRF-MAG Window I) ปี 2552 ชื่อโครงการวิจัย ทดสอบคุณภาพและความคงตัวของเมลลาโทนินแคปซูลและฉีดเข้าหลอดเลือดดำ รวมงบประมาณทั้งสิ้น 300,000 บาท
- 2.3.9 ทุน สกว.-อุตสาหกรรม (TRF-MAG Window I) ปี 2552 ชื่อโครงการวิจัย เกล็ดชิลนศาสตร์-เภสัชพลศาสตร์ของเมลลาโทนินในระบบนำส่งทางจมูก รวมงบประมาณทั้งสิ้น 300,000 บาท
- 2.3.10 ทุนสกว. ชุดโครงการ Thai fruits – functional fruits ปี 2552 สำนักงานประสานงานวิจัยและพัฒนา การเพิ่มคุณค่าสมุนไพรบวजर ชื่อโครงการวิจัย ระดับซัลฟาเมทอกซีเมลลาโทนินในปัสสาวะหลัง รับประทานผลไม้ไทย รวมงบประมาณทั้งสิ้น 672,870 บาท
- 2.3.11 ทุนสกว. ชุดโครงการ Thai fruits – functional fruits ปี 2553 สำนักงานประสานงานวิจัยและพัฒนา การเพิ่มคุณค่าสมุนไพรบวजर ชื่อโครงการระดับ เมลลาโทนินหลังรับประทานผลไม้ไทย (อยู่ระหว่างแก้ไขโครงการตามข้อเสนอแนะ)
- 2.3.12 ทุนสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ปี 2554 แผนงานวิจัยนวัตกรรมผลิตภัณฑ์เมลลาโทนินเพื่อเสริมประสิทธิภาพการรักษาและเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโรคมะเร็ง (อยู่ระหว่างรอผลการพิจารณาหลังแก้ไขแผนงานตามข้อเสนอแนะ)
- 2.4 เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่)
 - 2.4.1 จากความร่วมมือกับ Family Health International ซึ่งได้ช่วยเตรียมความพร้อมก่อนเริ่มงานวิจัย เพื่อให้ทำงานวิจัยทางคลินิกตามมาตรฐานสากล Good Clinical Practice นั้น ได้นำไปสู่การพัฒนาการฝึกงานการวิจัยทางคลินิก (Clinical Research Clerkship) ร่วมกับ Family Health International โดยนักศึกษาได้ฝึกงานจริงจาก MIRCIT Trial และงานวิจัยอื่นที่ Family Health International ดูแล โดยเริ่มการฝึกงานตั้งแต่ในปีพ.ศ. 2550 จนถึงปัจจุบัน มีนักศึกษาปริญญาตรีเภสัชศาสตร์ทั้งจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น และ University of Washington – Seattle มาฝึกงานแล้วกว่า 15 คน
 - 2.4.2 การจัดตั้งกลุ่มวิจัยเมลลาโทนิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น มีนักวิจัยที่จบปริญญาเอกภายใน 5 ปี เข้าร่วมงานวิจัยด้วย จำนวน 4 คน
 - 2.4.3 ได้รับทุนสนับสนุนจากหน่วยงานต่างๆ ซึ่งนำไปสู่การสร้างนักวิจัยใหม่ ผ่านทางนักศึกษาปริญญาโท และปริญญาเอกจำนวน 7 คน

3 อื่นๆ

- 3.1 ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ เป็นวิทยากร
 - 3.1.1 นุจรี ประทีปวิช จอห์นส การใช้เมลลาโทนินในผู้ป่วยมะเร็ง วารสารคลินิก 2549; 22: 181-187.

- 3.1.2 นุจรี ประทีปวณิช จอห์นส กัญญารัตน์ สุรยวัฒน์ กาลศิริ วิบูลย์อรธรต บพาทของเมลาโทนิในการลดภาวะเครียดออกซิเดชันและพิษจากเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็ง Thai Pharm Health Sci J 2008;3:389-96
- 3.1.3 Pratheepawanit N, Sookprasert A, Punmanee A, Konsil J, Johns J, Cheawchanwattana A, Jitpimolmard S, Salek S. Effect of Melatonin on oxidative stress, toxicity and quality of life of cancer patients receiving chemotherapy. 15th Annual Conference of the International Society for Quality of Life Research, Montevideo, Uruguay, 22-25 October 2008. Published in Qual Life Res 2008;17(suppl):A-119-20. (poster presentation)
- 3.1.4 Pratheepawanit N, Sookprasert A, Punmanee A, Konsil J, Johns J, Cheawchanwattana A, Jitpimolmard S. Association of adverse events and quality of life reported in a randomized controlled trial of advanced cancer patients. 16th Annual Conference of the International Society for Quality of Life Research, New Orleans, Louisiana, USA, 22-25 October 2009. Published in Qual Life Res 2009;18(suppl):A-97. (poster presentation)
- 3.1.5 วิทยากร Special lecture ในหัวข้อ Melatonin in the treatment of cancer ในงานประชุมนานาชาติ The second Asia-Pacific Oncology Pharmacy Congress (APOPC 2008) ในวันที่ 11 กันยายน 2551
- 3.1.6 Pratheepawanit N, Konsil J, Sookprasert A, Johns J, Cheawchanwattana A, Jitpimolmard S. Melatonin in Reduction of Chemotherapy-Induced Toxicity: Pharmacokinetics-pharmacodynamics and Increase of Quality of Life of Cancer Patients Receiving Chemotherapy – MIRCIT Trial. การประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่พบเมธีวิจัยอาวุโส, 11 – 13 ตุลาคม 2550
- 3.1.7 Pratheepawanit N, Sookprasert A, Punmanee A, Konsil J, Johns J, Cheawchanwattana A, Jitpimolmard S, Salek S. Effect of Melatonin on oxidative stress, toxicity and quality of life of cancer patients receiving chemotherapy. การประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่พบเมธีวิจัยอาวุโส, 16 – 18 ตุลาคม 2551
- 3.1.8 Plaimee P, Mititraporn R, Nuangjumnong W, Johns J, Pratheepawanit N. Association between nurses working nightshift and melatonin levels, sleep quality and alertness. JSPS Asia and Africa Science Platform Program and the 4th LiverCare Cancer Symposium, 19-20 February 2008, Khon Kaen, Thailand, page 102.
- 3.1.9 Viboonaut K, Suriyawat K, Porasuphatana S, Johns J, Pratheepawanit N. Preliminary study on the effect of melatonin on oxidative stress in cancer patients. JSPS Asia and Africa Science Platform Program and the 4th LiverCare Cancer Symposium, 19-20 February 2008, Khon Kaen, Thailand, page 101.
- 3.2 การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่นๆ ทั้งในและต่างประเทศ
 - 3.2.1 ติดต่อ Prof. Paolo Lissoni, Division of Radiotherapy and Oncology, San Gerardo Hospital, Monza, Italy ซึ่งเป็นนักวิจัยหลักที่บุกเบิกในเรื่อง การใช้เมลาโทนิในผู้ป่วย

มะเร็ง และมีผลงานวิจัยในด้านนี้อย่างต่อเนื่อง โดยได้ขอคำปรึกษาเกี่ยวกับ protocol การวิจัยทางคลินิก และรายละเอียดการวิจัย อยู่เป็นระยะๆ และได้รับคำแนะนำเป็นอย่างดี

- 3.2.2 ประสานงานกับ Professor David Blask และ Professor Steven Hill แห่ง School of Medicine, Tulane University, USA เพื่อทำงานวิจัยร่วมกัน เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ และ antiproliferative effect ของเมลาโทนินใน cell line มะเร็งท่อน้ำดี
- 3.2.3 ติดต่อ Family Health International ซึ่งเป็นองค์กรต่างประเทศ ที่ควบคุมคุณภาพการศึกษาทางคลินิกในประเทศไทย โดยได้ขอคำแนะนำ เพื่อเตรียมความพร้อมก่อนเริ่มงานวิจัย รวมทั้งประเมินความเหมาะสมของ CRF ที่จะใช้ในงานวิจัย ทั้งนี้ยังได้ดำเนินการติดต่อเพื่อขอให้เป็นผู้ประเมิน (monitor) คุณภาพงานวิจัยในอนาคต

ภาคผนวก 1: submission to Journal of Pineal Research



**MELATONIN IN CANCER PATIENTS RECEIVING
CHEMOTHERAPY: A RANDOMIZED, DOUBLE BLIND,
PLACEBO, CONTROLLED TRIAL**

Journal:	<i>Journal of Pineal Research</i>
Manuscript ID:	draft
Manuscript Type:	Original Manuscript
Date Submitted by the Author:	
Complete List of Authors:	Pratheepawanit, Nutjaree; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Sookprasert, Aumkhae; Khon Kaen University, Faculty of Medicine Punmanee, Anakapong; Khon Kaen University, Faculty of Medicine Konsil, Juirhat; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Johns, Jeffrey; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Cheawchanwattana, Areewan; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Jitpimolmard, Suthiphan; Khon Kaen University, Faculty of Medicine
Keywords:	Melatonin, cancer, chemotherapy, quality of life, clinical trial, 8-Isoprostane



Journal of Pineal Research

ภาคผนวก 2: Submission to Supportive Care in Cancer

Editorial Manager(tm) for Supportive Care in Cancer
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: PRELIMINARY DATA OF A RANDOMIZED, DOUBLE BLIND, PLACEBO AND CONTROLLED TRIAL ON MELATONIN

Article Type: Short Communication

Corresponding Author: Dr. Nutjaree Pratheepawanit, PhD.

Corresponding Author's Institution: Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

First Author: Nutjaree Pratheepawanit, PhD.

Order of Authors: Nutjaree Pratheepawanit, PhD.; Aumkhae Sukprasert, M.D.; Anakapong Punmanee, M.D.; Julrhat Konsil, PhD.; Jeffrey R Johns, PhD.; Areewan Cheawchanwattana, PhD.; Suthiphan Jitpimolmard, M.D.

Abstract: Purpose: To measure the effect of melatonin on tumor response, adverse events, and quality of life (QOL) of advanced cancer patients.

Method: The Melatonin In Reduction of Chemotherapy-Induced Toxicity (MIRCIT) trial is a randomized, double-blind, placebo and controlled study. Advanced cancer patients received either melatonin or placebo along with their standard chemotherapy treatment. Mixed-block randomization, stratified by cancer type, was used to divide eligible patients into melatonin 10 mg, melatonin 20 mg or matched placebo groups. Patients took the studied drugs at night for six months. Data on tumor status (RECIST criteria), adverse events (CTCAE version 3) and QOL (FACT-G) were collected at the 1st, 2nd, and 3rd cycle of chemotherapy treatment.

Results: Preliminary data of 30 patients were analyzed with 10 in each group. Baseline QOL and characteristics of the study patients were comparable in all groups. The melatonin group had lower incidence of fatigue, anorexia and weight loss compared to the placebo with fewer incidences of anemia (hemoglobin < 10 g/dL) and actual weight loss (> 5% from baseline) reported. There was no difference of tumor response. Patients receiving melatonin reported improved QOL at the 2nd and 3rd chemotherapy cycle compared to deterioration with the placebo. Clinically meaningful improvement of FACT-G scores was reported in 20 mg melatonin more than placebo for the 2nd (50% vs. 30%) and the 3rd (40% vs. 20%) cycles

Conclusion: Melatonin adjuvant therapy could reduce adverse events and improve QOL of cancer patients. Initiation of melatonin at an earlier stage of cancer should have more effect. Continued study with larger sample size is warranted, and ongoing.

ภาคผนวก 3: Submission to Palliative Medicine

Palliative Medicine

Palliative Medicine

Improving care of advanced cancer patients: lessons learnt from a small clinical study

Journal:	<i>Palliative Medicine</i>
Manuscript ID:	PMJ-09-0182
Manuscript Type:	Letter to the Editor
Date Submitted by the Author:	14-Oct-2009
Complete List of Authors:	Pratheepawanit, Nutjarnee; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Sukprasert, Aumkhae; Khon Kaen University, Faculty of Medicine Punmanee, Anakapong; Khon Kaen University, Faculty of Medicine Konsil, Julirhat; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Johns, Jeffrey; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Cheawchanwattana, Areewan; Khon Kaen University, Faculty of Pharmaceutical Sciences Jitpimolmard, Suthiphan; Khon Kaen University, Faculty of Medicine
Keywords:	quality of life, advanced cancer, melatonin
Abstract:	A randomized, double-blind, placebo controlled trial was conducted to evaluate the potential of melatonin as adjunctive therapy to reduce adverse events and improve quality of life of advanced cancer patients receiving chemotherapy. Positive results, especially higher percentage of clinically meaningful improvement of quality of life should provide further evidence to the currently limited body of knowledge in this field. More studies of this kind are required for conclusive results from meta-analysis. Meanwhile, awareness of clinicians to such information is essential.



<http://mc.manuscriptcentral.com/palliative-medicine>

EFFECT OF MELATONIN ON A PATIENT'S QULITY OF LIFE: PRELIMINARY DATA OF A RANDOMIZED, DOUBLE BLIND, PLACEBO, CONTROLLED TRIAL

¹Johns, NP, PharmD, PhD., ²Sookprasert A., MD, ²Phunmanee A., MD, ¹Konsil J., PhD.,

¹Johns J., PhD., ¹Cheawchanwattana A., PhD. ²Jitpimolmard S., MD, ¹Kessomboon N., PhD.

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand;

²Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Thailand.

Abstract

Purpose: To measure the effect of melatonin on tumor response, adverse events, and quality of life (QOL) of advanced cancer patients.

Method: The Melatonin In Reduction of Chemotherapy-Induced Toxicity (MIRCIT) trial is a randomized, double-blind, placebo and controlled study. Advanced cancer patients received either melatonin or placebo along with their standard chemotherapy treatment. Mixed-block randomization, stratified by cancer type, was used to divide eligible patients into melatonin 10 mg, melatonin 20 mg or matched placebo groups. Patients took the studied drugs at night for six months. Data on tumor status (RECIST criteria), adverse events (CTCAE version 3) and QOL (FACT-G) were collected at the 1st, 2nd, and 3rd cycle of chemotherapy treatment. Cost avoidance from protecting of adverse events in selected patients was also evaluated.

Results: Preliminary data of 30 patients were analyzed with 10 in each group. Baseline QOL and characteristics of the study patients were comparable in all groups. The melatonin group had lower incidence of fatigue, anorexia and weight loss compared to the placebo with fewer incidences of anemia (hemoglobin < 10 g/dL) and actual weight loss (> 5% from baseline)

reported. No difference of tumor response was detected. QOL scores on the 2nd and 3rd cycles showed improvement in melatonin group, but deterioration in placebo group. Higher ratio of patients with 20 mg melatonin had clinical improvement of QOL (FACT-G) scores than those in placebo group, both at the 2nd cycle (50% vs. 30%) and the 3rd cycle (40% vs. 20%). Using melatonin 10 mg and 20 mg could avoid treatment cost of adverse events by 74,532 baht and 117,460 baht/group, respectively. That is 27 % and 42 %, respectively, of total treatment cost of adverse events in the control group.

Conclusion: Using melatonin with chemotherapy may reduce adverse events and improve QOL of cancer patients. It also avoided the cost to 16,000 bath per patient per chemotherapy course. Continued study with larger sample size is warranted, and ongoing.

Keywords

Melatonin, cancer, chemotherapy, quality of life, clinical trial, cost avoidance

Corresponding author

Assoc Prof. Nutjaree Pratheepawanit Johns

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Khon Kaen University

Khon Kaen 40002 Thailand

Telephone: +66 43 202378 Fax: +66 43 202379

E-mail: pnutja@kku.ac.th