



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เภสัชและพิษวิทยาทางสัตวแพทย์)

ปริญญา

เภสัชและพิษวิทยาทางสัตวแพทย์

เภสัชวิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และผลสัมฤทธิ์ทางคลินิกของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในการรักษาเนื้องอกระบบสืบพันธุ์ชนิด transmissible venereal tumor (TVT) ในสุนัข
Pharmacokinetics and Clinical Effects of Vincristine Sulfate in Dogs with Transmissible Venereal Tumor (TVT)

นามผู้วิจัย นางสาวสุพรรณิการ์ หาญตระกูล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ สัตวแพทย์หญิงศรัณญา พัวพลเทพ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์อำนาจ พัวพลเทพ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิงสุณี คุณากรสวัสดิ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ สัตวแพทย์หญิงทวีวัลย์ ต้นสถิตย์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิงกาญจนา อิมศิลป์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และผลสัมฤทธิ์ทางคลินิกของยาเคมีบำบัดวินคริสติน
ในการรักษาเนื้องอกระบบสืบพันธุ์ชนิด transmissible venereal tumor (TVT) ในสุนัข

Pharmacokinetics and Clinical Effects of Vincristine Sulfate in Dogs
with Transmissible Venereal Tumor (TVT)

โดย

นางสาวสุพรรณิการ์ หาญตระกูล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เภสัชและพิษวิทยาทางสัตวแพทย์)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุพรรณิการ์ หาญตระกูล 2557: การศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และผลสัมฤทธิ์ทางคลินิกของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในการรักษาเนื้องอกระบบสืบพันธุ์ชนิด

transmissible venereal tumor (TVT) ในสุนัข ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เภสัชและพิษวิทยาทางสัตวแพทย์) สาขาเภสัชและพิษวิทยาทางสัตวแพทย์ ภาควิชาเภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: สัตวแพทย์หญิงศรัณญา พัวพลเทพ, Ph.D.

92 หน้า

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินและผลสัมฤทธิ์ทางคลินิกในการรักษาเนื้องอกระบบสืบพันธุ์ชนิด transmissible venereal tumor (TVT) ในสุนัข โดยสุนัขที่เป็นเนื้องอก TVT จะได้รับยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยตารางเมตรเข้าทางหลอดเลือดดำ ทำการเจาะเลือดสุนัขก่อนและภายหลังการให้ยาตั้งแต่ 5 นาทีจนถึง 48 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาโดยใช้เทคนิค liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) และคำนวณค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาโดยใช้โปรแกรม PK Solution 2.0x พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมา กับเวลา มีลักษณะเป็น Two-compartment pharmacokinetic model โดยมีค่าอัตราการกระจายตัวของยา ค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัวของยา ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยา และค่าการกำจัดยาออกจากพลาสมา เท่ากับ 0.66 ± 0.21 ลิตรต่อกิโลกรัม 21.50 ± 6.90 นาที 47.57 ± 14.23 นาที และ 0.01 ± 0.00 ลิตรต่อนาทีต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ความเข้มข้นต่ำสุดของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้มีค่าเท่ากับ 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และจำนวนครั้งของการให้ยาเคมีบำบัดจนตรวจไม่พบเนื้องอกจากการสังเกตด้วยตาเปล่าอยู่ระหว่าง 3-8 ครั้ง ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาคคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัขที่เป็น TVT นี้ แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์กับผลการรักษาทางคลินิก และเป็นเครื่องมือสำคัญที่จะนำไปประยุกต์เพื่อการนำไปปรับใช้ในทางคลินิกเพื่อให้เกิดผลการตอบสนองต่อการได้รับยาอย่างสูงสุด อีกทั้งการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดวินคริสตินโดยใช้ LC-MS/MS เป็นเทคนิคที่มีความไว และความแม่นยำสูง อีกทั้งยังให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว จึงเหมาะต่อการนำมาใช้ในการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาสุนัข

Supannika Hantrakul 2014: Pharmacokinetics and Clinical Effects of Vincristine Sulfate in Dogs with Transmissible Venereal Tumor (TVT). Master of Science (Veterinary Pharmacology and Toxicology), Major Field: Veterinary Pharmacology and Toxicology, Department of Pharmacology. Thesis Advisor: D.V.M. Saranya Poapolathep, Ph.D. 92 pages.

This study was conducted to evaluate the pharmacokinetic characteristics of vincristine and their correlation with its clinical effects in dogs with transmissible venereal tumor (TVT). Dogs with TVT were intravenously administered vincristine sulfate at a dose of 0.7 mg/m^2 of body surface area. Blood samples were collected starting from 5 min to 48 h after drug administration. The plasma concentration of vincristine was determined using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The pharmacokinetic parameters of vincristine were characterized using a two-compartmental pharmacokinetic model. The volume of distribution, distribution half-life, elimination half-life, and plasma clearance were $0.66 \pm 0.21 \text{ L/kg}$, $21.50 \pm 6.90 \text{ min}$, $47.57 \pm 14.23 \text{ min}$, and $0.01 \pm 0.00 \text{ L/min/kg}$, respectively. The lower limit of quantification (LLOQ) of vincristine in the plasma was 0.5 ng/mL . Tumor regression was determined by a physical examination and histopathological analysis. Complete remission or complete response means that all of the tumors completely disappeared, and partial remission means that the tumors regressed more than 50% but less than 100%. In our study, three to eight administrations of vincristine at a dose of 0.7 mg/m^2 were able to induce complete remission in five dogs. Therefore, this investigation provides the pharmacokinetic characteristics of vincristine in dogs with TVT, which may be used as an integration tool to gain a better understanding of the disposition properties of the drug and the correlation of these properties with the drug's clinical effects. In addition, we validated the LC-MS/MS method and found that it is suitable for the pharmacokinetic study of vincristine in dog plasma.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งทั้งทางด้านวิชาการและด้านงานวิจัยจากบุคคลต่างๆ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ สพ.ญ. ดร. ศรัณญา พัวพลเทพ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัย ให้กำลังใจและช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ตลอดจนให้คำปรึกษาคอยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมได้แก่ รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. อำนาจ พัวพลเทพ รองศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร. สุณี คุณากรสวัสดิ์ และอาจารย์สพ.ญ.ดร.ทวิวัลย์ ตันสฤติย์ ที่ให้คำแนะนำในงานวิจัยทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัยอีกทั้งช่วยตรวจทานและปรับแก้วิทยานิพนธ์นี้ให้แล้วเสร็จอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยาที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า ตลอดจนชมรมวางแผนครอบครัวและส่งเสริมสวัสดิภาพสุนัข (DOG CHANCE) จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ให้นำสุนัขที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเนื้องอกTVT มาดำเนินการรักษาและร่วมในโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณผู้ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัยทั้งในการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ อันได้แก่ น.ส. นฤมล กลางแก้ว น.ส.ปิยลักษณ์ สิ้นพิทักษ์กุล น.ส.กนกอร ประสานธำรงศิริ นายสมักร สุจริต

ขอกราบขอบพระคุณทางบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้ สำหรับคุณภาพความดีที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้กับบิดา มารดาที่คอยให้กำลังใจ จ่ายค่าเล่าเรียนให้เรียนสูงๆ เพื่อจะได้ นำความรู้ที่ได้มารักษาสุนัขให้มีสุขภาพที่ดีขึ้น สุดท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบแด่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุพรรณิการ์ หาญตระกูล

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(10)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการ	16
ผลและวิจารณ์	23
ผล	23
วิจารณ์	52
สรุปและข้อเสนอแนะ	57
สรุป	57
ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	60
ภาคผนวก	68
ภาคผนวก ก เคมีบำบัดรักษาทางสัตวแพทย์	69
ภาคผนวก ข การเตรียมยาเคมีบำบัด	83
ภาคผนวก ค หลักการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี	86
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	92

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ชนิดของเนื้องอกที่พบในสุนัขพื้นที่กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย ตั้งแต่ มกราคม 2525 – ธันวาคม พ.ศ. 2543	7
2 ข้อมูลทั่วไปและตำแหน่งของเนื้องอก TVT ของสุนัขที่นำมาศึกษาวิจัย	16
3 สภาวะของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับยา	20
4 สภาวะของเครื่อง LC-MS/MS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับยา	21
5 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day accuracy, intra-day precision) และความแม่นยำและความเที่ยงของ การวิเคราะห์ต่างวันกัน (inter-day accuracy, intra-day precision) ของยา วินคริสตินในพลาสมาสุนัข (n=5)	25
6 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ (mean $\pm$ SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินใน พลาสมาภายหลังจากการให้ยาขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็น ตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำในสุนัขที่เป็นเนื้องอก TVT (n = 6)	29
7 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของสุนัขตัวที่ 1 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดยาครั้งที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา	43
8 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของสุนัขตัวที่ 2 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดยาครั้งที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา	44
9 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของสุนัขตัวที่ 3 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดยาครั้งที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา	45
10 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของสุนัขตัวที่ 4 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดยาครั้งที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา	46

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
11	ค่าโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของสุนัขตัวที่ 5 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดยาครั้งที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา 47
12	ค่าโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของสุนัขตัวที่ 6 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดยาครั้งที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา 48
13	ขนาดของเนื้องอก TVT (กว้างxยาวxสูง) หน่วยเป็นมิลลิเมตรที่ทำการตรวจวัด ตั้งแต่ก่อนการให้ยาครั้งแรกและทุกๆสัปดาห์ก่อนการให้ยาครั้งต่อไปจนถึงสิ้นสุด การรักษา 49
14	จำนวนครั้งของการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิว ของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรของสุนัขแต่ละตัวจนไม่พบวิธีการเนื้องอก จากการสังเกตด้วยตาเปล่า 51
15	ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดออกของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสัตว์ ชนิดต่างๆ 53
16	พารามิเตอร์ที่สำคัญทางเภสัชจลนศาสตร์ (mean ± SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสติน ในพลาสมาของสุนัขปกติพันธุ์บีเกิ้ล ภายหลังจากการให้ยาขนาด 0.07 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม น้ำหนักตัวโดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ (n = 5) 54

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	ลักษณะก้อนเนื้องอก TVT ที่บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ในสุนัข
A.	ก้อนเนื้องอก TVT บริเวณช่องคลอดของสุนัขเพศเมีย
B.	ก้อนเนื้องอก TVT บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ของสุนัขเพศผู้
2	ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเนื้องอก TVT โดยเซลล์เนื้องอกมีรูปร่างกลมหรือรี นิวเคลียสกลม นิวคลีโอไล์เด่นเพียง 1 อันและในไซโตพลาสซึมมีแวคิวโอล
3	ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้องอก TVT ที่เซลล์มีลักษณะกลมจัดเรียงตัวรวมตัวเป็นกลุ่ม มีนิวเคลียสและนิวคลีโอไล์เด่นชัด (ลูกศรสีดำ) พบ mitotic figures (ลูกศรสีแดง) เป็นจำนวนมาก
4	โครงสร้างทางเคมีของยาเคมีบำบัดวินคริสติน
5	การวัดขนาดของเนื้องอก TVT โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์แบบดิจิตอล
6	การใช้เข็มพลาสติก (IV catheter) เพื่อให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินเข้าทางหลอดเลือดดำที่ขาหน้า (cephalic vein)
7	การเจาะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหน้า (cephalic vein)
8	ขั้นตอนการสกัดที่เติมตัวอย่างพลาสมาลงใน Oasis HLB cartridge
9	โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานวินคริสตินในพลาสมาของสุนัข
10	โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานภายในวินบลาสตินในพลาสมาของสุนัข
11	ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัขที่เป็น TVT โดยมีวินบลาสตินเป็นสารมาตรฐานภายใน (IS)
A.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 5 นาที ภายหลังจากได้รับยา
B.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 10 นาที ภายหลังจากได้รับยา
C.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 15 นาที ภายหลังจากได้รับยา
D.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 30 นาที ภายหลังจากได้รับยา
E.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 45 นาที ภายหลังจากได้รับยา
F.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 60 นาที ภายหลังจากได้รับยา
G.	โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 120 นาที ภายหลังจากได้รับยา

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
12	ความเข้มข้นเฉลี่ย ($\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินใน พลาสมาสุนัขที่เป็น TVT ภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ	28
13	ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณโคนกระเปาะ อวัยวะสืบพันธุ์ของผู้ของสุนัขตัวที่ 1 ก่อนและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน ขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้า หลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันทุกสัปดาห์	
	A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)	
	B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)	
	C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 2 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)	
	D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 3 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)	30
14	ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอดของ สุนัขตัวที่ 2 ก่อนและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อ พื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันทุกสัปดาห์	
	A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)	
	B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)	
	C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 2 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)	
	D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 3 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)	
	E. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)	
	F. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 5 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)	
	G. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 6 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 6)	
	H. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 7 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7)	32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 15 ลักษณะวิธีการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอดของ
 สุนัขตัวที่ 3 ก่อนและภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัม
 ต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำสัปดาห์
 ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันทุกสัปดาห์
- A. ลักษณะวิธีการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 2 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 3 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- F. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 5 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- G. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 6 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 6)
- H. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 7 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7) 34
- 16 ลักษณะวิธีการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอด
 ของสุนัขตัวที่ 4 ก่อนและภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7
 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือด
 ดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันทุกสัปดาห์
- A. ลักษณะวิธีการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 2 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 3 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 5 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- F. ลักษณะวิธีการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 7 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7) 36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 17 ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณโคนกระเปาะ
อวัยวะเพศของผู้ของสุนัขตัวที่ 5 ก่อนและภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน
ขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้า
หลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันทุกสัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 2 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- E. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 5 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- F. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 7 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7)

38

- 18 ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอด
ของสุนัขตัวที่ 6 ก่อนและภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7
มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือด
ดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันทุกสัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 2 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 3 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 4 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- F. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 5 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- G. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 6 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 6)
- H. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 7 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7)

40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 19 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้องอก TVT ที่ย้อมด้วยวิธี H&E staining ก่อนการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดวินคริสติน
- A. กลุ่มของเซลล์ TVT (รูปดาว) มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ (กำลังขยาย 5x)
 - B. กลุ่มของเซลล์ TVT ที่ถูกล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue, CNT) (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย 20x)
 - C. ลักษณะของเซลล์ TVT (ลูกศรสีดำ) ซึ่งมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ นิวเคลียสกลมมีนิวคลีโอลัสเด่น 1 อัน ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูจางๆ (eosinophilic) นิวเคลียสติดสีน้ำเงิน (basophilic) และพบ mitotic figure (ลูกศรสีแดง) (กำลังขยาย 40x)
- 20 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (กำลังขยาย 20 เท่า) ของเนื้องอก TVT ที่ย้อมด้วยวิธี H&E staining ภายหลังการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร
- A. ลักษณะภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 2 สัปดาห์ พบอะพอพโตติกเซลล์ (Apoptotic cell) ที่เซลล์มีลักษณะหดตัวเล็กลงและมีช่องว่างคล้ายทรงกลมชัดเจน (halo-like clear space) (ลูกศรสีดำ) และพบเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (ลูกศรสีแดง) เล็กน้อย
 - B. ลักษณะภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 3 สัปดาห์ พบการแทนที่เซลล์ TVT ด้วยกลุ่มของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (ลูกศรชี้) เป็นจำนวนมาก
 - C. ลักษณะภายหลังจากการได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 4 สัปดาห์ พบเซลล์ TVT มีปริมาณลดน้อยลงและมีการแทนที่ด้วยเซลล์รูปกระสวยหรือไฟโบรบลาสต์ (ลูกศรสีดำ) จำนวนมาก พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue, CNT) เพิ่มขึ้นและมีเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (ลูกศรสีแดง) เข้ามาแทรกตัวมากขึ้น
 - D. ลักษณะภายหลังการได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 6 สัปดาห์ พบกลุ่มของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์จำนวนมาก (ลูกศรชี้) และมีการแทนที่เซลล์ TVT ด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

41

42

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
21	กราฟแสดงขนาดของเนื้องอก TVT (ตารางมิลลิเมตร) ของสุนัขแต่ละตัวภาย หลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกาย หน่วยเป็นตารางเมตรสัปดาห์ละครั้ง ต่อเนื่องกันทุกสัปดาห์ โดยสัปดาห์ที่ 0 เป็นสัปดาห์ก่อนเริ่มการรักษา	50
ภาพผนวกที่		
ก1	วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle)	72
ก2	ระยะต่างๆ ของการให้ยาเคมีบำบัด	74
ก3	การเทียบน้ำหนักตัวหน่วยเป็นกิโลกรัมกับพื้นที่ผิวของร่างกายของสุนัขและแมว หน่วยเป็นตารางเมตร	77
ค1	องค์ประกอบของเครื่อง LC-MS/MS	88

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ng	=	Nanogram
μL	=	Microlitre
$\text{AUC}_{(0-t)}$	=	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to time of last measurable concentration
C_p^0	=	Concentration of drug in the plasma at time zero following bolus intravenous injection
$C_{\max}$	=	Maximal concentration
K_{12}	=	Rate constant from the central to the peripheral compartment
K_{21}	=	Rate constant from the peripheral to central compartment
$t_{1/2\alpha}$	=	Distribution half life
$t_{1/2\beta}$	=	Elimination half life
Cl	=	Apparent total body clearance of the drug from plasma
V_{darea}	=	Apparent volume of distribution from area
MRT	=	Mean residence time
LOQ	=	Limit of quantification
i.v.	=	Intravenous
TVT	=	Transmissible Venereal Tumor
pK_a	=	Acid dissociation constant
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography
LC-MS/MS	=	Liquid chromatography-Tandem Mass Spectrometry
H&E	=	Hematoxylin and Eosin
CBC	=	Complete blood count
HGB	=	Hemoglobin
PCV	=	Packed cell volume
RBC	=	Red blood cell
WBC	=	White blood cell
MCV	=	Mean corpuscular volume
MCHC	=	Mean corpuscular hemoglobin concentration
ALT	=	Alanine aminotransferase

การศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และผลสัมฤทธิ์ทางคลินิกของยาเคมี
บำบัดวินคริสตินในการรักษาเนื้องอกระบบสืบพันธุ์ชนิด
Transmissible Venereal Tumor (TVT) ในสุนัข

Pharmacokinetics and Clinical Effects of Vincristine Sulfate in Dogs
with Transmissible Venereal Tumor (TVT)

คำนำ

เนื้องอกชนิด transmissible venereal tumor (TVT) เป็นเนื้องอกของระบบสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียที่พบเฉพาะในสุนัขและสัตว์ชนิดอื่นๆ ในวงศ์ canidae เช่น สุนัขจิ้งจอกและสุนัขป่า (Withrow and Vail, 2007; Stockman *et al.*, 2011) อุบัติการณ์การเกิดเนื้องอกชนิดนี้พบมีรายงานในหลายพื้นที่ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อน (Das and Das, 2000) สำหรับการติดและแพร่กระจายของโรคพบได้ทั่วไปในสุนัขช่วงวัยเจริญพันธุ์ที่มีอายุเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2-5 ปี โดยพบอัตราการเกิดโรคสูงสุดในกลุ่มสุนัขจรจัดและสุนัขเลี้ยงที่ไม่ได้รับการดูแลเอาใจใส่อย่างเพียงพอ (Das and Das, 2000; Thangathurai *et al.*, 2008) วิทยาของเนื้องอกชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นก้อน ผิวไม่เรียบคล้ายดอกกะหล่ำ (cauliflower-like) ที่มีขนาดและจำนวนก้อนผันแปรแตกต่างกัน ทั้งนี้สามารถจำแนกเนื้องอกออกได้เป็น 2 กลุ่มตามตำแหน่งของการเกิดวิทยาการคือ เนื้องอก TVT ชนิดที่พบที่ระบบสืบพันธุ์ (genital TVT) ซึ่งจะพบวิทยาการได้ที่ส่วนกระเปาะบริเวณโคนอวัยวะสืบพันธุ์ (bulbus glandis), หนังกุ้มอวัยวะสืบพันธุ์ (prepuce) และอวัยวะสืบพันธุ์ (penis) ของสุนัขเพศผู้ และที่ช่องคลอด (vagina) และปากช่องคลอด (vulva) ของสุนัขเพศเมีย กับเนื้องอก TVT ชนิดที่พบนอกระบบสืบพันธุ์ (extragenital TVT) ซึ่งพบได้ที่ใบหน้า ริมฝีปาก ช่องปาก โปรงจมูก เยื่อตาขาว (Otomo *et al.*, 1981; Das and Das, 2000; Tella *et al.*, 2004) สำหรับทางในการติดต่อของเนื้องอก TVT นั้นจะติดต่อได้ทั้งทางการผสมพันธุ์ การสัมผัส การคมและการเลีย อาการที่พบภายหลังเกิดวิทยานั้นจะประกอบด้วย การมีเลือดและสารคัดหลั่งไหลซึมจากก้อนเนื้องอกซึ่งนอกจากจะทำให้เกิดความรำคาญต่อสุนัขและทำให้สุนัขเลียในตำแหน่งวิทยาการบ่อยแล้ว ยังอาจนำไปสู่การอักเสบและติดเชื้อตามมามากด้วย หากก้อนเนื้องอกที่เกิดที่ระบบสืบพันธุ์มีขนาดใหญ่อาจทำให้เกิดการกดเบียดหรืออุดกั้นทางเดินปัสสาวะ ทำให้ปัสสาวะเป็นเลือด ถ่ายปัสสาวะกะปริดกะปรอย ซึ่งอาจรุนแรงจนถ่ายปัสสาวะไม่ออกตามมา ขณะที่เนื้องอกที่เกิดที่โพรงจมูกมักจะก่อให้เกิดความระคายเคือง ทำให้สุนัขแสดงอาการจามและอาจมีเลือดกำเดาไหลร่วมด้วย

สำหรับการรักษาโรคเนื้องอก TVT นั้นสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งโดยการผ่าตัด การฉายรังสี และการให้ยาเคมีบำบัดรักษา ซึ่งในทางปฏิบัติแล้ว การให้ยาเคมีบำบัดรักษาโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน (vincristine sulfate) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกไม่ยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายไม่สูง และประสิทธิภาพในการรักษาดีเป็นที่น่าพอใจ (Mello Martins *et al.*, 2005)

ดังนั้นการศึกษาคูสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัขร่วมกับการประเมินการตอบสนองของเซลล์เนื้องอก TVT ตลอดจนผลข้างเคียงและความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นภายหลังการได้รับยา จึงมีความสำคัญและจำเป็นต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพในการรักษาโรค ทั้งยังนำมาใช้วิเคราะห์หาสาเหตุของการรักษาที่การตอบสนองไม่เป็นไปตามวัตถุประสงค์ได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ได้ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัข ซึ่งประกอบด้วย การดูดซึมยา การกระจายตัวของยาและการขับถ่ายของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัขที่เป็นเนื้องอกของระบบสืบพันธุ์ชนิด TVT
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและผลสัมฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่มีต่อการรักษาสุนัขที่เป็นเนื้องอกของระบบสืบพันธุ์ชนิด TVT และนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก
3. เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ระดับของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมา ซึ่งจะนำไปสู่การเพิ่มศักยภาพของทั้งนักวิจัยและห้องปฏิบัติการให้มีมาตรฐานเทียบเคียงระดับสากล

การตรวจเอกสาร

อุบัติการณ์การเกิดเนื้องอก TVT

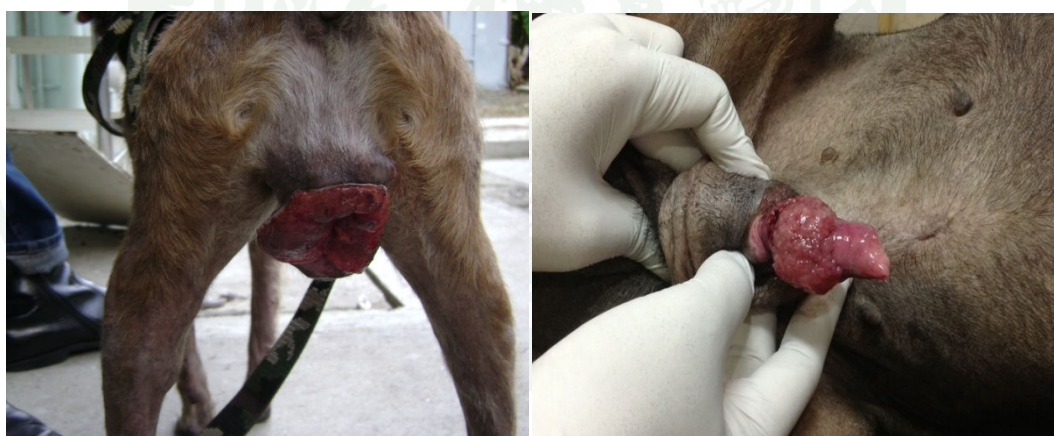
เนื้องอก transmissible venereal tumor (TVT) หรือ transmissible venereal sarcoma หรือ venereal granuloma เป็นเนื้องอกของระบบสืบพันธุ์ที่พบเกิดเฉพาะในสุนัขและสัตว์อื่นๆในวงศ์ canidae เช่น สุนัขจิ้งจอกและสุนัขป่า (Withrow and Vail, 2007; Stockman *et al.*, 2011) TVT พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1876 โดย Nowinsky ได้ทำการปลูกถ่ายเซลล์เนื้องอกจากสุนัขตัวหนึ่งไปยังสุนัขอีกตัวหนึ่ง โดยการตัดก้อนเนื้องอกของสุนัขที่เป็นเนื้องอกแล้วนำไปปลูกบริเวณเยื่อเมือกอวัยวะสืบพันธุ์ที่มีรอยกริดหรือทำให้เป็นแผลของสุนัขอีกตัวหนึ่ง (Das and Das, 2000) ซึ่งอุบัติการณ์การเกิดเนื้องอกชนิดนี้พบมีรายงานในหลายพื้นที่ทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้นอาทิเช่น พื้นที่ทางตอนใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา พื้นที่ทางตะวันออกเฉียงใต้ของทวีปยุโรป บางพื้นที่ของทวีปแอฟริกา และในทวีปเอเชียดังที่มีรายงานการเกิดโรคในประเทศญี่ปุ่น จีนและประเทศไทยเป็นต้น (Das and Das, 2000)

การติดและแพร่กระจายของโรค

สำหรับการติดและแพร่กระจายของโรคพบได้ทั่วไปในสุนัขทุกพันธุ์ที่กำลังอยู่ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ซึ่งมีอายุเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2-5 ปี โดยพบอัตราการเกิดโรคสูงสุดในกลุ่มสุนัขจรจัดและสุนัขเลี้ยงที่ไม่ได้รับการดูแลเอาใจใส่อย่างเพียงพอ และสุนัขเพศเมียมีโอกาสติดโรคได้ง่ายกว่าสุนัขเพศผู้ (Das and Das, 2000; Thangathurai *et al.*, 2008) การเจริญของเนื้องอกจะปรากฏภายใน 2-6 เดือนหลังจากสุนัขได้รับการติดต่อโดยการผสมพันธุ์ (Das and Das, 2000) ซึ่งวิธีการของเนื้องอกชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นก้อน ผิวไม่เรียบลักษณะคล้ายดอกกะหล่ำ (cauliflower-like) ที่เปราะนิกขาง่าย มีสีชมพูจนถึงสีแดงเข้มเนื่องจากมีเส้นเลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก อาจพบเนื้องอกเป็นก้อนเดี่ยวหรือรวมกันหลายก้อนและมีขนาดแตกต่างกัน (Thangathurai *et al.*, 2008) ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอัตราการเจริญของเนื้องอกจะขึ้นกับความแข็งแรงของระบบภูมิคุ้มกันและสภาวะทางโภชนาการ หากสุนัขมีสุขภาพอ่อนแอ เจ็บป่วย หรือมีสภาวะทางโภชนาการไม่เหมาะสม จะส่งเสริมให้เนื้องอกเจริญอย่างรวดเร็ว (Mukaratirwa and Gruys, 2003)

การจำแนกชนิดของเนื้องอก TVT

หากจำแนกเนื้องอกชนิดนี้ตามตำแหน่งของการเกิดวิทยาการ จะแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ 1) เนื้องอก TVT ชนิดที่พบที่ระบบสืบพันธุ์ (genital TVT) ซึ่งในสุนัขเพศผู้มักพบวิทยาการที่ กระเปาะบริเวณโคนอวัยวะสืบพันธุ์ (bulbus glandis) หนังหุ้มอวัยวะสืบพันธุ์ (prepuce) และ อวัยวะสืบพันธุ์ (penis) ส่วนในเพศเมียจะพบวิทยาการที่ช่องคลอดและเนื้อเยื่อบริเวณปากช่องคลอดเป็นหลัก (Morrison, 2002) และ 2) เนื้องอก TVT ชนิดที่พบนอกระบบสืบพันธุ์ (extragenital TVT) ซึ่งพบได้ทั่วไปที่หน้าริมฝีปาก ช่องปาก โพรงจมูกและเยื่อตาขาว (Otomo *et al.*, 1981; Das and Das, 2000; Tella *et al.*, 2004) สำหรับทางในการติดต่อของเนื้องอก TVT นั้นจะติดต่อได้ทั้งทางการผสมพันธุ์ การสัมผัส การดมและการเลีย ซึ่งพฤติกรรมเหล่านี้จะส่งเสริมการแพร่ระบาดของ TVT ให้เพิ่มมากยิ่งขึ้น (Papazoglou *et al.*, 2001) พบการแพร่กระจายไปที่ผิวหนังและต่อมน้ำเหลืองเป็นหลัก (Park *et al.*, 2006) และมีรายงานการแพร่กระจายของ TVT ไปยัง ตับ ม้าม ปอด ผิวหนัง กล้ามเนื้อ สมองและตา (Carolyn and Higginbotham, 2010) รวมถึงรังไข่และมดลูกของสุนัขเพศเมียได้อีกด้วย (Bastan *et al.*, 2008)



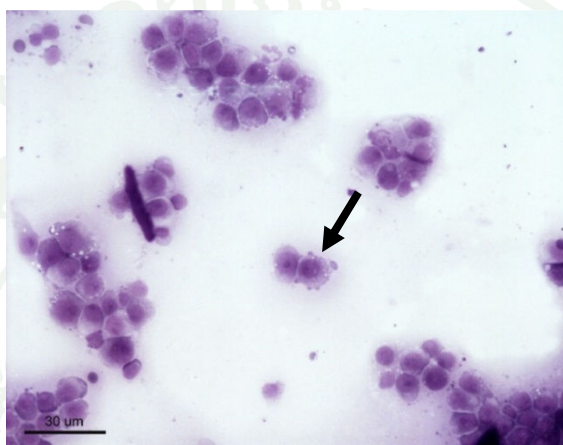
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะก้อนเนื้องอก TVT ที่บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ในสุนัข

- A. ก้อนเนื้องอก TVT บริเวณช่องคลอดของสุนัขเพศเมีย
- B. ก้อนเนื้องอก TVT บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ของสุนัขเพศผู้

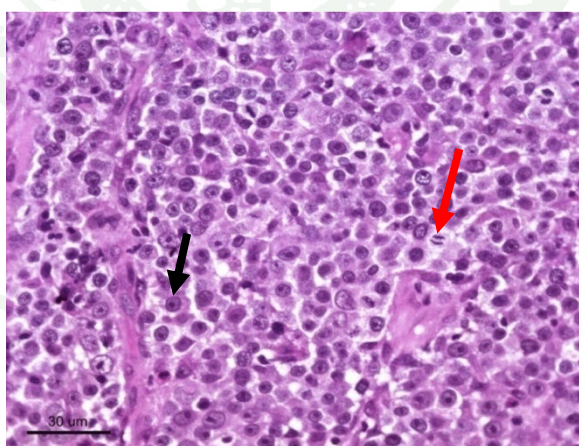
การวินิจฉัยเนื้องอก TVT

การวินิจฉัย TVT สามารถทำได้โดยอาศัยประวัติเกี่ยวกับสภาพแวดล้อมในการเลี้ยง อาการทางคลินิกและวิทยาการที่ปรากฏ ร่วมกับลักษณะทางเซลล์วิทยาที่ตรวจพบ อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่าง

ขึ้นเนื้อเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยานั้น เป็นวิธีการวินิจฉัยยืนยันการเกิดโรคที่มีความน่าเชื่อถือสูงสุด (Withrow and Vail, 2007) สำหรับลักษณะทางจุลพยาธิของเซลล์ TVT นั้นจะมีรูปร่างกลมหรือรี เส้นผ่านศูนย์กลางมีขนาด 14-16 ไมครอน มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่ที่ขอบของเซลล์ โครมาตินจะมีลักษณะเป็นแกรนูลหยาบ อัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมค่อนข้างสูง (Anne Santos do Amaral *et al.*, 2007) โดยทั่วไปจะพบนิวคลีโอไลต์ที่โดดเด่นเพียง 1 อัน (Wellman, 1996) และภายในไซโตพลาสซึมจะมีแวคิวโอลลักษณะโปร่งแสง (Thangathurai *et al.*, 2008)



ภาพที่ 2 ลักษณะทางเซลล์วิทยาของเซลล์ TVT ที่เซลล์มีขนาดใหญ่ รูปร่างกลมหรือรี นิวเคลียสกลม นิวคลีโอไลต์เด่นเพียง 1 อันและในไซโตพลาสซึมมีแวคิวโอล (ลูกศรชี้)



ภาพที่ 3 ลักษณะทางจุลพยาธิของเนื้องอก TVT ที่เซลล์มีลักษณะกลมรวมตัวเป็นกลุ่ม มีนิวเคลียสและนิวคลีโอไลต์เด่นชัด (ลูกศรสีดำ) พบ mitotic figures (ลูกศรสีแดง) เป็นจำนวนมาก

ข้อมูลทางระบาดวิทยาของเนื้องอก TVT ที่พบในประเทศไทย

จากรายงานการสำรวจชนิดของเนื้องอกที่พบในสุนัขในประเทศไทยจำนวน 2,425 ตัว ในเขตพื้นที่ของกรุงเทพมหานคร (Rungsipipat *et al.*, 2003) พบการเกิดเนื้องอกระบบสืบพันธุ์ในสุนัขจำนวน 235 ตัว ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 9.69 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดและเป็นเนื้องอกที่พบบากเป็นลำดับที่ 3 รองจากเนื้องอกที่ผิวหนังและเนื้องอกเต้านมตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของเนื้องอกที่พบในสุนัขพื้นที่กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย ตั้งแต่ มกราคม 2525 – ธันวาคม พ.ศ. 2543

ชนิดของเนื้องอก	ร้อยละของตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง
เนื้องอกที่ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน	55.05	1335
เนื้องอกเต้านม	28.29	686
เนื้องอกระบบสืบพันธุ์	9.69	235
เนื้องอกกระดูกและกล้ามเนื้อ	1.86	45
เนื้องอกระบบทางเดินอาหาร	2.68	65
เนื้องอกระบบเลือดและน้ำเหลือง	1.94	47
เนื้องอกระบบทางเดินปัสสาวะ	0.50	12

ที่มา: Rungsipipat *et al.* (2003)

การรักษาเนื้องอก TVT

วิธีการมาตรฐานสำหรับการรักษาเนื้องอก TVT นั้นสามารถทำได้ 3 วิธี ได้แก่ การศัลยกรรม การฉายรังสีรักษาและการใช้ยาเคมีบำบัดรักษา ซึ่งแต่ละวิธีมีประสิทธิภาพในการรักษาที่แตกต่างกันทั้งในด้านอัตราการหายจากโรค (complete remission rate) อัตราการกลับเป็นซ้ำ (recurrent rate) และผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น

1. การรักษาด้วยวิธีศัลยกรรม

Eze *et al.* (2007) ได้กล่าวถึงวิธีการที่ใช้ในการผ่าตัดก้อนเนื้องอกว่าประกอบไปด้วย 3 วิธีหลัก ได้แก่ การผ่าตัดเพื่อกำจัดเนื้องอกออกมากที่สุดเท่าที่จะทำได้ (Debulking) การผ่าตัดโดยใช้

เครื่องจี้ไฟฟ้า (Electrosurgery) และการผ่าตัดโดยการจี้เย็น (Cryosurgery) อย่างไรก็ตามการศัลยกรรมเพื่อการรักษาเนื้องอก TVT นั้นยังเป็นวิธีการที่ให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจนัก เนื่องจากพบการกลับเป็นซ้ำภายหลังการผ่าตัดสูงถึง 12 – 68 เปอร์เซ็นต์ (Nak *et al.*, 2005) โดยการผ่าตัดเพื่อกำจัดก้อนเนื้องอกร่วมกับการตัดลูกอัณฑะ (orchidectomy) หรือ การผ่าตัดนำรังไข่และมดลูกออก (ovariohysterectomy) จะมีส่วนช่วยลดอุบัติการณ์ของการกลับมาเป็นซ้ำได้ การผ่าตัดกรณีสุนัขเป็นเนื้องอก TVT แบบทั่วตัวแนะนำให้ใช้วิธีการผ่าตัดแบบใช้เครื่องจี้ไฟฟ้าหรือการจี้เย็นจึงจะเหมาะสม

2. การรักษาด้วยรังสีรักษา

การใช้รังสีรักษาเป็นวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพดี สามารถทำให้เซลล์เนื้องอกเกิดการฝ่อตัวอย่างสมบูรณ์ โดย Thrall (1982) ได้รายงานการใช้รังสีปริมาณ 10 GY (1000 rad) ในการรักษาต่อครั้ง จำนวน 1 ถึง 3 ครั้ง จึงจะทำให้ไม่พบเนื้องอกที่มองเห็นด้วยตาเปล่า แต่เป็นวิธีที่ต้องใช้เครื่องมือที่จำเพาะและดำเนินการโดยสัตวแพทย์ที่มีความรู้ความชำนาญในการใช้เครื่องมือเป็นอย่างดี ทั้งยังมีราคาแพง ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการนำไปใช้ในทางปฏิบัติ (Sudjaidee *et al.*, 2012) นอกจากนี้การใช้รังสีรักษายังก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนหลายประการ เช่น เกิดภาวะผิวหนังอักเสบเป็นผื่นแดง แผลลอกหลุด แผลเปื่อย ขนร่วง ผิวหนังมีการผลิตเม็ดสีเป็นจำนวนมากและสุดท้ายจะพัฒนากลายเป็นเนื้องอกชนิดต่างๆ ตามบริเวณที่มีการฉายรังสี (Eze *et al.*, 2007)

3. การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด

การใช้ยาเคมีบำบัดสำหรับการรักษาโรคเนื้องอก TVT นั้น เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและใช้กันอย่างแพร่หลายซึ่ง Boscos (1988) ได้รายงานว่ายาเคมีบำบัดหลายชนิดอาทิ ไซโคลฟอสฟามายด์ เมทโทเทรกเซด วินคริสติน วินบลาสติน หรือ ค็อกโซรูบิซิน สามารถนำมาใช้ในการรักษาเนื้องอก TVT ได้ โดยมีรายงานการใช้ยาเคมีบำบัดทั้งแบบที่ใช้ยาเพียงชนิดเดียว (single therapy) เช่น การใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน ขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร เพื่อรักษาสุนัขที่เป็น TVT ซึ่งพบว่าให้ผลตอบสนองต่อการรักษาที่ดีและไม่พบการกลับมาเกิดซ้ำใหม่หลังให้การรักษาอีกด้วย (Nak *et al.*, 2005; Kunakornsawat *et al.*, 2010) และมีรายงานหลายฉบับกล่าวถึงการใช้ยาหลายชนิดร่วมกัน (combination therapy) ในการรักษา TVT อาทิ มีการใช้ไซโคลฟอสฟามายด์ร่วมกับเพรดนิโซโลน การใช้ยาวินบลาสตินร่วมกับไซโคลฟอสฟามายด์ หรือเมทโทเทรกเซด (Das and Das, 2000; Eze *et al.*, 2007) มีรายงานการใช้ยาไซโคลฟอสฟามายด์ เมทโทเทรกเซด และยาเคมีบำบัดวินคริสตินร่วมกันในการรักษา TVT โดยที่ไม่มีผลข้างเคียงหลักๆ หรือการกลับมาเป็นซ้ำอีกของเนื้องอก (Das and Das, 2000; Nak *et al.*, 2005) ขณะที่ Sudjaidee และคณะ (2012)

รายงานการใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินร่วมกับแอลเอสพาราจิเนส ในการรักษาสุนัขที่เป็น TVT จำนวน 3 ตัว ที่พบการเกิดเนื้องอกซ้ำภายหลังการรักษาไปแล้ว โดยใช้วินคริสตินขนาด 0.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ร่วมกับแอลเอสพาราจิเนส ขนาด 10,000 หน่วยสากลต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็น ตารางเมตร ซึ่งให้ผลในการรักษาดีแต่มีผลข้างเคียงจากการให้ยาเคมีบำบัดร่วมกัน ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำลง ซึม ถ่ายเหลว กินอาหารลดลง

เภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัด

เภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดมีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับผลสัมฤทธิ์ในการรักษาและการเกิดพิษของยาเคมีบำบัด ซึ่งค่าพารามิเตอร์หลักที่นำมาใช้อธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าวคือ ค่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ซึ่งบ่งชี้ถึงการดูดซึมยา และระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในพลาสมา (C_{max}) โดยการให้ยาเคมีบำบัดด้วยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำจะมีค่าชีวปริมาณการออกฤทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่การให้ยาเคมีบำบัดทางอื่น เช่น การกิน การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ การฉีดเข้าใต้ผิวหนัง จะมีค่าชีวปริมาณการออกฤทธิ์แตกต่างกันออกไป ขณะเดียวกันก็มีปัจจัยหลายประการที่มีอิทธิพลต่อการกระจายตัวของยาภายในร่างกาย เช่น ปริมาณการไหลเวียนของเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย การกระจายตัวของยาจากหลอดเลือด การจับตัวกับโปรตีนของยาและการละลายในไขมันของยา ยกตัวอย่างเช่น ยาดีออกโซรubicin มีการจับกับโปรตีนในเนื้อเยื่อค่อนข้างมากดังนั้นการปลดปล่อยของยาในตำแหน่งที่มียาอยู่จึงเป็นไปอย่างช้าๆ ขณะที่ยาคาร์มัสทีนมีความสามารถในการละลายในไขมันได้ดี ดังนั้นยาคาร์มัสทีนจึงแพร่กระจายเข้าสู่สมองได้โดยผ่านตัวกรองกั้นระหว่างเลือดและสมอง (blood brain barrier) และมีอัตราการขจัดยาช้า อย่างไรก็ตามยาคาร์มัสทีนจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่หมดฤทธิ์ได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นระยะเวลาในการสัมผัสยาตามเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกายจึงใช้เวลาสั้น (North and Banks, 2009) ความสำคัญของพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองในการรักษาและความเป็นพิษ

เภสัชพลศาสตร์ของยาเคมีบำบัด

เภสัชพลศาสตร์ของยาเคมีบำบัดจะพิจารณาจากการตอบสนองต่อการรักษาและความเป็นพิษที่เกิดขึ้นเป็นหลัก โดยสามารถประเมินลักษณะการตอบสนองภายหลังจากการรักษาโดยใช้เคมีบำบัดได้หลายรูปแบบ ได้แก่ การรักษาที่ให้ผลตอบสนองอย่างสมบูรณ์ (complete remission; CR) การรักษาที่ให้ผลตอบสนองอย่างไม่สมบูรณ์ (partial remission; PR) การรักษาที่ผลการตอบสนองเป็นไปในลักษณะทรงตัว และสุดท้ายคือการรักษาที่ไม่ให้ผลตอบสนองในเชิงบวกและเนื้อร้ายมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น ซึ่งเกณฑ์การพิจารณาดังกล่าวข้างต้นเป็นเกณฑ์

ที่ดั่งขึ้นเพื่อใช้ในกรณีที่เกิดมะเร็งในลักษณะที่เป็นก้อนปรากฏให้เห็น ซึ่งมีรายละเอียดของแต่ละรูปแบบดังนี้

1. การรักษาที่ให้ผลตอบสนองอย่างสมบูรณ์ หมายถึง การตรวจไม่พบวิธีการของเนื้องอกเลย ซึ่งอาจประเมินได้จากสมบูรณ์และไม่ปรากฏการเกิดโรคขึ้นใหม่น้อยกว่า 1 เดือนภายหลังจากการรักษา

2. การรักษาที่ให้ผลการตอบสนองอย่างไม่สมบูรณ์ หมายถึง การตอบสนองต่อยาที่มีผลให้ขนาดของเนื้องอก หรือดัชนีบ่งชี้ภาวะมะเร็งอื่น ๆ ลดลงอย่างน้อยครึ่งหนึ่งหรือมากกว่า อีกทั้งไม่พบการเกิดโรคขึ้นใหม่น้อยกว่า 1 เดือนภายหลังได้รับยา

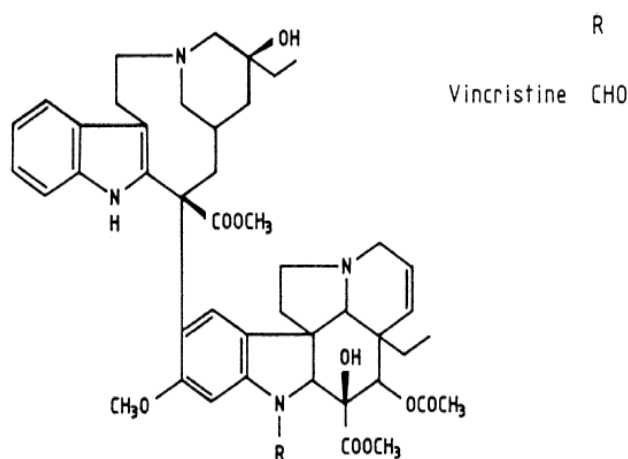
3. การตอบสนองแบบทรงตัว หมายถึง การที่ขนาดของก้อนเนื้อไม่เกิดการเพิ่มหรือลดขนาดลงอย่างมีนัยสำคัญภายหลังได้รับยา กรณีที่ขนาดของก้อนเนื้ออาจลดลงเพียงเล็กน้อย แต่ส่งผลกระทบต่ออาการอื่น ๆ ที่เกิดเนื้องอกมะเร็ง เช่น อาการปวดลดลง สามารถรับประทานอาหารได้มากขึ้น ลักษณะเช่นนี้จะจัดเป็นการตอบสนองในเชิงปรับปรุงคุณภาพชีวิต และลดความรุนแรงของอาการทางคลินิก (clinical benefit response)

4. การไม่ตอบสนองต่อการรักษา หมายถึง ผลการตอบสนองภายหลังจากได้รับยาเป็นไปในทางลบ กล่าวคือ ขนาดของเนื้องอกมีการเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 25 เปอร์เซ็นต์ หรือปรากฏมีการใหม่เพิ่มขึ้นขณะได้รับการรักษา จะจัดเป็นภาวะที่ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น

ยาเคมีบำบัดวินคริสติน (Vincristine)

ยาเคมีบำบัดวินคริสตินเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ที่สกัดได้จากใบของพืชแพงพวยฝรั่ง (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) ซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากหมู่เกาะมาดากัสการ์ สูตรโครงสร้างของยา คือ $C_{46}H_{56}N_4O_{10}H_2SO_4$ มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 923.1 กิโลดอลตัน (Gidding *et al.*, 1999) และมีคุณสมบัติเป็น lipophilic คือสามารถละลายได้ในไขมันและในเซลล์เนื้อเยื่อ (Greig *et al.*, 1990) ตัวยาสามารถละลายในน้ำได้ดีและสามารถละลายในแอลกอฮอล์ได้เล็กน้อย ยาวินคริสตินรูปการค้ำจะมีความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 3- 5.5 มีค่าคงที่ในการแตกตัว (pKa) คือ 5 และ 7.4 (Plumb, 2005) ขอบ่งใช้ของยานี้นอกจากใช้เพื่อการรักษาเนื้องอกชนิด TVT แล้วยังสามารถใช้เพื่อรักษามะเร็งที่เกี่ยวข้องกับระบบเลือด เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) มะเร็ง

เม็ดเลือดขาว (leukemia) รวมทั้งใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดชนิดอื่นในการรักษามะเร็งเนื้อเยื่ออ่อน เช่น มะเร็งของหลอดเลือด (hemangiosarcoma) เป็นต้น (Maddison *et al.*, 2008)



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของยาเคมีบำบัดวินคริสติน

ที่มา: Gidding *et al.* (1999)

กลไกการออกฤทธิ์และความเป็นพิษของยาเคมีบำบัดวินคริสติน

กลไกการออกฤทธิ์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอกคือ การที่ยาเข้าจับกับทูบูลินหรือไมโครทูบูลในไมโทติคสปินเดิล แล้วขัดขวางกระบวนการโพลีเมอไรเซชัน และยับยั้งการเกิดกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ (mitosis) ในระยะเมทาเฟส (Gidding *et al.*, 1999; McKnight, 2003; Said *et al.*, 2009) ซึ่งผลข้างเคียงของยาเคมีบำบัดวินคริสตินประกอบด้วย ความเป็นพิษต่อไขกระดูก โดยยาจะกีดการทำงานของไขกระดูก ทำให้การสร้างเม็ดเลือดชนิดต่างๆ ลดต่ำลง ซึ่งภาวะที่พบได้เสมอคือ การลดลงของจำนวนเม็ดเลือดขาว (leukopenia) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutropenia) ส่งผลให้ผู้ป่วยมีความไวในการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น ร่วมกับภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia) ยามีความเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหาร ทำให้เกิดการเบื่ออาหาร อาเจียน ท้องเสีย ค่าเอนไซม์ตับเพิ่มสูงขึ้น ทั้งยังมีความเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนปลายดังมีรายงานในหนูไม่ซ้ หนูขาว กระต่าย ไก่ และลิง (Jackson *et al.*, 1980; Ogilvie, 1998) นอกจากนี้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินยังจัดอยู่ในกลุ่มยาที่มีผลก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อสูง (highly vesicant) จึงจำเป็นต้องเพิ่มความระมัดระวังในการให้ยาเพื่อป้องกันการรั่วของยาออกนอกหลอดเลือด ซึ่งจะทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อจนเกิดเป็นเนื้อตายและหลุดลอก ดังนั้นเวลานัด

ควรจะฉีดผ่านเข็มพลาสติกที่คาไว้ที่เส้นเลือดดำ (intravenous catheter) เพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (Moore and Frimberger, 2010)

วิธีการวิเคราะห์ระดับยาเคมีบำบัดวินคริสติน

สำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณยาเคมีบำบัดวินคริสตินในชีวสารนั้น มีรายงานการใช้วิธีในการวิเคราะห์หลายวิธี อาทิ การวิเคราะห์ระดับยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของคนที่ใช้เทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) ทั้งที่ใช้ยูวี หรือฟลูออเรสเซนซ์เป็นตัวตรวจวัดสัญญาณ ซึ่งวิธีนี้มีข้อจำกัด เพราะความไวในการวิเคราะห์ไม่เพียงพอที่จะศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสติน (Corona *et al.*, 2008) ขณะที่การศึกษาข้อมูลด้านเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในน้ำไขสันหลังของคนด้วยเทคนิค radioimmunoassay พบว่าระดับของยาในตัวอย่างต่ำกว่าระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Jackson *et al.*, 1981) อีกทั้งความจำเพาะในการแยกสารตั้งต้นและรูปแบบเมตาบอไลต์ด้วยเทคนิคนี้มีระดับต่ำ จึงเป็นข้อจำกัดหลักของการนำไปใช้ (Corona *et al.*, 2008) เทคนิค liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) ได้นำมาใช้เพื่อตรวจวัดระดับยาในพลาสมาของเด็กทารก พบว่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.18 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรและระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) เท่ากับ 0.09 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Schmidt *et al.*, 2006) การวิเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสตินโดยใช้เทคนิค liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) ในพลาสมาของคนมีรายงานว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณยาได้ต่ำที่สุดคือ 0.25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าอัตราการกระจายตัวของยาเคมีบำบัดวินคริสตินจะเร็วมากแต่กระบวนการขับออกของยาจะช้า (Guilhaumou *et al.*, 2010) นอกจากนี้ Lee และคณะ (2007) ได้พัฒนาวิธีในการวิเคราะห์ปริมาณยาเคมีบำบัดวินคริสตินโดยใช้เทคนิค LC/MS/MS ในผู้ป่วยเด็กที่เป็นมะเร็งพบว่าระดับความเข้มข้นของยาที่ต่ำที่สุดที่วิเคราะห์ได้คือ 0.05 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งถือว่าเป็นเทคนิคในการวิเคราะห์ที่มีความไวกว่าเทคนิคอื่นๆที่มีรายงาน

การวิเคราะห์ระดับยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาโดยใช้เทคนิค LC/MS/MS เป็นวิธีการหนึ่งที่มีความไวและความแม่นยำในการวิเคราะห์สูง จึงสามารถใช้วัดระดับยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาในระดับต่ำได้ (Corona *et al.*, 2008) จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่เหมาะสมต่อการศึกษาคูสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินตามที่มีรายงานในปัจจุบัน ดังนั้นการศึกษาคูสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินร่วมกับการประเมินความสัมพันธ์ผลทางคลินิกในการรักษามะเร็งเป็นเนื้องอก TVT ด้วยเทคนิค LC/MS/MS เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่จำเป็น

ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก ทั้งยังสามารถใช้วิเคราะห์หาสาเหตุของการรักษาที่ไม่ได้
ประสิทธิภาพที่ดีพอ และเพื่อป้องกันหรือลดโอกาสในการเกิดปัญหาการดื้อยาที่อาจเกิดขึ้นต่อไป



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดสุนัข

- 1.1.1 หลอดฉีดขนาด 1 และ 3 มิลลิลิตร
- 1.1.2 เข็มฉีดยาเบอร์ 22 หรือเบอร์ 23 ความยาว 1 นิ้ว
- 1.1.3 หลอดเก็บเลือดขนาด 3 มิลลิลิตรที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA)
- 1.1.4 หลอดเก็บตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตร (microtube)
- 1.1.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) (รุ่น H-103N SERIES บริษัทKOKUSAN, Japan)
- 1.1.6 เวอร์เนียคาลิเปอร์แบบดิจิตอลสำหรับวัดขนาดเนื้องอก
- 1.1.7 กล้องโฟมบรรจุน้ำแข็งสำหรับแช่หลอดทดลองเก็บเลือด
- 1.1.8 สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin)
- 1.1.9 Pasture pipette และจุกยาง
- 1.1.10 ที่วางหลอดทดลองเก็บเลือด (rack)
- 1.1.11 ตารางบันทึกการให้ยาและการเก็บตัวอย่างเลือด
- 1.1.12 กระดาษกำกับตัวอย่างหรือกระดาษกาว
- 1.1.13 ปากกาเคมีแบบกันน้ำ
- 1.1.14 เครื่องชั่งน้ำหนัก
- 1.1.15 เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) (รุ่น G-560E บริษัทScientific, USA)

1.2 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเซลล์และชิ้นเนื้อ

- 1.2.1 สไลด์สำหรับตรวจเซลล์
- 1.2.2 ขวดแก้วหรือขวดพลาสติกสำหรับแช่ชิ้นเนื้อตัวอย่าง
- 1.2.3 สเปรย์ยาชา xylocaine 10%
- 1.2.4 กรรไกรสำหรับตัดชิ้นเนื้อ
- 1.2.5 วัสดุเย็บ

1.3 อุปกรณ์สำหรับการสกัดตัวอย่างและการวิเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสตินใน พลาสมาสุนัข

1.3.1 ตัวดูดซับของแข็งสำหรับการใช้ในการสกัด (Oasis HLB cartridge ขนาด 30 มิลลิกรัม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บริษัท Water, USA)

1.3.2 เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณยา LC-MS/MS (รุ่น 1290 series 6460 triple quadrupole mass spectrometer บริษัท Agilent Technologies, USA)

1.3.3 คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับยา (Poroshell 120 EC-C18 3.0 x 50 mm. 2.7 μ m บริษัท Agilent Technologies, USA)

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือดและชิ้นเนื้ออก TVT

2.1.1 สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin)

2.1.2 น้ำยาแช่ตัวอย่างชิ้นเนื้อ 10% neutral buffer formalin

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดและวิเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัข

2.2.1 สารมาตรฐาน Vincristine

2.2.2 สารมาตรฐานภายใน Vinblastine (internal standard; IS)

2.2.3 Methanol (HPLC grade)

2.2.4 Acetonitrile (HPLC grade)

2.2.5 Ammonium acetate

2.2.6 Acetic acid

2.2.7 4% Phosphoric acid

2.2.8 Vincristine Sulfate สำหรับฉีดรักษา TVT ในสุนัข

2.2.9 Milli-Q water

วิธีการ

1. สัตว์ทดลอง

สุนัขพันธุ์ผสมจำนวน 6 ตัว แบ่งเป็นเพศเมีย 3 ตัว เพศผู้ 3 ตัว อายุระหว่าง 2-7 ปี น้ำหนักอยู่ในช่วง 11-29 กิโลกรัม ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากชมรมวางแผนครอบครัวและส่งเสริมสวัสดิภาพสุนัข (DOG CHANCE) จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย ข้อมูลของสุนัขแต่ละตัวได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 สุนัขแต่ละตัวได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเนื้องอก TVT โดยการเก็บตัวอย่างตัวอย่างเซลล์และชิ้นเนื้อเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ซึ่งสุนัขทุกตัวไม่มีประวัติการได้รับยาเคมีบำบัดใดๆ เพื่อการรักษาเนื้องอก TVT มาก่อนเริ่มการศึกษาวิจัย นำสุนัขมาเลี้ยงแยกในกรง กรงละ 1 ตัว โดยใช้พื้นที่บริเวณอาคารสัตว์ทดลองของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ให้มีช่วงปรับสภาพสุนัขก่อนการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้สุนัขเกิดความคุ้นเคยและลดความเครียด ให้อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดสำหรับสุนัขวันละ 2 มื้อและน้ำดื่มไม่จำกัดปริมาณ (*ad libitum*) ตลอดระยะเวลาการศึกษา สุนัขทุกตัวจะได้รับยาบำรุงเลือดและยาบำรุงตับตลอดช่วงเวลากการเก็บตัวอย่างและยาอื่นๆ ตามความจำเป็น เช่น ยาปฏิชีวนะกรณีที่มีการติดเชื้อ โดยสุนัขทั้งหมดได้รับการดูแลภายใต้จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ข้อมูลทั่วไปและตำแหน่งของเนื้องอก TVT ของสุนัขที่นำมาศึกษาวิจัย

สุนัข ตัวที่	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	พื้นที่ผิว (ตารางเมตร)	ตำแหน่งของเนื้องอก
1	ผู้	3	29.2	0.944	บริเวณโคนกระเปาะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้
2	เมีย	3	16.6	0.647	ปากช่องคลอด
3	เมีย	7	12.5	0.535	ปากช่องคลอด
4	ผู้	3	12.3	0.532	บริเวณโคนกระเปาะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และภายนอกอุ้งหุ้มอวัยวะ
5	ผู้	2	15.1	0.60	บริเวณโคนกระเปาะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้
6	เมีย	6	11.4	0.51	ปากช่องคลอด

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองโดยการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ต่อเนื่องกันทุกสัปดาห์จนกว่าจะไม่พบเนื้องอกจากการสังเกตด้วยตาเปล่า ซึ่งก่อนการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินแต่ละครั้งจะทำการชั่งน้ำหนักสุนัขเพื่อนำไปคำนวณขนาดยาโดยการเทียบหน่วยน้ำหนักเป็นกิโลกรัมกับพื้นที่ผิว (ภาพผนวกที่ ก3) วัดขนาดของเนื้องอกโดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์แบบดิจิตอลแล้วถ่ายภาพการที่พบ ร่วมกับการเจาะเลือดสุนัขโดยใช้หลอดเก็บเลือดที่ภายในมี EDTA เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือด ได้แก่ เอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส (Alanine aminotransferase) และสารครีเอตินีน (Creatinine) เพื่อประเมินการทำงานของตับและไต ตามลำดับ



ภาพที่ 5 การวัดขนาดของเนื้องอก TVT โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์แบบดิจิตอล

3. การให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน

ให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน ขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดผ่านเข็มพลาสติก (IV catheter) เข้าทางหลอดเลือดดำที่ขาหน้า (Cephalic vein) ซึ่งจะช่วยป้องกันอุบัติการณ์ไม่พึงประสงค์จากการรั่วของยาออกนอกหลอดเลือดแล้วตามด้วยให้น้ำเกลือ NSS ปริมาตร 3 มิลลิลิตรทันทีภายหลังจากการให้ยาเพื่อเป็นการป้องกันการตกค้างของยาภายในหลอดเลือด ณ ตำแหน่งที่มีการให้ยาแล้วจึงบันทึกเวลาการให้ยา ให้ยาสัปดาห์ละ 1 ครั้งต่อเนื่องกันทุกสัปดาห์ โดยการรักษาจะสิ้นสุดเมื่อตรวจไม่พบการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าและสุนัขมีอาการเป็นปกติ



ภาพที่ 6 การใช้เข็มพลาสติก (IV catheter) เพื่อให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินเข้าทางหลอดเลือดดำที่
ขาหน้า (Cephalic vein)

4. การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโดยใช้เฮปารินเป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดจากหลอดเลือดดำที่บริเวณขาหน้า (Cephalic vein) ตามระยะเวลาต่างๆ คือ 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 นาที 2, 4, 6, 8, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างเลือดที่ได้มาปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (3,000 รอบต่อนาที) นาน 15 นาที เพื่อแยกพลาสมา จากนั้นจึงนำพลาสมาไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของยาต่อไป



ภาพที่ 7 การเจาะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่บริเวณขาหน้า (Cephalic vein)

5. ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณยาวินคริสตินโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid Phase Extraction)

ทำการสกัดยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid Phase Extraction; SPE) โดยประยุกต์วิธีการที่รายงานโดย Lee และคณะ (2007) เริ่มจากการนำพลาสมาที่แช่แข็งไว้ที่ -20°C ของเซลล์แชลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนพลาสมาละลาย จากนั้นนำพลาสมาไปเขย่าด้วยเครื่อง vortex จนพลาสมาเข้ากันดี เตรียมความพร้อมของ คอลัมน์ Oasis HLB cartridge ขนาด 30 มิลลิกรัม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ด้วยการเติมเมทานอล และ Milli-Q water ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเติมตัวอย่างพลาสมาปริมาตร 500 ไมโครลิตรซึ่งทำการตกตะกอนด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและเติมสารละลายมาตรฐานวินบลาสตินขนาด 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรแล้ว ทำการล้างคอลัมน์ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเติมเมทานอลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร เก็บของเหลวที่ผ่านออกมาแล้วนำไปประเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วจึงทำละลายกลับอีกครั้งด้วยสารละลายผสมระหว่างแอมโมเนียมอะซิเตตความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ปรับค่า pH 3.5 ด้วยกรดอะซิติกกับอะซิโตนไตรดี (50:50) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต่อจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าอัตโนมัติและนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำสารละลายส่วนใสที่อยู่ด้านบนไปใส่ในขวดบรรจุตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณยาเคมีบำบัดวินคริสตินด้วยเครื่อง LC-MS/MS ต่อไป



ภาพที่ 8 ขั้นตอนการเติมตัวอย่างพลาสมาลงใน Oasis HLB cartridge

6. วิธีการวิเคราะห์ด้วย LC-MS/MS

ทำการวิเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาด้วยเทคนิค LC-MS/MS โดยใช้เครื่องวิเคราะห์รุ่น 6460 triple quadrupole mass spectrometer (Agilent Technologies, USA) คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ Poroshell 120 EC-C18, 3.0 x 50 mm, 2.7- μ m column (Agilent Technologies, USA) สารละลายเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย mobile phase A (สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตในน้ำที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ pH 3.5) และ mobile phase B (100 % อะซิโตนไนไตรล์) สภาวะของเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 3 ปริมาณของตัวอย่างที่ฉีดคือ 10 ไมโครลิตร ควบคุมอุณหภูมิเครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติที่ 7 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างคือ 5 นาที โปรแกรมที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลคือ Agilent MassHunter B.06.00 (Agilent Technologies, USA) ใช้การวิเคราะห์มวลโมเลกุลแบบ multiple reaction monitoring (MRM) โดยเลือกค่ามวลต่อประจุ (m/z) precursor ion ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินคือ 825.4 และค่ามวลต่อประจุของ product ion คือ 765.4 ค่ามวลต่อประจุ (m/z) สำหรับสารมาตรฐานภายใน (internal standard) วินบลาสติน precursor ion มีค่า 811.4 และ product ion มีค่า 751.3 ซึ่งสภาวะของเครื่องที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 สภาวะของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับยา

เวลา (นาที)	% Phase A	% Phase B	อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)
0.00	90	10	0.5
0.50	90	10	0.5
3.00	5	95	0.5
5.00	5	95	0.5

ตารางที่ 4 สภาวะของเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับยา

พารามิเตอร์	หน่วย
Ionization	Electrospray ionization แบบ positive (ESI)
Capillary voltage	3500 โวลต์
อุณหภูมิของแก๊ส	330 องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของแก๊ส	8 ลิตรต่อนาที
Fragment energy	230 โวลต์
แรงดัน nebulizer	50 psi
อุณหภูมิของ sheath gas	380 องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของ sheath gas	10 ลิตรต่อนาที
Collision energy	40 โวลต์
Dwell time	100 ms

7. วิธีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ (Method validation)

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ดำเนินการโดย การศึกษาสภาพเชิงเส้นของวิธีการวิเคราะห์ โดยเตรียมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาสุนัขจำนวน 8 ความเข้มข้น คือ 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 50, 100 และ 150 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วดำเนินการทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intraday) และในแต่ละวัน (interday) ประเมินค่าร้อยละการคืนกลับ (% recovery) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานจำนวน 3 ความเข้มข้นคือ 2, 50 และ 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (limit of quantification) โดยการทดสอบซ้ำ 5 ซ้ำ การทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์คำนวณจากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation; RSD) ในแต่ละความเข้มข้นและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ในแต่ละวันตัดสินจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน 3 ระดับความเข้มข้นวิเคราะห์เป็นเวลา 5 วันติดต่อกัน ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์คำนวณจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่วัดได้กับค่าปกติแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์

8. การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์

ข้อมูลปริมาณความเข้มข้นของยาที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละตัวอย่างจะนำมาคำนวณพารามิเตอร์ที่สำคัญทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสติน โดยใช้โปรแกรม PK solution 2.0TM ค่าพารามิเตอร์ที่นำมาคำนวณได้แก่ ความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่เวลาเริ่มต้น (C_p^0) พื้นที่ใต้กราฟที่แสดงค่าระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมากับเวลา (AUC) ค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัวของยา ($t_{1/2\alpha}$) ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยา ($t_{1/2\beta}$) ค่าการกระจายตัวของยา (V_d) ค่าการกำจัดยา (CI) และค่าเฉลี่ยของเวลาที่ยาตกค้างในร่างกาย (MRT)

9. การประเมินการตอบสนองทางคลินิกและผลข้างเคียงจากยา

การประเมินการตอบสนองทางคลินิกจะดำเนินการก่อนการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในแต่ละครั้ง หรือทุก 7 วันนับจากการให้ยา โดยมีประเด็นที่นำมาพิจารณาคือ

9.1 การเปลี่ยนแปลงของขนาดเนื้องอก จากการตรวจประเมินการคงอยู่ของเนื้องอกด้วยตาเปล่าร่วมกับการวัดขนาดของเนื้องอกโดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์แบบดิจิตอลแล้วถ่ายภาพการที่พบ

9.2 เจาะเลือดสุนัขโดยใช้หลอดเก็บเลือดที่ภายในมี EDTA เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดได้แก่ เอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส (Alanine aminotransferase) และสารครีเอตินีน (Creatinine) เพื่อประเมินการทำงานของตับและไต ตามลำดับ

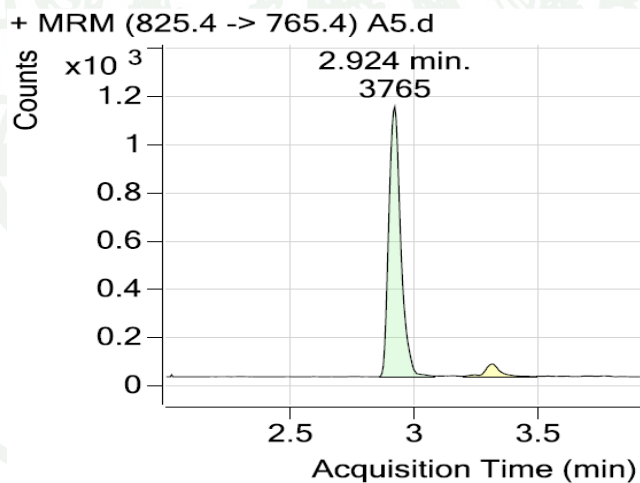
9.3 สังเกตอาการทางคลินิกของสุนัขว่าพบความผิดปกติ เช่น ชี้น เบื่ออาหาร ท้องเสีย หรือ อาเจียน

ผลและวิจารณ์

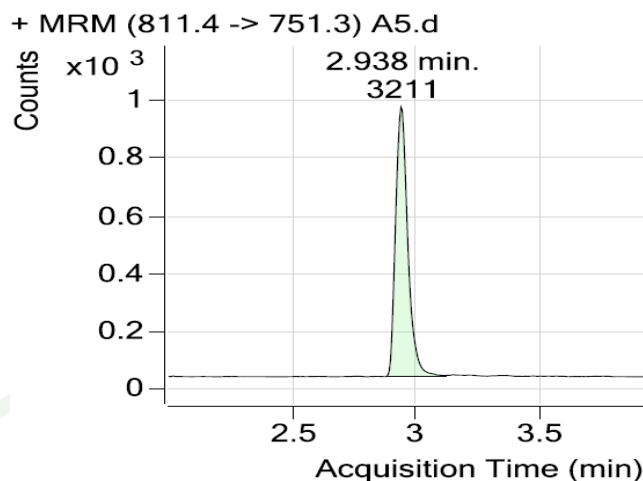
ผล

1. ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์

ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้ LC-MS/MS สำหรับแยกชนิดของสารและปริมาณของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัขที่เป็น TVT ปริมาณของยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่ได้ใช้รูปแบบการแตกตัวเป็นไอออนของสารแบบ Multiple Reaction Monitoring (MRM) ค่ามวลต่อประจุ (m/z) precursor ion ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินคือ 825.4 และค่ามวลต่อประจุของ product ion คือ 765.4 ค่ามวลต่อประจุ (m/z) สำหรับสารมาตรฐานภายใน (internal standard) วินบลาสติน precursor ion มีค่า 811.4 และ product ion มีค่า 751.3 จากโครมาโตแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า เวลาในการปรากฏของสาร (retention time) ของวินคริสตินและวินบลาสตินเท่ากับ 2.92 นาที (ภาพที่ 18) และ 2.93 นาที (ภาพที่ 19) ตามลำดับ



ภาพที่ 9 โครมาโตแกรมของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัข



ภาพที่ 10 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานวินบลาสตินในพลาสมาของสุนัข

สร้างเส้นกราฟเทียบมาตรฐาน (standard calibration curve) โดยนำค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานวินคริสติน 8 ความเข้มข้น คือ 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 50, 100, และ 150 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาพลอตกับค่าสัญญาณตอบสนองของเทคนิค LC-MS/MS โดยให้ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานเป็นแกน X และค่าสัญญาณตอบสนองเป็นแกน Y พบว่าความสัมพันธ์ที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination; r^2) ที่ใกล้ 1 คือ เท่ากับ 0.992 ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างค่า X และค่า Y

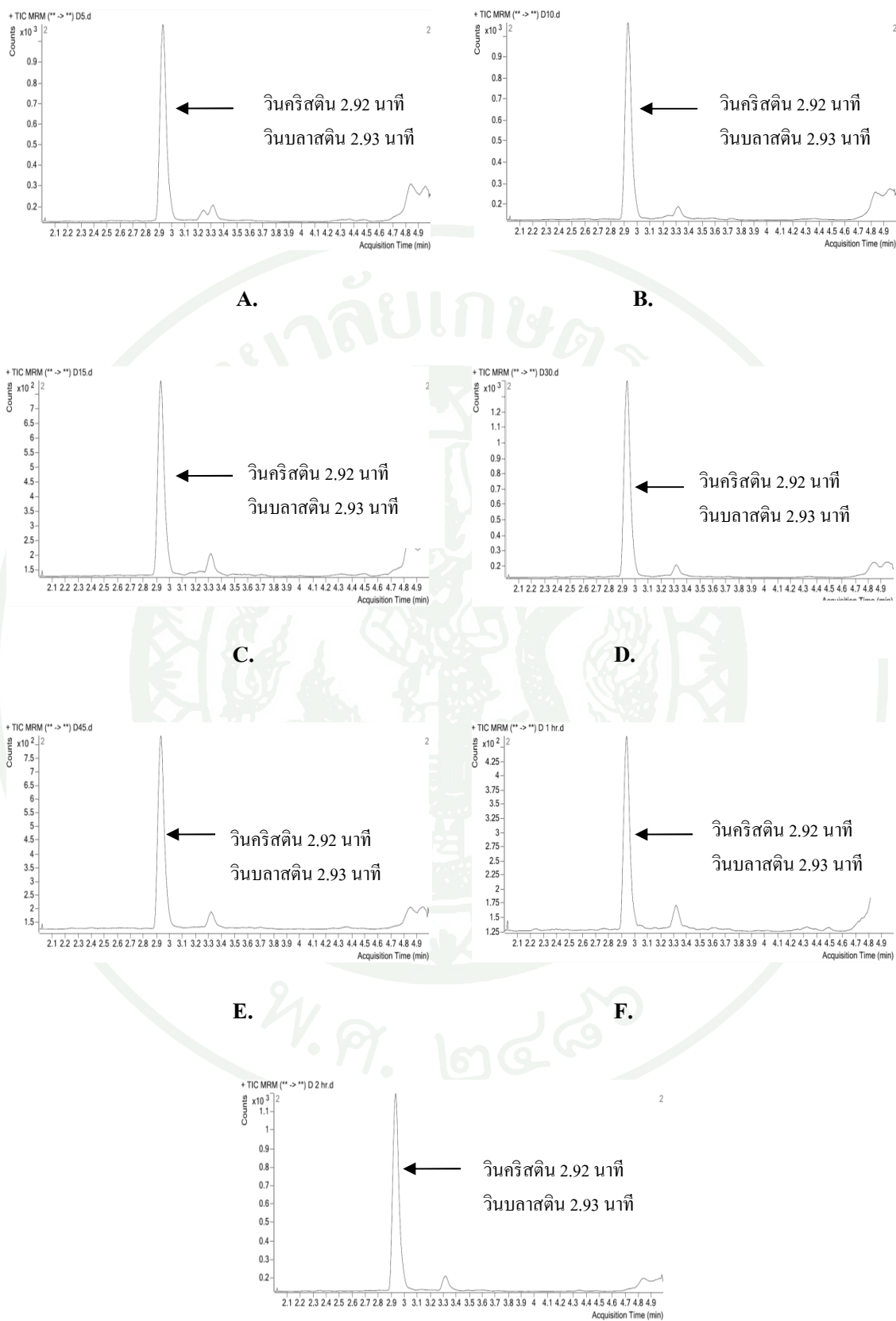
ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าร้อยละของการคืนกลับเท่ากับ 84.18 ± 6.08 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ค่าการทดสอบหาความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและต่างวันกันแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (intra-day accuracy, intra-day precision) และความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ต่างวันกัน (inter-day accuracy, intra-day precision) ของยาวินคริสตินในพลาสมาสุนัข (n=5)

QC sample concentration (ng/ml)	Mean $\pm$ SD (ng/mL)	Accuracy (%)	Precision (% R.S.D)
Intra-day (5 days)			
2.0	2.05 $\pm$ 0.20	102.3	6.46
50	49.91 $\pm$ 0.81	99.77	1.59
100	99.93 $\pm$ 0.99	99.91	0.92
Inter-day (5 days)			
2.0	2.22 $\pm$ 0.18	107.7	4.35
50	49.23 $\pm$ 1.97	98.86	3.71
100	99.99 $\pm$ 0.92	99.95	0.90

ภาพที่ 11 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัขที่เป็น TVT โดยมีวินบลาสตินเป็นสารมาตรฐานภายใน (IS)

- A. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 5 นาทีภายหลังจากได้รับยา
- B. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 10 นาทีภายหลังจากได้รับยา
- C. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 15 นาทีภายหลังจากได้รับยา
- D. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 30 นาทีภายหลังจากได้รับยา
- E. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 45 นาทีภายหลังจากได้รับยา
- F. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 60 นาทีภายหลังจากได้รับยา
- G. โครมาโทแกรมของวินคริสตินและวินบลาสตินที่เวลา 120 นาทีภายหลังจากได้รับยา

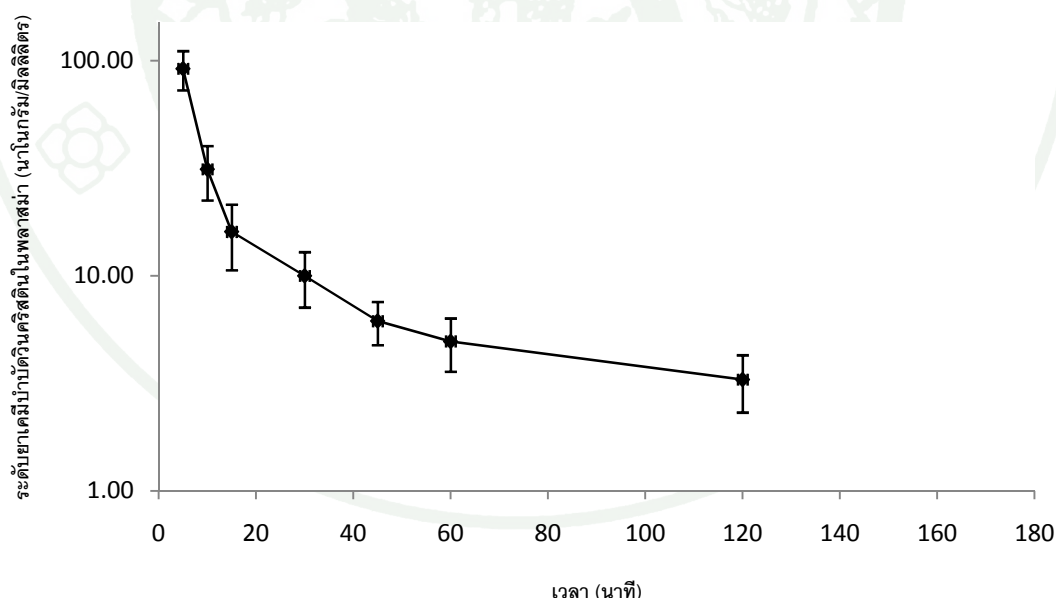


G.

ภาพที่ 11

2. ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์

ภาพที่ 15 แสดงค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาสุนัขที่เป็น TVT ณ เวลาต่างๆ ภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินจนถึง 120 นาทีภายหลังจากการได้รับยาในขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร แล้วเก็บเลือดที่เวลาต่างๆ นำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาในพลาสมาด้วยเทคนิค LC-MS/MS ได้ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัขที่เป็นที่ TVT แสดงในตารางที่ 6 โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาสุนัขภายหลังจากการให้เข้าหลอดเลือดดำพบว่าค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเริ่มต้นที่ได้ (C_p^0) มีค่าเท่ากับ 118.75 ± 18.04 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรการกระจายตัวของยา (V_d) เท่ากับ 0.66 ± 0.21 ลิตรต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ยของเวลาที่ยาตกค้างในร่างกาย (MRT) เท่ากับ 55.95 ± 19.31 นาที อัตราเร็วคงที่ในการกำจัดยา เท่ากับ 0.02 ± 0.00 ค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัวของยา ($t_{1/2\alpha}$) เท่ากับ 21.50 ± 6.90 นาที ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยา ($t_{1/2\beta}$) เท่ากับ 47.57 ± 14.23 นาที ค่าการกำจัดยาออกจากร่างกาย (CI) เท่ากับ 0.01 ± 0.00 ลิตรต่อนาที่ต่อกิโลกรัม พื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยากับเวลา ($AUC_{(0-t)}$) เท่ากับ 2049.00 ± 276.86 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร



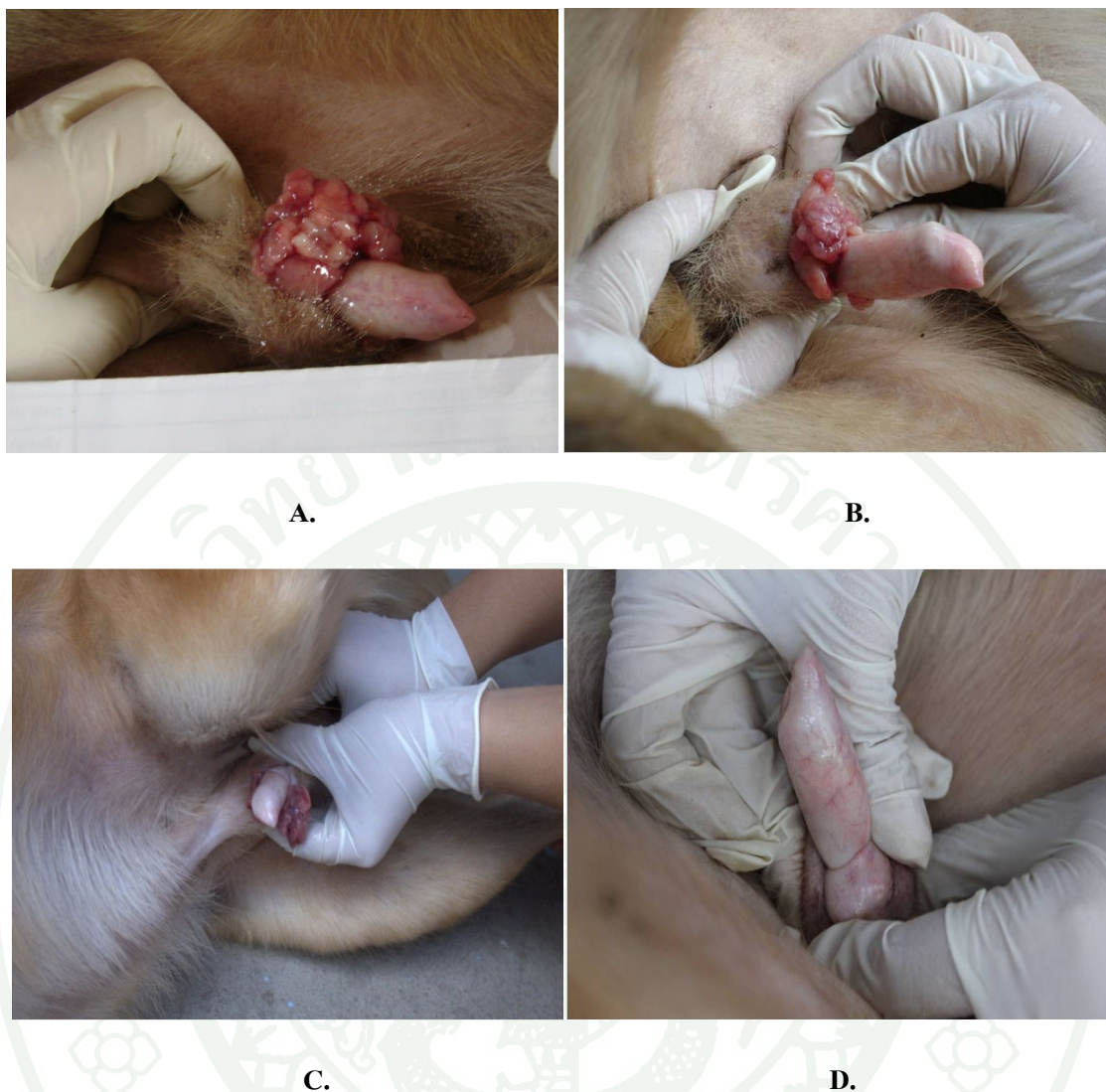
ภาพที่ 12 ความเข้มข้นเฉลี่ย ($\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัขที่เป็นเนื้องอก TVT ภายหลังจากการให้ยาขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ($n = 6$)

ตารางที่ 6 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ (mean $\pm$ SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาภายหลังจากการให้ยาขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำในสุนัขที่เป็นเนื้องอก TVT (n = 6)

พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD)
C_p^0 (ng/mL)	118.75 $\pm$ 18.04
K_{12} (min ⁻¹)	0.094 $\pm$ 0.035
K_{21} (min ⁻¹)	0.029 $\pm$ 0.012
$t_{1/2\alpha}$ (min)	21.50 $\pm$ 6.90
$t_{1/2\beta}$ (min)	47.57 $\pm$ 14.23
Cl (L/min/kg)	0.01 $\pm$ 0.00
V_{darea} (L/Kg)	0.66 $\pm$ 0.21
MRT (min)	55.95 $\pm$ 19.31
AUC _(0-t) (ng/min/mL)	2349.00 $\pm$ 316.86

3. ผลการตอบสนองทางคลินิก

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรให้ผลตอบสนองต่อการรักษาที่ดี จากการสังเกตพบการฝ่อตัวของเนื้องอกมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ภายหลังจากการให้ยาครั้งแรก 1 สัปดาห์ และมีจำนวนครั้งของการให้ยาจนไม่พบเนื้องอกจากการสังเกตด้วยตาเปล่าอยู่ระหว่าง 3-8 ครั้งในสุนัขจำนวน 5 ตัว ขณะเดียวกันที่มีสุนัขจำนวน 1 ตัวที่มีการตอบสนองของเนื้องอกเพียงบางส่วนหลังจากให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินจำนวน 8 ครั้ง โดยพบก้อนเนื้องอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร อยู่บริเวณกระเปาะบริเวณโคนอวัยวะสืบพันธุ์ จึงทำการผ่าตัดโดยใช้วิธี scrotal urethrostomy เพื่อกำจัดก้อนเนื้องอกที่ยังคงเหลืออยู่ สำหรับผลข้างเคียงจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน พบว่ามีสุนัขจำนวน 3 ตัว แสดงอาการทางระบบทางเดินอาหาร เช่น เบื่ออาหาร อาเจียนและท้องเสีย ภายหลังจากให้ยาในครั้งแรก ขณะที่ผลข้างเคียงเกี่ยวข้องกับระบบเลือดได้แก่ ภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำพบในสุนัขตัวที่ 2 และตัวที่ 5 ภายหลังจากการได้รับยา 2 (ตารางที่ 8) และ 1 ครั้ง (ตารางที่ 11) ตามลำดับ สำหรับค่าชีวเคมีของเลือดได้แก่ ALT และ creatinine ของสุนัขทั้ง 6 ตัว ภายหลังจากการให้ยาในแต่ละสัปดาห์ยังอยู่ในเกณฑ์ค่าอ้างอิง



ภาพที่ 13 ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณ โคนกระเปาะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของสุนัขตัวที่ 1 ก่อนการรักษาและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร สัปดาห์ละ 1 ครั้งติดต่อกันเป็นเวลา 3 สัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)

หมายเหตุ: การถ่ายภาพอาการเนื้องอก TVT จะดำเนินการในวันเดียวกันกับที่ทำการให้ยา โดยจะถ่ายภาพก่อนการให้ยาในแต่ละครั้ง

ภาพที่ 14 ลักษณะอาการที่มองด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอดของสุนัขตัวที่ 2 ก่อนและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 7 สัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- F. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 5 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- G. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 6 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 6)
- H. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7)

หมายเหตุ: การถ่ายภาพอาการเนื้องอก TVT จะดำเนินการในวันเดียวกันกับที่ทำการให้ยา โดยจะถ่ายภาพก่อนการให้ยาในแต่ละครั้ง



A.

B.



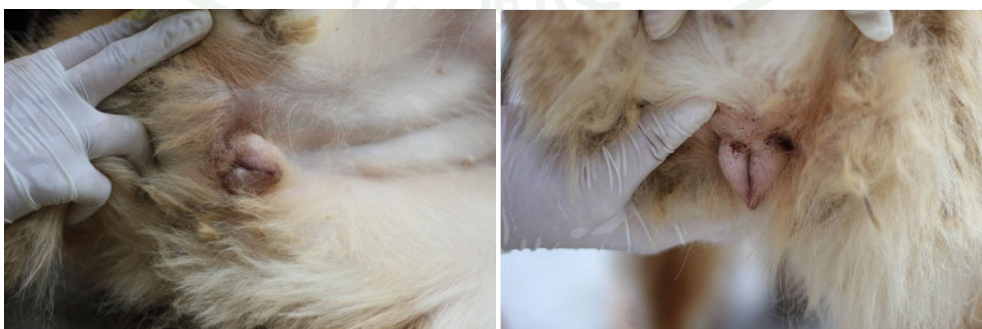
C.

D.



E.

F.



G.

H.

ภาพที่ 14

ภาพที่ 15 ลักษณะอาการที่มองด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอดของสุนัขเพศเมียตัวที่ 3 ก่อนและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 7 สัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- F. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 5 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- G. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 6 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 6)
- H. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7)

หมายเหตุ: การถ่ายภาพอาการเนื้องอก TVT จะดำเนินการในวันเดียวกันกับที่ทำการให้ยา โดยจะทำการก่อนการให้ยาในแต่ละครั้ง



A.

B.



C.

D.



E.

F.



G.

H.

ภาพที่ 15

ภาพที่ 16 ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณโคนกระเปาะอวัยวะเพศผู้ ทั้งภายในและภายนอกถุงหุ้มอวัยวะของสุนัขตัวที่ 4 ก่อนและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 7 สัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 5 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- F. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ สัปดาห์ที่ 7)

หมายเหตุ: การถ่ายภาพอาการเนื้องอก TVT จะดำเนินการในวันเดียวกันกับที่ทำการให้ยา โดยจะถ่ายภาพก่อนการให้ยาในแต่ละครั้ง



A.



B.



C.



D.



E.



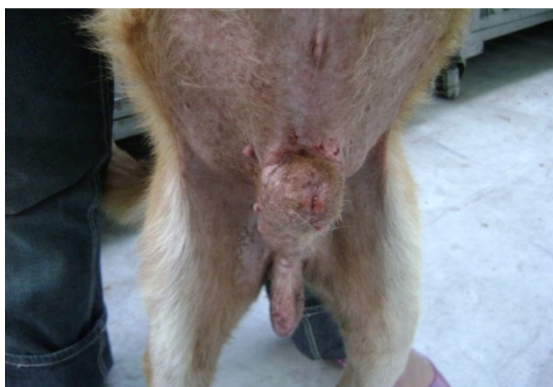
F.

ภาพที่ 16

ภาพที่ 17 ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณโคนกระเปาะอวัยวะเพศของผู้ของสุนัขตัวที่ 5 ก่อนและภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสทีนขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 7 สัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- E. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 5 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- F. ลักษณะอาการภายหลังจากการให้ยา 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ สัปดาห์ที่ 7)

หมายเหตุ: การถ่ายภาพอาการเนื้องอก TVT จะดำเนินการในวันเดียวกันกับที่ทำการให้ยา โดยจะถ่ายภาพก่อนการให้ยาในแต่ละครั้ง



A.



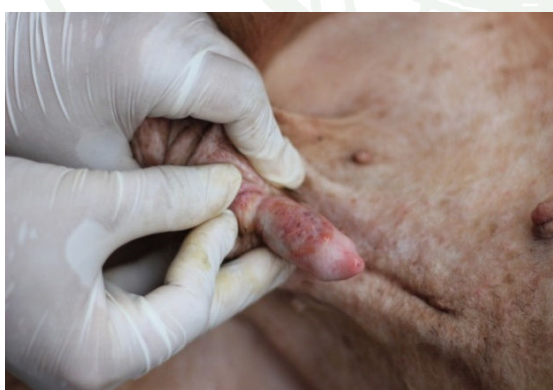
B.



C.



D.



E.



F.

ภาพที่ 17

ภาพที่ 18 ลักษณะอาการที่มองเห็นด้วยตาเปล่าของเนื้องอก TVT บริเวณปากช่องคลอดของสุนัขตัวที่ 6 ก่อนและภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 7 สัปดาห์

- A. ลักษณะอาการก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0)
- B. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยาไปแล้ว 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 1)
- C. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยา 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 2)
- D. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยา 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 3)
- E. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยา 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 4)
- F. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยา 5 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 5)
- G. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยา 6 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 6)
- H. ลักษณะอาการหลังจากการให้ยา 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 1 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 7)

หมายเหตุ: การถ่ายภาพอาการเนื้องอก TVT จะดำเนินการในวันเดียวกันกับที่ทำการให้ยา โดยจะถ่ายภาพก่อนการให้ยาในแต่ละครั้ง



A.

B.



C.

D.



E.

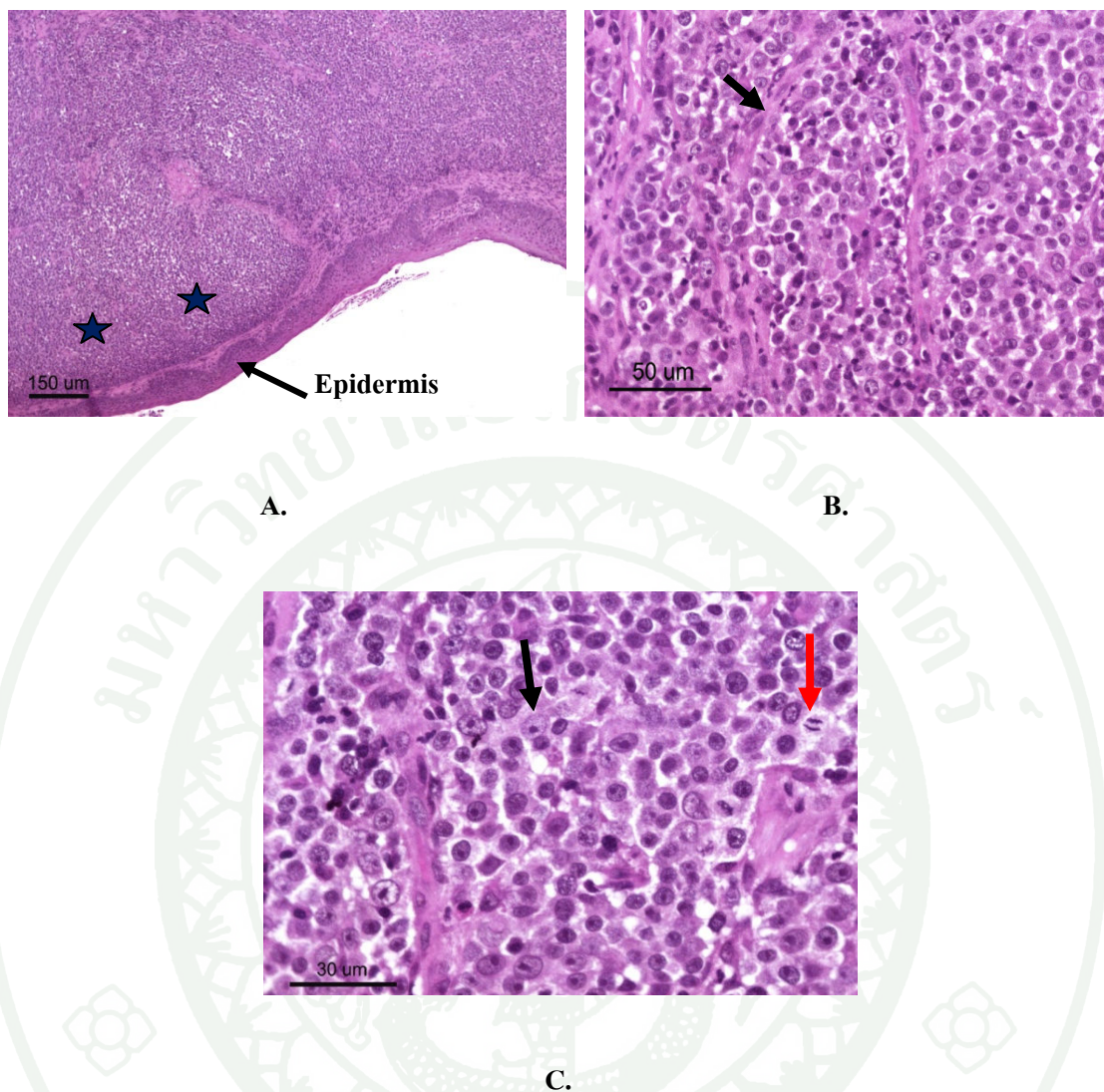
F.



G.

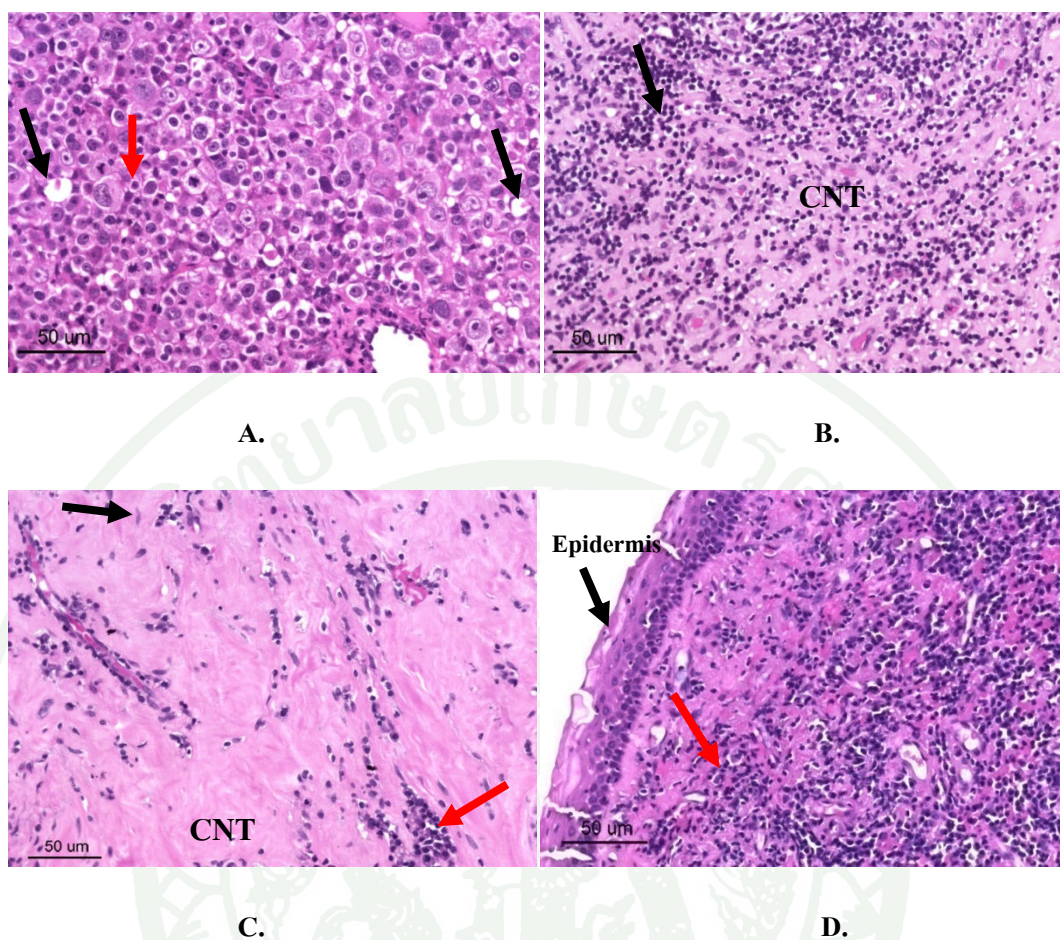
H.

ภาพที่ 18



ภาพที่ 19 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้องอก TVT ที่ย้อมด้วยวิธี H&E staining ก่อนการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดวินคริสติน

- A. กลุ่มของเซลล์ TVT (รูปดาว) มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ (กำลังขยาย 5x)
- B. กลุ่มของเซลล์ TVT ที่ถูกล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue, CNT) (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย 20x)
- C. ลักษณะของเซลล์ TVT (ลูกศรสีดำ) ซึ่งมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ นิวเคลียสกลมมีนิวคลีโอลัสเด่น 1 อัน ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูจางๆ (eosinophilic) นิวเคลียสติดสีน้ำเงิน (basophilic) และพบ mitotic figure (ลูกศรสีแดง) (กำลังขยาย 40x)



ภาพที่ 20 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้องอก TVT ที่ย้อมด้วยวิธี H&E staining ภายหลังจากรักษาด้วยยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร

- A. ลักษณะภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 2 สัปดาห์ พบอะพอพโตติก เซลล์ (Apoptotic cell) ที่เซลล์มีลักษณะหดตัวเล็กลงและมีช่องว่างคล้ายทรงกลดชัดเจน (halo-like clear space) (ลูกศรสีดำ) และพบเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (ลูกศรสีแดง) เล็กน้อย
- B. ลักษณะภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 3 สัปดาห์ พบการแทนที่เซลล์ TVT ด้วยกลุ่มของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (ลูกศรชี้) เป็นจำนวนมาก
- C. ลักษณะภายหลังจากการได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 4 สัปดาห์ พบเซลล์ TVT มีปริมาณลดน้อยลงและมีการแทนที่ด้วยเซลล์รูปกระสวยหรือไฟโบรบลาสต์ (ลูกศรสีดำ) จำนวนมาก พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue, CNT เพิ่มขึ้นและมีเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (ลูกศรสีแดง) เข้ามาแทรกตัวมากขึ้น
- D. ลักษณะภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดแล้ว 6 สัปดาห์ พบกลุ่มของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์จำนวนมาก (ลูกศรชี้) และมีการแทนที่เซลล์ TVT ด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

ตารางที่ 7 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดของสุนัขตัวที่ 1 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกันตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดเข็มที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา

ค่าที่ตรวจ	การตรวจติดตามผล			
	ก่อนฉีดเข็มที่ 1	ก่อนฉีดเข็มที่ 2	ก่อนฉีดเข็มที่ 3	ค่าอ้างอิง*
RBC (M/ μ L)	5.9	5.79	5.01	5-9
Hemoglobin (g/dL)	11.2	11.8	10.2	10-18
Hematocrit (%)	32.2	36.5	32.1	35-55
MCV	55	63.1	64	60-77
MCHC	34.7	32.3	31.7	32-36
WBC count	12.89×10^3	8.02×10^3	14.6×10^3	6×10^3 - 17×10^3
Neutrophil	5,414	3,158	6,745	3,000-11,400
Lymphocyte	5,800	4,353	6,993	1,000-4,800
Eosinophil	1,160	0	2	100-750
Monocyte	516	462	836	150-1,350
Basophil	0	47	24	rare
Platelet ($\times 10^3$ / μ L)	0.81	243	101	200-500
Creatinine (mg/dL)	1.3	1.1	1.1	0.5-1.3
ALT (U/L)	25	40	32	6-70

หมายเหตุ *ค่าปกติ: ที่มาโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ตารางที่ 8 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดของสุนัขตัวที่ 2 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกันตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดเข็มที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการรักษา

ค่าที่ตรวจ	การตรวจติดตามผล								ค่าอ้างอิง*
	ก่อนฉีดเข็มที่ 1	ก่อนฉีดเข็มที่ 2	ก่อนฉีดเข็มที่ 3	ก่อนฉีดเข็มที่ 4	ก่อนฉีดเข็มที่ 5	ก่อนฉีดเข็มที่ 6	ก่อนฉีดเข็มที่ 7	ก่อนฉีดเข็มที่ 8	
RBC (M/ μ L)	6.93	6.33	5.50	5.33	6	5.66	5.64	5.92	5-9
Hemoglobin (g/dL)	15.7	13.9	11.5	11.3	11.7	10.6	10.2	11.1	10-18
Hematocrit (%)	42.7	40	36.7	32.8	37.3	34.2	35.1	32.3	35-55
MCV	62	63.3	66.7	61.5	62.2	60.3	62.3	54.6	60-77
MCHC	36.8	34.7	31.3	34.5	31.5	30.9	29.1	34.3	32-36
WBC count	17.48×10^3	8.4×10^3	2.56×10^3	2.55×10^3	3.22×10^3	3.70×10^3	4.10×10^3	2.95×10^3	6×10^3 - 17×10^3
Neutrophil	12,716	4,400	758	1,038	1,262	1,846	1,193	1,649	3,000-11,400
Lymphocyte	883	640	608	1,089	712	1,846	738	761	1,000-4,800
Eosinophil	883	30	1	23	1	0	0	28	100-750
Monocyte	3,002	2890	1,144	400	1,195	8	2,013	508	150-1,350
Basophil	0	440	49	0	52	0	156	4	rare
Platelet ($\times 10^3$ / μ L)	14.1	66.5	84	95.3	40.9	46	24.6	119	200-500
Creatinine (mg/dL)	0.9	0.7	0.8	0.7	0.7	0.7	0.9	0.9	0.5-1.3
ALT (U/L)	21	23	20	23	8	14	19	19	6-70

หมายเหตุ *ค่าปกติ: ที่มาโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ตารางที่ 9 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดของสุนัขตัวที่ 3 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกันตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดเข็มที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนสิ้นสุดการรักษา

ค่าที่ตรวจ	การตรวจติดตามผล							ค่าอ้างอิง*
	ก่อนฉีดเข็มที่ 1	ก่อนฉีดเข็มที่ 2	ก่อนฉีดเข็มที่ 3	ก่อนฉีดเข็มที่ 4	ก่อนฉีดเข็มที่ 5	ก่อนฉีดเข็มที่ 6	ก่อนฉีดเข็มที่ 7	
RBC (M/ μ L)	6.67	6.11	6.16	6.31	6.02	6.37	6.68	5-9
Hemoglobin (g/dL)	12.4	11.4	11.8	11.7	11.5	12.2	12.7	10-18
Hematocrit (%)	35.4	34.3	34.9	36.9	33.4	35.4	37.7	35-55
WBC count	20.34×10^3	9.65×10^3	10.5×10^3	10.3×10^3	7.86×10^3	6.30×10^3	4.82×10^3	6×10^3 - 17×10^3
MCV	53	56.2	56.6	58.4	55.4	55.5	56.5	60-77
MCHC	35	33.3	33.8	18.5	34.6	34.4	33.6	32-36
Neutrophil	13,017	2,664	3,864	2,709	3,230	1,865	2,102	3,000-11,400
Lymphocyte	3,662	6,050	6,573	6,983	4,112	3,698	2,666	1,000-4,800
Eosinophil	3,051	104	19	7	492	576	37	100-750
Monocyte	610	789	36	552	26	161	12	150-1,350
Basophil	0	43	1	41	0	0	3	rare
Platelet ($\times 10^3$ / μ L)	4.61	119	224	265	178	194	96.9	200-500
Creatinine (mg/dL)	0.8	0.7	0.9	0.8	0.8	0.9	1.1	0.5-1.3
ALT (U/L)	19	16	20	24	22	28	28	6-70

หมายเหตุ *ค่าปกติ: ที่มาโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ตารางที่ 10 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดของสุนัขตัวที่ 4 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกันตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดเข็มที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์

ค่าที่ตรวจ	การตรวจติดตามผล								ค่าอ้างอิง*
	ก่อนฉีดเข็มที่ 1	ก่อนฉีดเข็มที่ 2	ก่อนฉีดเข็มที่ 3	ก่อนฉีดเข็มที่ 4	ก่อนฉีดเข็มที่ 5	ก่อนฉีดเข็มที่ 6	ก่อนฉีดเข็มที่ 7	ก่อนฉีดเข็มที่ 8	
RBC (M/ μ L)	3.36	4.34	4.31	4.25	5.32	4.75	5.16	5.03	5-9
Hemoglobin (g/dL)	6.5	9.56	8.93	8.85	10.7	9.23	10.2	9.75	10-18
Hematocrit (%)	20.6	27.7	28.2	25.8	33.7	29.6	30.2	28.5	35-55
WBC count	21.89×10^3	7.68×10^3	9.22×10^3	9.13×10^3	10.58×10^3	6.48×10^3	6.90×10^3	5.11×10^3	6×10^3 - 17×10^3
MCV	61	63.9	65.6	60.7	63.4	62.3	58.5	56.8	60-77
MCHC	31.4	34.5	31.6	34.3	31.6	31.2	33.8	34.2	32-36
Neutrophil	12,696	3,295	2,978	2,446	4,378	2,280	2,056	982	3,000-11,400
Lymphocyte	5,472	3,925	6,168	5,359	6,169	3,849	4,229	3,469	1,000-4,800
Eosinophil	1,752	23	0	726	0	2	586	418	100-750
Monocyte	1,970	405	66	558	40	345	13	169	150-1,350
Basophil	0	33	8	41	1	4	16	72	rare
Platelet ($\times 10^3$ / μ L)	2.09	99.2	216	288	245	222	147	170	200-500
Creatinine (mg/dL)	1	0.8	0.9	0.8	0.9	0.9	1.0	1.0	0.5-1.3
ALT (U/L)	24	22	32	27	35	33	39	32	6-70

หมายเหตุ *ค่าปกติ: ที่มาโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ตารางที่ 11 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดของสุนัขตัวที่ 5 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกันตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดเข็มที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนสิ้นสุดการรักษา

ค่าที่ตรวจ	การตรวจติดตามผล								
	ก่อนฉีดเข็มที่ 1	ก่อนฉีดเข็มที่ 2	ก่อนฉีดเข็มที่ 3	ก่อนฉีดเข็มที่ 4	ก่อนฉีดเข็มที่ 5	ก่อนฉีดเข็มที่ 6	ก่อนฉีดเข็มที่ 7	ก่อนฉีดเข็มที่ 8	ค่าอ้างอิง*
RBC (M/ μ L)	4.32	4.53	4.28	4.35	4.58	4.71	4.55	4.30	5-9
Hemoglobin (g/dL)	8.5	9.79	9.13	9.13	9.25	9.48	9.38	8.94	10-18
Hematocrit (%)	25.8	28.5	26.7	26.9	28.8	29.9	30.9	26.0	35-55
WBC count	16.71x10 ³	4.27x10 ³	7.83x10 ³	3.02x10 ³	5.89x10 ³	4.03x10 ³	2.66x10 ³	4.03x10 ³	6x10 ³ -17x10 ³
MCV	60	62.9	62.4	61.7	62.8	63.4	67.9	60.4	60-77
MCHC	32.9	34.4	34.2	34	32.2	31.7	30.4	34.4	32-36
Neutrophil	10,027	803	4,134	1,241	2,332	1,100	2,052	1,523	3,000-11,400
Lymphocyte	4,178	2,895	3,641	1,616	3,415	2,913	290	2,224	1,000-4,800
Eosinophil	1,169	11	35	41	0	13	0	54	100-750
Monocyte	1,336	555	20	115	135	0	300	204	150-1,350
Basophil	0	6	0	7	8	4	18	25	rare
Platelet (x10 ³ / μ L)	6.52	447	528	446	395	365	426	280	200-500
Creatinine (mg/dL)	0.9	0.6	0.7	0.6	0.7	0.8	0.9	0.9	0.5-1.3
ALT (U/L)	28	72	48	31	26	25	26	16	6-70

หมายเหตุ *ค่าปกติ: ที่มาโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ตารางที่ 12 ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดของสุนัขตัวที่ 6 ที่ทำการตรวจต่อเนื่องกันตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา (ก่อนฉีดเข็มที่ 1) และก่อนการให้ยาเคมีบำบัด วินคริสตินในแต่ละสัปดาห์จนสิ้นสุดการรักษา

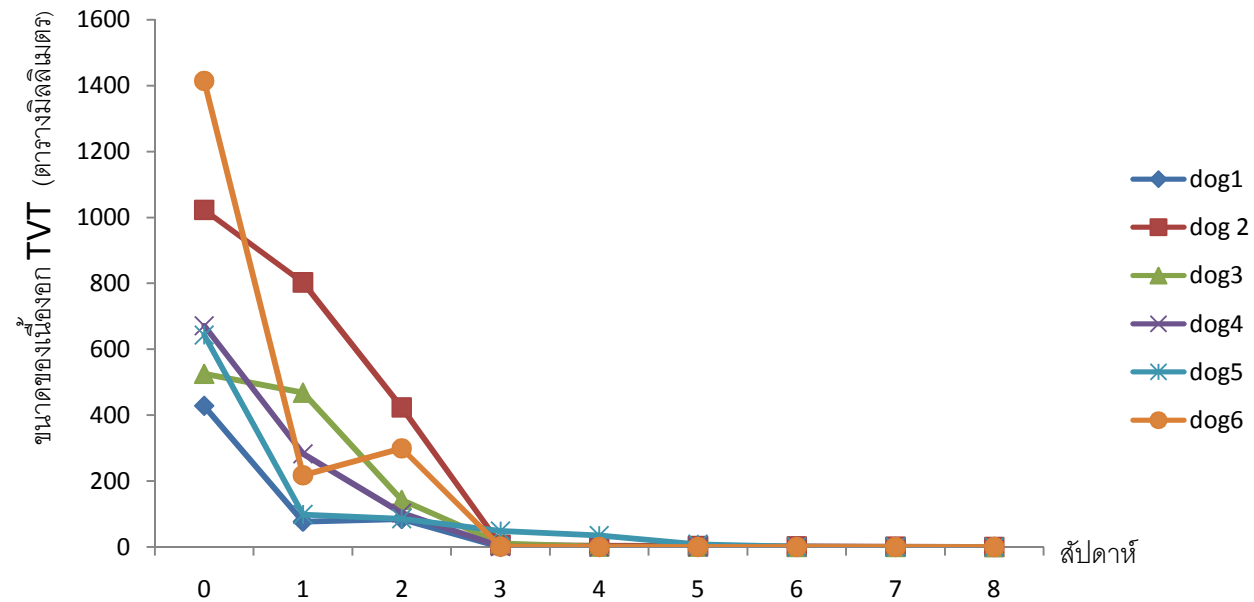
ค่าที่ตรวจ	การตรวจติดตามผล							
	ก่อนฉีดเข็มที่ 1	ก่อนฉีดเข็มที่ 2	ก่อนฉีดเข็มที่ 3	ก่อนฉีดเข็มที่ 4	ก่อนฉีดเข็มที่ 5	ก่อนฉีดเข็มที่ 6	ก่อนฉีดเข็มที่ 7	ก่อนฉีดเข็มที่ 8
RBC (M/ μ L)	3.79	3.43	4.41	4.22	5.23	4.91	3.65	4.75
Hemoglobin (g/dL)	7.3	7.22	9	8.31	10.4	9.55	6.86	8.88
Hematocrit (%)	22.6	23.5	28	27.5	30.9	28.8	23.7	27.2
WBC count	14.46×10^3	9.95×10^3	8.84×10^3	8.25×10^3	7.15×10^3	5.57×10^3	1.56×10^3	5.41×10^3
MCV	59	23.5	63.6	65	59.1	58.6	64.9	57.2
MCHC	32.5	30.7	32.1	30.3	33.5	33.2	28.9	32.7
Neutrophil	8,676	3,695	4,773	4,389	2,904	2,813	840	2,375
Lymphocyte	3,615	4,860	3,959	2,886	3,769	2,524	526	2,884
Eosinophil	1,013	0	91	2	159	117	3	134
Monocyte	1,156	1,373	17	932	292	117	190	17
Basophil	0	22	0	41	26	0	1	0
Platelet ($\times 10^3/\mu$ L)	5.21	335	385	343	303	297	18.5	146
Creatinine (mg/dL)	0.9	0.6	0.8	0.6	0.7	0.7	0.8	0.9
ALT (U/L)	28	15	17	19	17	20	18	23

หมายเหตุ *ค่าปกติ: ที่มาโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ตารางที่ 13 ขนาดของเนื้องอก TVT (กว้างxยาวxสูง) หน่วยเป็นมิลลิเมตรที่ทำการตรวจวัดตั้งแต่ก่อนการให้ยาครั้งแรกและทุกๆสัปดาห์ก่อนการให้ยาครั้งต่อไป จนถึงสิ้นสุดการรักษา

สุนัข ตัวที่	การติดตามผลการรักษา								หลังจากฉีด ครั้งที่ 8
	ก่อนฉีด ครั้งที่ 1	ก่อนฉีด ครั้งที่ 2	ก่อนฉีด ครั้งที่ 3	ก่อนฉีด ครั้งที่ 4	ก่อนฉีด ครั้งที่ 5	ก่อนฉีด ครั้งที่ 6	ก่อนฉีด ครั้งที่ 7	ก่อนฉีด ครั้งที่ 8	
1	34.61x38.99 x31.84	23.64x26.74 x12.19	20.60x23.43 x17.60	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	47.6x52.11 x41.26	48.33x54.68 x30.39	41.50x41.86 x24.40	8.11x10.15 x7.47	7.43x9.51 x5.03	7x8.7x4.6	6.28x7.46x3.21	6.00x6.06x2.85	ND
3	37.33x45.87 x30.68	36.29x47.71 x27.04	26.01x32.14 x17.03	11.86x17.37 x5.17	11.28x6.23 x2	4.47x7.04x3.08	**	-	-
4	42.82x45.66 x34.36	34.52x40.37 x20.28	19.77x34.42 x15.14	6.75x11.15 x9.81	6.35x11.14 x5.85	7.97x11.03 x5.25	7.36x11.74 x2.39	7x11x2	7x10x2
5	37.97x46.37 x36.53	23.41x34.42 x12.23	22.34x36.97 x10.39	19.33x22.83 x10.98	20.38x16.0 9x10.57	25.77x16.68 x1.85	19.67x16.04 x0.2	15.15x10x0.2	ND
6	56.33x50.76 x49.48	35.06x38.34 x16.17	32.59x46.18 x19.87	5.97x6.31 x2.91	2.93x1.6 x1.91	2.14x1.54x1.76	3.6x2.7x0.72	2.49x2.72x0.47	ND

หมายเหตุ ND = ตรวจไม่พบวิกิจาจากการสังเกตด้วยตาเปล่า, **ไม่สามารถวัดได้เนื่องจากเนื้องอกมีขนาดเล็กมากและอยู่ด้านในอวัยวะสืบพันธุ์ตั้งแต่ก่อนการรักษจนถึงสิ้นสุดการรักษา



ภาพที่ 21 กราฟแสดงขนาดของเนื้องอก TVT (ตารางมิลลิเมตร) ของสุนัขแต่ละตัวภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรด้วยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ โดยสัปดาห์ที่ 0 เป็นสัปดาห์ก่อนเริ่มการรักษา

ตารางที่ 14 จำนวนครั้งของการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกาย
หน่วยตารางเมตรติดต่อกันทุกสัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนกระทั่งไม่พบเนื้องอกจาก
การมองเห็นด้วยตาเปล่า

สุนัขตัวที่	จำนวนครั้งในการฉีด
1	3
2	8
3	7
4	8*
5	8
6	8

หมายเหตุ *หลังจากให้ยาครบ 8 ครั้งพบก้อนเนื้องอกขนาดเล็กคงเหลืออยู่

วิจารณ์

จากการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัขที่เป็น TVT โดยการฉีดเข้าเส้นหลอดเลือดดำขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร พบว่าภายหลังจากฉีดยาเข้าหลอดเลือดดำความเข้มข้นของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาลดลงอย่างรวดเร็ว สังเกตได้จากกราฟแสดงระดับความเข้มข้นเฉลี่ย ($\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาสุนัขที่เป็น TVT เนื่องจากยามีการกระจายตัวไปยังเนื้อเยื่อต่างๆภายในร่างกายค่อนข้างไว โดยพิจารณาจากค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัวของยา ($t_{1/2\alpha}$) เท่ากับ 21.50 นาที และค่าปริมาตรการกระจายตัวของยา (V_{darea}) มีค่า 0.66 ลิตรต่อกิโลกรัม และค่าการกำจัดยาออกจากร่างกาย (CI) ในการศึกษาครั้งนี้มีค่า 0.01 ลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม โดยปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายตัวของยามีหลายปัจจัย เช่น คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของยา (physiochemical properties of drug) อันได้แก่ ขนาดของยา คุณสมบัติในการละลายในไขมันของยา การจับตัวของยากับโปรตีนทั้งในพลาสมา เนื้อเยื่อและเยื่อเลือกผ่านต่างๆในร่างกาย เช่น สิ่งขวางกั้นระหว่างเลือดกับสมอง (blood brain barrier) รก (placenta barrier) โดยเฉพาะปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการกระจายตัวของยาเคมีบำบัดวินคริสตินคือโปรตีนที่ทำหน้าที่ลำเลียงยาออกจากเซลล์ (multidrug resistance protein) ทำให้ปริมาณยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่อยู่ในเซลล์น้อยลง (Dennison, 2007) ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดออกของยาเคมีบำบัดวินคริสติน ($t_{1/2\beta}$) มีค่า 47.57 นาที ภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินไป 5 นาที พบว่าระดับยาในพลาสมาลดลงอย่างรวดเร็วแสดงว่ายาเคมีบำบัดวินคริสตินมีความสามารถในการกระจายตัวอย่างรวดเร็วจับกับเนื้อเยื่อได้เป็นอย่างดีและปลดปล่อยยาออกจากเนื้อเยื่อในร่างกายได้อย่างช้าๆซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sethi และคณะ (1981)

ผลการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในสุนัขปกติพบว่า ค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัวของยาของสุนัขปกติมีค่าเท่ากับ 13 นาทีซึ่งต่ำกว่าสุนัขที่เป็น TVT ขณะที่ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยาออกจากร่างกายของสุนัขปกติมีค่าเท่ากับ 75 นาทีซึ่งสูงกว่าสุนัขที่เป็น TVT โดยอวัยวะที่ตรวจพบระดับยาเข้มข้นสูงสุดคือ ม้าม (2.28 นาโนกรัมต่อเนื้อเยื่อ 1 กรัม) (Castle *et al.*, 1976; Maddison *et al.*, 2008) อย่างไรก็ตาม Zhou และ คณะ (1990) ได้รายงานว่าอวัยวะที่ตรวจพบระดับยาเข้มข้นสูงสุดคือ ที่ลำไส้เล็ก โดยระดับที่ตรวจพบมีค่าเท่ากับ 122 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนักเนื้อเยื่อที่ 24 ชั่วโมง) ส่วนที่ตับและไตมีระดับยาเคมีบำบัดวินคริสตินภายหลังจากการให้ยาแล้ว 24 ชั่วโมงเท่ากับ 47 นาโนกรัมต่อกรัม และ 44 นาโนกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (Zhou *et al.*, 1990) ขณะที่ Castle และคณะ (1976) ซึ่งทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในหนูและสุนัขรายงานว่า ระดับของยาในเลือดของหนูและสุนัขเพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 20-30 นาทีภายหลัง

จากให้ยา ซึ่งอาจเกิดจากการที่ยามีการหมุนเวียนระหว่างลำไส้และตับ (enterohepatic recirculation) หรืออาจเกิดจากเมตาบอลิซึมของยาเอง และปริมาณยาที่อยู่ในสมองและน้ำไขสันหลังมีระดับต่ำกว่าที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ และเมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างหนูและสุนัขปกติแล้วพบว่า ได้แก่ ค่าการกระจายตัวของยาเคมีบำบัดวินคริสตินของหนูมีค่าเท่ากับ 0.41 ลิตรต่อกิโลกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่มีรายงานในสุนัข ในการศึกษาของ Zhong และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินโดยการให้ยาขนาด 0.07 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัมในสุนัขพันธุ์บีเกิ้ล ซึ่งผลการทดลองได้ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ตามตารางที่ 15 เมื่อทำการเปรียบเทียบกับผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัวของยาในสุนัขปกติมีค่า 8.4 นาทีซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าแสดงว่ามีการกระจายตัวของยาได้เร็วกว่าในสุนัขที่เป็น TVT ขณะที่ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยาออกจากร่างกายในสุนัขปกติมีค่า 22.8 ชั่วโมงซึ่งใช้เวลามากกว่าในสุนัขที่เป็น TVT ค่าการกระจายตัวของยาในสุนัขปกติมีค่า 1.06 ลิตรต่อกิโลกรัมซึ่งสูงกว่าในสุนัขที่เป็น TVT และค่าการกำจัดยาออกจากร่างกายในสุนัขปกติมีค่า 0.92 ลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัมซึ่งมีค่ามากกว่าในสุนัขที่เป็น TVT

ตารางที่ 15 ค่าครึ่งชีวิตในการขจัดออกของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสัตว์ชนิดต่างๆ

ชนิดสัตว์	ขนาดยา	วิธีที่ให้	ค่าครึ่งชีวิต (ชม.)	เอกสารอ้างอิง
Mouse (FVB wild type)	4 mg/g	i.v.	3.83	Guo <i>et al.</i> , 2004
Wistar rats	4 mg/kg	p.o.	1.25	Ling <i>et al.</i> , 2011
Sprague-Dawley rats	1.2 mg/kg	i.v.	2.26	Chen <i>et al.</i> , 2011
Tasmanian devil	0.05 mg/kg	i.v.	11	Phalen <i>et al.</i> , 2013
Beagle dogs	0.07 mg/kg	i.v.	22.8	Zhong <i>et al.</i> , 2014

หมายเหตุ: i.v. หมายถึง การฉีดเข้าหลอดเลือดดำ, p.o. หมายถึง การให้ยาโดยการกิน

ตารางที่ 16 พารามิเตอร์ที่สำคัญทางเภสัชจลนศาสตร์ (mean $\pm$ SD) ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินใน
 พลาสมาของสุนัขปกติพันธุ์บีเกิ้ล ภายหลังจากการให้ยาขนาด 0.07 มิลลิกรัมต่อ
 กิโลกรัม น้ำหนักตัว โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ (n = 5)

พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	ยาเคมีบำบัดวินคริสติน
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.14 ± 0.08
$t_{1/2\beta}$ (h)	22.8 ± 5.1
Cl (L/h/kg)	0.92 ± 0.19
V_d (L/Kg)	1.06 ± 0.96

ที่มา: Zhong *et al.* (2014)

จากการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาของสุนัขภายหลังการฉีดยาเคมีบำบัดวินคริสตินเข้าหลอดเลือดดำ พบว่ายาามีค่าครึ่งชีวิตของการกระจายตัวสั้นประมาณ 6 นาที ค่าครึ่งชีวิตในการขับออกของยาประมาณ 15 ชั่วโมง โดยมีค่าการกระจายตัวของยาสูง มากกว่า 200 ลิตรต่อตารางเมตร ซึ่งแสดงว่ายาสามารถจับกับเนื้อเยื่อได้ค่อนข้างมาก (Lönnérholm *et al.*, 2008) แต่สามารถผ่านเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางได้ดีเนื่องจากยามีขนาดโมเลกุลใหญ่ และถูกโปรตีนที่ผิวเซลล์ของ blood brain barrier คือ Permeability related glycoprotein (Pgp) และ multidrug resistance associated protein 1 (Mrp1) ทำหน้าที่ขับยาไม่ให้เข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางอีกด้วย (Wang *et al.*, 2010) ตามรายงานของ Dennison และคณะ (2007) ระบุว่ายาเคมีบำบัดวินคริสตินจะถูกเมตาบอลิซึมที่ตับด้วยเอนไซม์หลักคือ cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) และถูกขับออกผ่านทางน้ำดีเป็นหลัก โดยประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของยาจะถูกขับออกในอุจจาระ ขณะที่อีกประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์จะขับออกทางปัสสาวะ นอกจากนี้ยายังถูกดูดซึมได้น้อยมากหากให้ยาโดยการกิน (Maddison *et al.*, 2008)

ทั้งนี้ตามรายงานระบุว่า การใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินเพียงชนิดเดียวในการรักษา TVT เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง อัตราการกลับมาเป็นซ้ำหลังการรักษาต่ำ ทั้งยังสะดวกและประหยัดค่าใช้จ่าย เป็นเหตุให้ในทางปฏิบัติแล้วนิยมเลือกให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินเพื่อการรักษา TVT เป็นลำดับแรก (drug of choice) (Ogilvie, 1998; Nak *et al.*, 2005) ขนาดของวินคริสตินที่รักษาสุนัขที่เป็น TVT โดยทั่วไปคือ 0.5 – 0.75 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตร ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ สัปดาห์ละหนึ่งครั้ง ทุกสัปดาห์ต่อเนื่องกัน จนกว่าจะเกิดการฝ่อตัวของเซลล์เนื้องอกจนหมด และ

ภาวะโรคสงบสมบูรณ์ (complete remission) ซึ่งโดยทั่วไปจะให้ยาเคมีบำบัดจำนวน 3 – 6 ครั้ง (Withrow and Vail, 2007) ดังรายงานโดย Calvert และคณะ (1982) ที่กล่าวถึงระยะเวลาในการรักษาสุนัขป่วยด้วยโรค TVT จำนวน 41 ตัวโดยใช้วินคริสตินว่า มีสุนัขจำนวน 39 ตัวตอบสนองต่อการรักษาแบบสมบูรณ์และค่าเฉลี่ยสำหรับเวลาในการรักษาเพียง 3 ครั้งเท่านั้น (Gonzalez *et al.*, 2000) ขณะที่ Tella และคณะ (2004) ได้รายงานผลการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวเพียงชนิดเดียว ฉีดเข้าเส้นเลือดดำสัปดาห์ละหนึ่งครั้งเพื่อการรักษา TVT พบว่าระยะเวลาในการรักษาจนภาวะโรคสงบสมบูรณ์มีค่าเฉลี่ยในการให้ยาจำนวน 4 ครั้ง การกลับมาเป็นซ้ำของเนื้องอก TVT ภายหลังการรักษามีรายงานว่า การให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในขนาด 0.5 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร (พื้นที่ผิว) ฉีดเข้าเส้นเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้งจนภาวะโรคสงบสมบูรณ์ พบว่าภายใน 12 เดือนหลังการรักษามีสุนัขจำนวน 1 ตัวในจำนวนสุนัขทั้งหมด 20 ตัวกลับมาเป็นซ้ำ (Amber *et al.*, 1990) ยาเคมีบำบัดชนิดอื่นที่นำมารักษา TVT ในสุนัขได้มีการศึกษาโดย Singh และคณะ (1996) ได้ศึกษาการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน วินบลาสตินซัลเฟต และวินบลาสตินซัลเฟตร่วมกับเมทโทเทรกเซด โดยฉีดเข้าหลอดเลือดดำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในการรักษา TVT ในสุนัขโดยแบ่งสุนัขออกเป็น 3 กลุ่ม พบว่ากลุ่มสุนัขที่ได้รับยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและวินบลาสตินซัลเฟตขนาด 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื้องอกมีการตอบสนองต่อการรักษาหรือเกิดการฝ่อตัวอย่างสมบูรณ์ภายใน 3 สัปดาห์หลังจากการให้ยา ส่วนกลุ่มที่ได้รับยา วินบลาสตินซัลเฟตขนาด 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมร่วมกับเมทโทเทรกเซดขนาด 0.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื้องอกมีการตอบสนองอย่างสมบูรณ์ในวันที่ 21-28 ของการรักษา การรักษา TVT ในสุนัขโดยการผ่าตัดและให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าหลอดเลือดดำสัปดาห์ละครั้ง ภายหลังการผ่าตัด พบว่าการฝ่อหายของเนื้องอกอย่างสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เกิดขึ้นเมื่อให้ยาไปแล้ว 2-3 ครั้ง และไม่เกิดการกลับมาเป็นใหม่ภายใน 6 เดือน (Athar *et al.*, 2001) ความเป็นพิษของยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่ควรเฝ้าระวังภายหลังการให้ยาก็คือ ความเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหาร กดการทำงานของไขกระดูกและมีความระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อบริเวณที่ฉีดยาถ้ามีการฉีดยารั่วออกจากเส้นเลือด (Nak *et al.*, 2005)

สำหรับการตอบสนองต่อการรักษาและผลสัมฤทธิ์ทางคลินิกจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อพื้นที่ผิวของร่างกายหน่วยเป็นตารางเมตรโดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ สัปดาห์ละครั้ง ต่อเนื่องกันทุกสัปดาห์ มีผลให้เกิดการฝ่อตัวอย่างสมบูรณ์ซึ่งสังเกตพบว่าเนื้องอกของสุนัขที่เป็น TVT จำนวน 5 ตัว เกิดการฝ่อหลังจากให้ยาไปแล้ว 3-8 ครั้ง ผลข้างเคียงจากการให้ยาก็คือ สุนัขมีอาการอาเจียน เบื่ออาหารและท้องเสีย มีรายงานว่า ค็อกไซรูบิซินเป็นยาเคมีบำบัดอันดับแรกๆ ที่ควรเลือกใช้ในการรักษา TVT ในสุนัขที่ไม่ตอบสนองต่อ

การรักษาภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสติน (Nak *et al.*, 2005) โดยที่ Calvert และคณะ (1982) พบว่าภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินเพียงชนิดเดียว และใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินร่วมกับไซโคลฟอสฟามายด์แล้วเนื้องอกไม่ตอบสนองต่อการรักษา จึงทำการรักษาด้วยด็อกโซรูบิซินจำนวน 3 รอบ พบเกิดการฝ่อตัวของเนื้องอกอย่างสมบูรณ์ ส่วน Rogers และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษากรณีให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินแล้วเนื้องอกเกิดการตอบสนองเพียงบางส่วน จึงให้ด็อกโซรูบิซินจำนวน 5 ครั้ง ระยะการให้ยาคือ 3 สัปดาห์ต่อครั้ง พบว่าเนื้องอก TVT มีการฝ่อตัวอย่างสมบูรณ์ (total regression) (Nak *et al.*, 2005)

การควบคุมการแพร่กระจายของเนื้องอกทำได้ยากเพราะสุนัขจรจัดที่ไม่ได้รับการดูแลจำนวนมากไม่ได้รับการดักจับจึงเป็นตัวแพร่กระจายของเนื้องอกโดยเฉพาะฤดูผสมพันธุ์ของสุนัขซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tella และคณะ (2004) ที่กล่าวว่าการจัดการ TVT ในสุนัขทำได้ยากในประเทศที่กำลังพัฒนาเนื่องจากเจ้าของสุนัขส่วนมากไม่สามารถรับผิดชอบค่าใช้จ่ายค่าผ่าตัดหรือการฉายแสงในการรักษาเนื้องอก ทำให้เป็นอุปสรรคในการควบคุมเนื้องอกไม่ให้แพร่กระจาย จึงได้ทำการศึกษาการใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในการรักษา TVT ในสุนัขเพราะราคาไม่แพงและมีผลข้างเคียงเล็กน้อย โดยใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.025 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ สัปดาห์ละครั้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเนื้องอกเกิดการฝ่อตัวอย่างสมบูรณ์ (complete remission) ขณะที่ Amber และคณะ (1990) ใช้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.5 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร (พื้นที่ผิว) ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จึงทำให้เกิดการฝ่อตัวของเนื้องอกอย่างสมบูรณ์ (Tella *et al.*, 2004)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ประสิทธิภาพในการรักษาเนื้องอกขึ้นอยู่กับขนาดสูงสุดที่ให้กับสัตว์และทำให้เกิดความเป็นพิษกับสัตว์น้อยที่สุด สำหรับยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่ขนาดของยาที่ให้ผลในการรักษา (therapeutic dose) กับขนาดยาที่ก่อให้เกิดพิษ (toxic dose) จะมีดัชนีในการรักษา (therapeutic index) ซึ่งบ่งบอกถึงความปลอดภัยในการใช้ยาอยู่ในช่วงแคบ ดังนั้นเวลาใช้ยาจึงต้องมีความระมัดระวังในเรื่องการคำนวณขนาดยา (North and Tania, 2009) การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์มีความสำคัญในการนำมาประยุกต์ใช้กำหนดขนาดของยาและช่องทางการให้ยาเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการรักษาเนื้องอก มีการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดวินคริสตินในพลาสมาทั้งในคนและในสัตว์แต่มีข้อจำกัดในเรื่องเทคนิคการวิเคราะห์ระดับยาในพลาสมา (Castle *et al.*, 1976; Sethi *et al.*, 1981; Embree *et al.*, 1998; Guo *et al.*, 2004; Skolnik *et al.*, 2006; Guilhaumou *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011) การตรวจระดับยาเคมีบำบัดวินคริสตินเริ่มต้นจากเทคนิค Radioimmunoassay (RIA) เป็นเทคนิคแรกที่ใช้ตรวจระดับยาเคมีบำบัดวินคริสตินในคนแต่วิธีนี้ขาดความจำเพาะระหว่างสารตั้งต้นและสารในรูปเมตาบอไลต์ ต่อมาได้พัฒนาใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว (HPLC) โดยใช้ UV เป็นตัววัดค่าการดูดกลืนแสงของยาเคมีบำบัดวินคริสตินแต่มีความไวไม่เพียงพอและได้มีการพัฒนาเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (LC-MS/MS) จึงได้กลายมาเป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจระดับยาที่ใช้อ้างอิงเนื่องจากมีความไวและความจำเพาะสูง รวมทั้งมีความน่าเชื่อถือสูง (Guilhaumou *et al.*, 2010) พบว่าภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินขนาด 0.7 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร (พื้นที่ผิว) นิดเข้าหลอดเลือดดำ ยามีการกระจายตัวสูงและรวดเร็วไปยังส่วนต่างๆของร่างกายรวมทั้งเนื้องอกแต่การขับออกของยาจะช้า

จากผลการศึกษานี้พบว่าจำนวนครั้งของการให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินในการรักษาสุนัขที่เป็น TVT โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำสัปดาห์ละครั้งแล้วทำให้เนื้องอกเกิดการฝ่อตัวอย่างสมบูรณ์เกิดขึ้นภายหลังจากการให้ยา 3 – 8 ครั้ง ซึ่งประเมินได้จากการไม่พบการเนื้องอกจากการสังเกตด้วยตาเปล่า ร่วมกับผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาที่พบการแทนที่ของเซลล์เนื้องอก TVT ด้วยไฟโบร بلاสต์และมีเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์เพิ่มมากขึ้น ถึงแม้ว่าการตรวจ TVT ทางเซลล์วิทยาจะทำให้สะดวกต่อการแปลผลแต่การแปลผลที่มีความน่าเชื่อถือสูงสุด ที่แยกระหว่าง TVT ออกจาก lymphoma และ histiocytoma ได้ต้องอาศัยการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาร่วมด้วย (Wellman, 1996) ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nak และคณะ (2005) ที่แนะนำว่ายาเคมีบำบัด

วินคริสตินเป็นยาเคมีบำบัดที่มีประสิทธิภาพในการรักษา TVT ถึงแม้จะมีผลข้างเคียงก็ตาม ภายหลังให้ยาเคมีบำบัดวินคริสตินแล้วยังมีก้อนเนื้อออกขนาดเล็กควรผ่าตัดก้อนเนื้อออกออกไปและตรวจชิ้นเนื้อทางจุลพยาธิวิทยา สุนัขที่เป็น TVT ไม่ควรนำมาผสมพันธุ์และควรเฝ้าระวังการกลับมาเป็นซ้ำ



ข้อเสนอแนะ

1. ขนาดยาเคมีบำบัดวินคริสตินที่แนะนำให้รักษาสุนัขที่เป็น TVT คือ 0.7 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร (พื้นที่ผิว) เป็นขนาดยาที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการรักษา TVT ในสุนัข ซึ่งจำนวนครั้งในการฉีดจนไม่พบเนื้องอกจากการสังเกตด้วยตาเปล่าขึ้นอยู่กับสุนัขแต่ละตัว แต่ไม่ควรเกิน 8 ครั้ง และผลข้างเคียงที่พบได้คือ เบื่ออาหาร อาเจียน หรือท้องเสีย
2. ภายหลังจากการรักษากรณีเนื้องอกยังไม่หายขาดหรือเหลือก้อนเนื้องอกขนาดเล็กควรทำการผ่าตัดก้อนเนื้องอกออกไปเพื่อป้องกันการกลับมาเป็นซ้ำอีกครั้ง
3. เทคนิค LC-MS/MS เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณยาในพลาสมาที่มีความไวและความแม่นยำสูง จึงเหมาะต่อการนำมาในการวิเคราะห์ระดับยาชีวสารต่างๆ รวมถึงเหมาะต่อการเพื่อการศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาต่างๆ รวมถึงยาเคมีบำบัดวินคริสตินซึ่งข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ได้มีประโยชน์ในการกำหนดขนาดของยาที่ใช้กับสุนัขที่เป็น TVT ว่ามีความเหมาะสมหรือไม่ควบคู่กับผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นภายหลังจากการให้ยา
4. ควรศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาเคมีบำบัดชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการรักษา TVT ในสุนัข นอกจากยาเคมีบำบัดวินคริสติน เพื่อกำหนดขนาดยาที่จะใช้ จำนวนครั้ง และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นเพื่อเป็นทางในการนำมาปรับใช้ในการรักษาทางคลินิก ให้เกิดผลสัมฤทธิ์ในการรักษาสูงสุดและลดโอกาสตลอดจนความรุนแรงในการเกิดผลข้างเคียง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2538. คู่มือการอบรมหลักสูตรเข้มข้นการวิเคราะห์โดยใช้ HPLC. น. 2-1-4-80 ใน การอบรมศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 6-8 ธันวาคม 2538. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.

Amaral, A.S., S.B. Silva, I. Ferreira, L.S.D. Fonseca, F.H.E.D. Andrade, L.F.J. Gaspar and N.S. Rocha. 2007. Cytomorphological Characterization of Transmissible Canine Venereal Tumor. **RPCV** 102 (563-564): 253-260.

Amber, E.I., R.A. Henderson, J.B. Adeyanju and E.O. Gyang. 1990. Single-Drug Chemotherapy of Canine Transmissible Venereal Tumor with Cyclophosphamide, Methotrexate, or Vincristine. **J Vet Intern Med.** 4 (3): 144-147.

Athar, M., A. Suhail., G. Muhammad., A. Shakoor and F. Azim. 2001. Clinico-Therapeutic Studies on Canine Transmissible Venereal Tumour **Clinico-Therapeutic Studies on Canine Transmissible Venereal Tumour** 21 (1): 39-43.

Bastan, A., D.B. Acar and M. Cengiz. 2008. Uterine and Ovarian Metastasis of Transmissible Venereal Tumor in a Bitch. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** 32 (1): 65-66.

Carolyn J.H and M.L. Higginbotham. 2010. Male Reproductive Tumor, pp. 249-298. In K. H. Taylor, eds. **Cancer Management in Small Animal Practice.** Saunders Elsevier, United States.

Castle, M.C., D.A. Margileth and V.T. Oliverio. 1976. Distribution and Excretion of (3H)Vincristine in the Rat and the Dog. **Cancer Res.** 36(10): 3684-3689.

- Chen, J., H. He, S. Li and Q. Shen. 2011. An Hplc Method for the Pharmacokinetic Study of Vincristine Sulfate-Loaded Plga-Peg Nanoparticle Formulations after Injection to Rats. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.** 879(21): 1967-1972.
- Corona, G., B. Casetta, S. Sandron, E. Vaccher and G. Toffoli. 2008. Rapid and Sensitive Analysis of Vincristine in Human Plasma Using on-Line Extraction Combined with Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom.** 22 (4): 519-525.
- Das, U. and A.K. Das. 2000. Review of Canine Transmissible Venereal Sarcoma. **Vet Res Commun.** 24(8): 545-556.
- Dennison, J.B. 2007. **Vincristine Metabolism and the Role of Cyp3A5.** Ph.D. Thesis, Indiana University.
- Dobson, J.M. and N.T. Gorman. 1993. **Cancer Chemotherapy in Small Animal Practice.** Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Embree, L., K. Gelmon, A. Tolcher, N. Hudon, J. Heggie, C. Dedhar, P. Logan, M.B. Bally and L.D. Mayer. 1998. Pharmacokinetic Behavior of Vincristine Sulfate Following Administration of Vincristine Sulfate Liposome Injection. **Cancer Chemother Pharmacol.** 41(347-352).
- Eze, C.A., H.C. Anyanwu and R.O.C. Kene 2007. Review of Canine Transmissible Venereal Tumour (TVT) in Dogs. **Nigerian Veterinary Journal.** 28(1): 54-70.
- Gidding, C.E., S.J. Kellie, W.A. Kamps and S.S. de Graaf. 1999. Vincristine Revisited. **Crit Rev Oncol Hematol.** 29(3): 267-287.

- Gonzalez, C.M., S.M. Griffey, D.K. Naydan, E. Flores, R. Cepeda, G. Cattaneo and B.R. Madewell. 2000. Canine Transmissible Venereal Tumour: A Morphological and Immunohistochemical Study of 11 Tumours in Growth Phase and During Regression after Chemotherapy. **J Comp Pathol.** 122(4): 241-248.
- Guo, P., X. Wang, F. Zhou and J.M. Gallo. 2004. Determination of Vincristine in Mouse Plasma and Brain Tissues by Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. **J. Chromatogr. B.** 809(2): 273-278.
- Greig, N.H., T.T. Soncrant, H.U. Shetty, S. Momma, Q.R. Smith and S.I. Rapoport. 1990. Brain Uptake and Anticancer Activities of Vincristine and Vinblastine Are Restricted by Their Low Cerebrovascular Permeability and Binding to Plasma Constituents in Rat. **Cancer Chemother Pharmacol.** 26(4): 263-268.
- Guilhaumou, R., C. Solas, A. Rome, M. Giocanti, N. Andre and B. Lacarelle. 2010. Validation of an Electrospray Ionization Lc/Ms/Ms Method for Quantitative Analysis of Vincristine in Human Plasma Samples. **J. Chromatogr. B** 878 (3-4): 423-427.
- Guo, P., X. Wang, F. Zhou and J.M. Gallo. 2004. Determination of Vincristine in Mouse Plasma and Brain Tissues by Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry. **J. Chromatogr. B** 809 (2): 273-278.
- Hamscher, G., S.A. Mohring, A. Knobloch, N. Eberle, H. Nau, I. Nolte and D. Simon. 2010. Determination of Drug Residues in Urine of Dogs Receiving Anti-Cancer Chemotherapy by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization- Tandem Mass Spectrometry: Is There an Environmental or Occupational Risk? **J Anal Toxicol.** 34(3): 142-148.
- Jr., M.C. Castle, D.G. Poplack and R.A. Bender. 1980. Pharmacokinetics of Vincristine in the Cerebrospinal Fluid of Subhuman Primates. **Cancer Res.** 40(3): 722-724.

- Jackson, D.V., V. S. Sethi, C. L. Spurr and J.M. McWhorter. 1981. Pharmacokinetics of Vincristine in the Cerebrospinal Fluid of Humans. **Cancer Res.** 41: 1466-1468.
- Kunakornsawat, S., K. Imsilp, N. Yatbantoong, N. Ratanapob, W. Supsavhad, S. Sreesampan and G. Nunklang. 2010. Vincristine Chemotherapeutic Treatment for Transmissible Venereal Tumor in 60 Dogs. **Kamphaengsean Acad. J.** 8(2): 103-115.
- _____, W. Yippaditr, N. Jamjan, R. Bootcah, S. netramai, J. Viriyarumpa and K. Kornkaewrat. 2010. Surgical Correction of Transmissible Venereal Tumor with Vincristine-Resistance Using Episiotomy and Vulvovaginoplasty in Female and Subtotal Penile Amputation and Scrotal Urethrostomy in Male Dogs, pp. 191-200. *In Proceedings of 48th Kasetsart University Annual Conference: Veterinary Medicine.* Kasetsart University, Bangkok.
- Lee, J.I., J.M. Skolnik, J.S. Barrett and P.C. Adamson. 2007. A Sensitive and Selective Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Quantification of Actinomycin-D and Vincristine in Children with Cancer. **J Mass Spectrom.** 42(6): 761-770.
- Ling, G., P. Zhang, J. Sun, W. Zhang, Q. Fu, T. Zhang, Y. Deng and Z. He. 2011. An Lc-Ms/Ms Method for Simultaneous Determination of Vincristine and Verapamil in Rat Plasma after Oral Administration of a Dual Agent Formulation. **Biomed Chromatogr.** 25(9): 963-969.
- Lonnerholm, G., B.M. Frost, J. Abrahamsson, M. Behrendtz, A. Castor, E. Forestier, M. Heyman, D.R. Uges and S.S. de Graaf. 2008. Vincristine Pharmacokinetics Is Related to Clinical Outcome in Children with Standard Risk Acute Lymphoblastic Leukemia. **Br J Haematol.** 142(4): 616-621.
- Maddison, J.E., S.W. Page and D.B. Church. 2008. Cancer Chemotherapy, pp. 330-366. *In* J.M. Dobson, A.E. Hohenhaus and A. E. Peaston, eds. **Small Animal Clinical Pharmacology.** Saunders Elsevier, Canada.

- McKnight, J.A. 2003. Principles of Chemotherapy. **Clin Tech Small Anim Pract.** 18 (2): 67-72.
- Mello Martins, M.I.,F.F.d. Souza and C. Gobello. 2005. The Canine Transmissible Venereal Tumor: Etiology, Pathology, Diagnosis and Treatment, A1233.0405. *In.* **Recent Advances in Small Animal Reproduction.** International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org)
- Moore, A.S. and A.E. Frimberger. 2010. Extravasation Injury, pp. 202-207. *In* L. Garrod, eds. **Oncology for Veterinary Technicians and Nurses**
- Morrison, W.B. 2002. Cancer of the Reproductive Tract, pp. 555-564. **Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management.** Teton NewMedia, United States.
- Mukaratirwa, S. and E. Gruys. 2003. Canine Transmissible Venereal Tumour: Cytogenetic Origin, Immunophenotype, and Immunobiology. A Review. **Vet Q.** 25(3): 101-111.
- Nak, D., Y. Nak, I.T. Cangul and B. Tuna. 2005. A Clinico-Pathological Study on the Effect of Vincristine on Transmissible Venereal Tumour in Dogs. **J. Vet. Med. A** 52: 366-370.
- Norris, A.M. and S.J. Withrow. 1984. A Review of Cancer Chemotherapy for Pet Animals. **Can Vet J.** 25(4): 153-157.
- North, S. and T. Banks. 2009. **Introduction to Small Animal Oncology.** Saunders Elsevier, USA. Ogilvie, G.K. 1998. Chemotherapy and the Surgery Patient: Principles and Recent Advances. **Clin Tech Small Anim Pract.** 13(1): 22-32.
- Otomo, K., T. Koike, T. Kudo and T. Sakai. 1981. Histological and Ultrastructural Findings of Regressing Canine Transmissible Venereal Tumor after Repeated Transplantation. **Nihon Juigaku Zasshi.** 43(6): 823-832.

- Papazoglou, L.G., A.F. Koutinas, A.G. Plevraki and D. Tontis. 2001. Primary Intranasal Transmissible Venereal Tumour in the Dog: A Retrospective Study of Six Spontaneous Cases. **J. Vet. Med. A** 48: 391-400.
- Park, M.S., Y. Kim, M.S. Kang, S.Y. Oh, D.Y. Cho, N.S. Shin and D.Y. Kim. 2006. Disseminated Transmissible Venereal Tumor in a Dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. 18(1): 130-133.
- Phalen, D.N., A. Frimberger, S. Pyecroft, S. Peck, C. Harmsen, S. Lola, B. de Mello Mattos, K.M. Li, A.J. McLachlan and A. Moore. 2013. Vincristine Chemotherapy Trials and Pharmacokinetics in Tasmanian Devils with Tasmanian Devil Facial Tumor Disease. **PLoS One**. 8(6): e65133.
- Plumb, D.C. 2005. Vincristine Sulfate, pp. 1146-1149. **Plumb's Veterinary Drug Handbook**. Blackwell, United State of America.
- Rogers, K.S., M.A. Walker and H.B. Dillon. 1998. Transmissible Venereal Tumor: A Retrospective Study of 29 Cases. **J Am Anim Hosp Assoc**. 34(6): 463-470.
- Rungsipipat, A., B. Sunyasootcharee, L. Ousawaphlangchai, A. Sailasuta, R. Thanawongnuwech and K. Teankum. 2003. Neoplasms of Dogs in Bangkok. **Thai J Vet Med**. 33(1): 59-66.
- Said R.A., L.F. Silva, A.R.O.L. Albuquerque, E.M. Sousa-Neta and M.O. Lavinsky. 2009. Efficacy and Side Effects of Vincristine Sulphate Treatment on Canine Transmissible Venereal Tumour-438. *In* **Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA 2009**. Sao Paulo, Brazil.
- Schmidt, M.S., R. Huang, R.J. Classon and D.J. Murry. 2006. Determination of Vincristine in Infant Plasma by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectroscopy. **J Pharm Biomed Anal**. 41 (2): 540-543.

Sethi, V.S., D.V. Jackson, Jr., D.R. White, F. Richards, 2nd, J.J. Stuart, H.B. Muss, M.R. Cooper and C.L. Spurr. 1981. Pharmacokinetics of Vincristine Sulfate in Adult Cancer Patients. **Cancer Res.** 41(9 Pt 1): 3551-3555.

Singh, J., J.S. Rana, N. Sood, G.R. Pangawkar and P.P. Gupta. 1996. Clinico-Pathological Studies on the Effect of Different Anti-Neoplastic Chemotherapy Regimens on Transmissible Venereal Tumours in Dogs **Clinico-Pathological Studies on the Effect of Different Anti-Neoplastic Chemotherapy Regimens on Transmissible Venereal Tumours in Dogs** 20 (1): 71-81.

Skolnik, J.M., J.S. Barrett, H. Shi and P.C. Adamson. 2006. A Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Quantification of Actinomycin-D and Vincristine in Children with Cancer. **Cancer Chemother Pharmacol.** 57(4): 458-464.

Stockmann, D., H. F. Ferrari, A. L. Andrade, R.A. Lopes, T.C. Cardoso and M.C.R. Luvizotto. 2011. Canine Transmissible Venereal Tumors: Aspects Related to Programmed Cell Death. **Braz J Vet Pathol.** 4 (1): 67-75.

Sudjaidee, P., P. Theewasutrakul, S. Techarungchaikul, S. Ponglowhapan and K. Chatdarong. 2012. Treatment of Canine Transmissible Venereal Tumor Using Vincristine Sulfate Combined with L-Asparaginase in Clinical Vincristine-Resistant Cases: A Case Report. **Thai J Vet Med.** 42 (1): 117-122.

Tella, M.A., O.O. Ajala and V.O. Taiwo. 2004. Complete Regression of Transmissible Venereal Tumour (TVT) in Nigerian Mongrel Dogs with Vincristine Sulphate Chemotherapy. **AJBR** 7 (3): 133-138.

Thangathurai, R., G.A. Balasubramaniam, S. Dharmaceelan, P. Balachandran, P. Srinivasan, S. Sivaseelan and B.M. Manohar. 2008. Cytological Diagnosis and Its Histological Correlation in Canine Transmissible Venereal Tumour. **Veterinarski Arhiv.** 78(5): 369-376.

Wang, F., F. Zhou, G.D. Kruh and J.M. Gallo. 2010. Influence of Blood-Brain Barrier Efflux Pumps on the Distribution of Vincristine in Brain and Brain Tumors. **Neuro Oncol.** 12(10): 1043-1049.

Wellman, M.L. 1996. Cytology and the Diagnosis of Neoplasia. *In* **Proceedings of the 20th Waltham/OSU Symposium.** Ohio State University, Columbus.

Withrow, S.J. and D.M. Vail. 2007. Canine Transmissible Venereal Tumor, pp. 799-802. *In* L.P. de Lorimier and T. M. Fan, eds. **Withrow and Macewen's Small Animal Clinical Oncology.** Saunders Elsevier, Canada.

_____, _____ and R.L. Page. 2013. Tumor Biology and Metastasis, pp. 31. *In* D. J. Aregyle and C.Khanna, eds. **Withrow and Macewen's Small Animal Clinical Oncology.** Saunders Elsevier, United States.

Zhong, J., W. Mao, R. Shi, P. Jiang, Q. Wang, R. Zhu, T. Wang and Y. Ma. 2014. Pharmacokinetics of Liposomal-Encapsulated and Un-Encapsulated Vincristine after Injection of Liposomal Vincristine Sulfate in Beagle Dogs. **Cancer Chemother Pharmacol.** 73(3): 459-466.

Zhou, X.J., M. Martin, M. Placidi, J.P. Cano and R. Rahmani. 1990. In Vivo and in Vitro Pharmacokinetics and Metabolism of Vincaalkaloids in Rat. II. Vinblastine and Vincristine. **Eur J Drug Metab Pharmacokinet.** 15(4): 323-332.





เคมีบำบัดรักษาทางสัตวแพทย์

เนื้องอก (neoplasia, tumor) หมายถึง ก้อนผิดปกติที่เกิดขึ้นทั้งที่สังเกตได้ภายนอกและภายในร่างกาย ซึ่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนที่ไม่สามารถควบคุมได้ของเซลล์ โดยก้อนผิดปกตินี้มีความหลากหลายทั้งในด้าน ขนาด จำนวน ตำแหน่งการเกิดและความรุนแรง อีกทั้งสามารถแบ่งเนื้องอกที่เกิดขึ้นออกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ เนื้องอกชนิดธรรมดา (benign tumor) ซึ่งมีลักษณะการเจริญเติบโตที่ช้า ทำลายเนื้อเยื่อปกติน้อย ไม่แพร่กระจาย ตลอดจนไม่เป็นอันตรายรุนแรงต่อร่างกาย ไม่พบการกลับมาเป็นอีก ขณะที่เนื้องอกอีกชนิดหนึ่งเป็นเนื้องอกชนิดร้ายหรือมะเร็ง (malignant tumor, cancer) ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างจากเนื้องอกธรรมดา คือ มะเร็งจะมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยทำลายเนื้อเยื่อปกติและสามารถแพร่กระจายไปยังบริเวณอื่นๆ ได้

แนวทางการรักษาเนื้องอกหรือมะเร็ง

วิธีในการรักษาเนื้องอกหรือมะเร็ง ได้แก่

1. การศัลยกรรม (Surgical treatment) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้การผ่าตัดเพื่อนำเอาก้อนเนื้องอกออกจากร่างกาย ซึ่งวิธีการนี้ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาเนื้องอกที่มีลักษณะเป็นก้อนปรากฏให้เห็น (Solid tumors)
2. การใช้รังสีรักษา (Radiation therapy)
3. การใช้ยาเคมีบำบัด (Chemotherapy)
4. เทคนิค Hyperthermia
5. Photodynamic (PD)
6. Immunotherapy

ทั้งนี้การพิจารณาเลือกใช้วิธีในการรักษาจะขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดของเนื้องอก ระยะการเจริญของเซลล์เนื้องอก ปัจจัยจากสัตว์ที่เป็นเนื้องอกได้แก่ สภาพร่างกายสัตว์พร้อมที่จะได้รับยาเคมีบำบัดเพราะถ้าสัตว์เกิดความผิดปกติที่ตับ ไต หรือโรคหัวใจ อาจเสี่ยงต่อความเป็นพิษต่อการให้ยาเคมีบำบัด ดังนั้นจึงต้องทำการปรับขนาดยาเคมีบำบัดที่ใช้ให้เหมาะสมกับสภาพของสัตว์ ซึ่งการให้ยาเคมีบำบัดนั้นหมายถึง การให้ยาที่มีผลขัดขวางกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์ในวงจรชีพแล้วทำให้เซลล์มะเร็งหยุดการเจริญและตายลงในที่สุด ทั้งนี้ก่อนที่จะมีการให้ยาเคมีบำบัดควรมีการวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาที่ถูกต้องแล้วจึงจะนำยาเคมีบำบัดมาใช้เพราะผลข้างเคียงจากกา

ใช้ยาเคมีบำบัดทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์ได้ การนำยาเคมีบำบัดมาใช้ในการรักษามะเร็งนั้นสามารถนำมาใช้ทั้งเพื่อเป็นการรักษาหลักหรือการรักษาเสริมหลังจากการผ่าตัดก้อนเนื้อออก

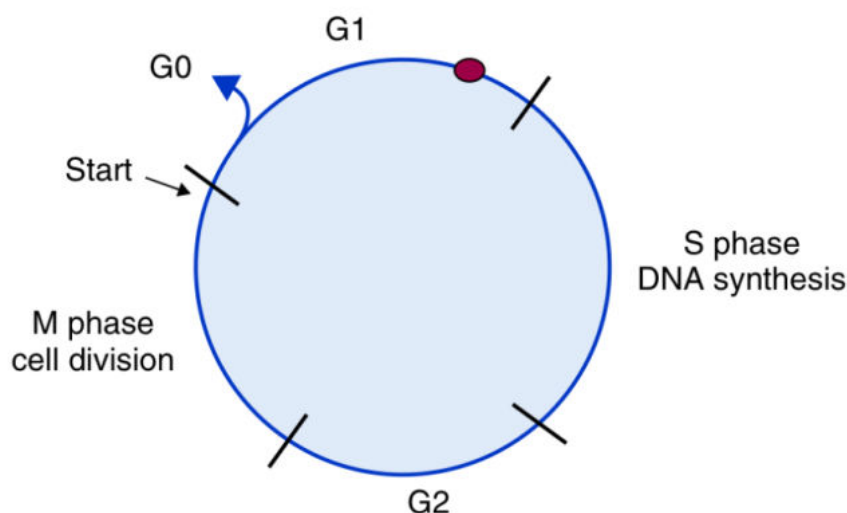
ข้อบ่งใช้ของการให้ยาเคมีบำบัดรักษา

1. ให้เพื่อรักษากลุ่มโรคมะเร็งที่มีแนวโน้มตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดสูง เช่น เนื้องอกระบบสืบพันธุ์ transmissible venereal tumor (TVT)
2. การให้ยาเคมีบำบัดแบบเสริม (adjuvant chemotherapy) โดยจะใช้กับสัตว์ที่มีความเสี่ยงสูงในการแพร่กระจายของมะเร็ง (metastasis) ยาเคมีบำบัดจะให้ภายหลังการผ่าตัดหรือฉายรังสีเพื่อกำจัดเซลล์มะเร็งระดับจุลภาค (micrometastasis) ในสุนัขมักจะใช้กรณีเพื่อทุเลาอาการจากการเป็นมะเร็งกระดูก (osteosarcoma)
3. การให้ยาเคมีบำบัดเสริมก่อนการรักษาวิธีอื่นๆ (neoadjuvant chemotherapy) วัตถุประสงค์เพื่อต้องการลดขนาดของเนื้องอกก่อนผ่าตัดหรือฉายรังสีจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการผ่าตัดเนื้องอก (Maddison et al., 2008)

ชีววิทยาของเซลล์ (cell biology)

การแบ่งตัวของเซลล์ทั้งเซลล์ปกติและเซลล์เนื้องอกจะมีกระบวนการแบ่งตัวเรียกว่าวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) ซึ่งประกอบด้วยระยะต่างๆ รวม 5 ระยะ ดังแสดงในภาพผนวกที่ ก1 การเข้าใจวัฏจักรของเซลล์จะเป็นประโยชน์ในการวางแผนในการเลือกให้ยาเคมีบำบัดในการรักษามะเร็ง เพราะยาแต่ละชนิดจะมีกลไกการออกฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ที่ต่างกัน

1. ระยะไมโทติก (Mitotic, M) คือระยะที่มีการแบ่งเซลล์เป็น 2 เซลล์ใช้เวลาอย่างน้อย 30 ถึง 90 นาที
2. ระยะพัก (G_0) เซลล์ในระยะนี้จะอยู่ในสถานะไม่ทำงาน (inactive)
3. ระยะเตรียมการแบ่งเซลล์ (intermitotic, G_1) มีการเตรียมสารประกอบต่างๆ สำหรับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) ใช้ระยะเวลาเป็นชั่วโมงถึงเป็นวัน
4. ระยะสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (S) ใช้เวลา 6 ถึง 8 ชั่วโมง
5. ระยะที่เซลล์จะเข้าสู่ระยะการแบ่งตัว (G_2) เป็นช่วงที่ 2 ของการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนใช้เวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง (Norris and Withrow, 1984)



ภาพผนวกที่ ก1 วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle)

ที่มา: Withrow *et al.* (2013)

การจำแนกกลุ่มของเคมีบำบัดตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาต่อวงจรชีวิตของเซลล์

สามารถจำแนกยาเคมีบำบัดตามประสิทธิภาพการทำงานของยาที่มีผลต่อระยะต่างๆของเซลล์ภายในวงจรชีวิตได้เป็น 3 ประเภทหลักคือ

1. Cell cycle-nonspecific agents หมายถึงยาที่มีผลต่อทุกๆระยะของเซลล์ โดยมีผลทำลายเซลล์ทั้งที่อยู่ในระยะพักและระยะอื่นๆ ภายในวงจรชีวิตร่วมด้วย ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้เช่น nitrogen mustard
2. Cell cycle-specific agents หมายถึงยาที่มีผลต่อทุกๆระยะของเซลล์ หากแต่มีผลหลักในการทำลายเซลล์ที่อยู่ในระยะต่างๆภายในวงจรชีวิต มากกว่าเซลล์ในระยะพัก ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้เช่น Cyclophosphamide, doxorubicin เป็นต้น
3. Phase specific agents หมายถึงยาที่มีผลจำเพาะต่อระยะใดระยะหนึ่งภายในวงจรชีวิต เช่น มีผลต่อเซลล์ในระยะ S phase หรือ M phase โดยไม่มีผลต่อเซลล์ในระยะอื่นร่วมด้วย เช่น methotrexate, vincristine และ vinblastine เป็นต้น

แบ่งกลุ่มยาเคมีบำบัดตามกลไกการออกฤทธิ์ ได้แก่

1. ยากลุ่ม alkylating agent เช่น cyclophosphamide, cisplatin, carboplatin, chlorambucil, lomustine (CCNU) และ busulphan ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ต่อทุกระยะในวงจรชีวิตของเซลล์อย่างไม่จำเพาะ (cell cycle-nonspecific) โดยมีกลไกการออกฤทธิ์จากการสร้างทางเชื่อม (cross-link) โดยหมู่ alkyl ทั้งภายในและระหว่างสายของ DNA และ RNA ทำให้เซลล์ไม่สามารถสังเคราะห์ DNA ได้ตามปกติ มีผลทำให้การแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งถูกยับยั้ง

2. ยากลุ่ม antimetabolites เช่น 5-fluorouracil, methotrexate, cytosine arabinoside ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อระยะ S (S phase) ซึ่งเป็นระยะที่มีการสังเคราะห์ DNA ในวงจรชีวิตของเซลล์ ได้แก่ ยาที่มีโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ (analog) กับสารที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ เช่น อนุพันธ์ของ folic acid, purine หรือ pyrimidine ทำให้ยับยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA

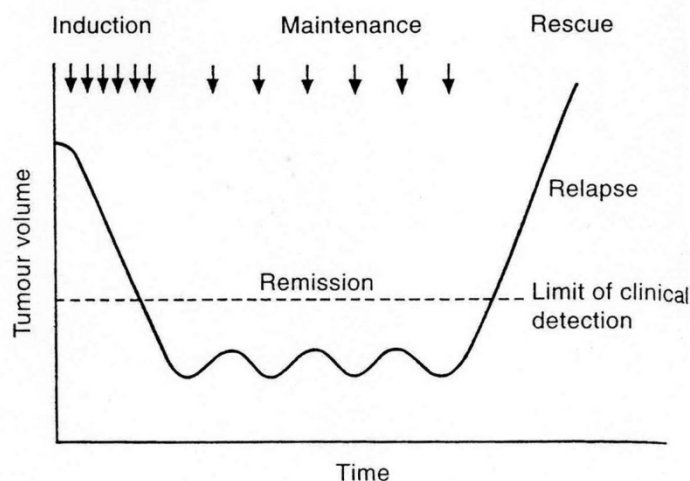
3. ยากลุ่ม anti-tumor antibiotics เช่น doxorubicin, mitoxantrone, actinomycin D, bleomycin และ epirubicin ยาในกลุ่มนี้ ยกเว้น bleomycin ออกฤทธิ์ต่อทุกระยะในวงจรชีวิตของเซลล์อย่างไม่จำเพาะ (cell cycle-nonspecific) โดยมีกลไกการออกฤทธิ์หลักเกี่ยวข้องกับการทำให้เกิด DNA intercalation ขัดขวางการสังเคราะห์ DNA และ RNA

4. ยากลุ่ม plant alkaloids เช่น vincristine, vinblastine, vinorelbine ยาออกฤทธิ์ต่อระยะ M (M phase) ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์มีการแบ่งตัวแบบไมโทซิสในวงจรชีวิตอย่างจำเพาะ โดยยาจะเข้าจับกับทูบูลินในไมโครทูบูลทำให้ยับยั้งการแบ่งของตัวเซลล์ในระยะเมตาเฟส

5. ยากลุ่มเบ็ดเตล็ด ยาในกลุ่มนี้เช่น asparaginase เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา hydrolysis ในการเปลี่ยน asparagines ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการสร้างโปรตีนของเซลล์มะเร็งและเซลล์ไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ ไปเป็น aspartic acid ส่งผลให้เซลล์มะเร็งหยุดการเจริญเติบโต

ระยะของการให้การรักษา (Stage of therapy)

การให้เคมีบำบัดเพื่อการรักษาเนื้องอก สามารถแบ่งออกได้เป็นระยะต่าง ๆ ดังรูปที่ 2 โดยมีรายละเอียดของการให้ยาในแต่ละระยะดังนี้



ภาพผนวกที่ ก2 ระยะต่างๆของการให้ยาเคมีบำบัด

ที่มา: Dobson and Gorman (1993)

Induction therapy

จุดประสงค์ของการให้เคมีบำบัดในระยะ induction therapy คือเพื่อลดการแพร่กระจายและขนาดของก้อนเนื้องอกให้มากที่สุด การให้ยาในช่วงนี้จึงมีความถี่สูง

Maintenance therapy

เป็นการให้ยาเคมีบำบัดด้วยรูปแบบการให้ที่มีความถี่ลดลง โดยให้ยาหลังจากการให้ช่วง induction therapy ที่สามารถทำลายเนื้องอกได้แล้ว ทั้งนี้เพื่อควบคุมไม่ให้เกิดการกลับมาเป็นซ้ำ

Rescue therapy

เป็นการให้ยาเคมีบำบัดด้วยสารเคมีบำบัดชนิดใหม่ เนื่องจากการรักษาเนื้องอกในบางครั้งพบว่า แม้ว่าการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดที่ให้ในช่วง induction จะเป็นไปด้วยดี แต่ภายหลังแล้วกลับพบการกลับมาเกิดเนื้องอกขึ้นอีก

การให้ยาเคมีบำบัด (Route of drug administration)

การให้ยาเคมีบำบัดสามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและชนิดของมะเร็ง ดังนี้

1. ให้ยาโดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ (Intravenous administration) การฉีดเข้าหลอดเลือดดำโดยตรงหรือหยดช้าๆ เข้าหลอดเลือดดำ ยาที่ให้ทางนี้ เช่น Carboplatin, Cisplatin, Cyclophosphamide, Doxorubicin, Mitoxantrone, Vincristine, vinblastine เป็นต้น
2. ให้ยาโดยการฉีดกล้ามเนื้อ (Intramuscular administration) เช่น L-asparaginase
3. ให้ยาโดยการฉีดเข้าชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous administration) เช่น L-asparaginase และ Bleomycin เป็นต้น
4. ให้ยาโดยการใส่ยาเข้าทางโพรงหรือท่อของอวัยวะที่เป็นโรค (Intracavitary administration) เช่น โพรงมดลูก โพรงมดลูกหรือในหลอดอาหาร ซึ่งยาที่ให้ด้วยวิธีนี้เช่น Cisplatin, Carboplatin, Mitoxantrone, 5-Fluorouracil เป็นต้น
5. ให้ยาเข้าไปในตำแหน่งที่มีวิธีการโดยตรง (Intralesional administration) เช่น Bleomycin
6. ให้ยาโดยการกิน (Oral administration) ทำได้สะดวกแต่มีข้อจำกัดบางประการ เช่น การดูดซึมของยาแตกต่างกัน ขามีความระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหาร ยาในรูปแบบกิน เช่น Cyclophosphamide, Chlorambucil, Lomustine (CCNU) เป็นต้น

หลักสำคัญในการรักษามะเร็งด้วยยาเคมีบำบัด

ขนาดของยาเคมีบำบัดที่ใช้ในการรักษามะเร็งควรให้ผลต่อการรักษาสูงสุดและมีผลข้างเคียงต่อเนื้อเยื่อปกติน้อยที่สุดเพราะยาเคมีบำบัดไม่สามารถแบ่งแยกระหว่างเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติได้ เซลล์ที่มีการแบ่งตัวที่รวดเร็วจะตอบสนองต่อการให้ยาเคมีบำบัดได้ดี แต่ถ้าเซลล์มะเร็งมีการเจริญเติบโตที่ช้าการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดจะน้อยลง เซลล์ที่อยู่ในระยะพัก G_0 จะไม่ถูกทำลายในระหว่างที่มีการให้ยาเคมีบำบัด ดังนั้นยาเคมีบำบัดจึงมีค่าดัชนีในการรักษาที่แคบ (therapeutic index) ความเป็นพิษส่วนใหญ่จะมีผลต่อระบบทางเดินอาหารและไขกระดูก การเลือกให้ยาเคมีบำบัดมักจะมีการใช้ร่วมกันหลายชนิดเพื่อทำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดมากกว่าการใช้ยาเพียงชนิดเดียวและลดโอกาสการเกิดการดื้อยา เมื่อมีการเลือกให้ยาเคมีบำบัดร่วมกันสิ่งที่ควรพิจารณาได้แก่

1. ยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดมีกลไกการออกฤทธิ์ต่อเนื้องอกอย่างไร
2. ควรหลีกเลี่ยงยาเคมีบำบัดที่มีความเป็นพิษคล้ายกัน

3. ขนาดของยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดควรใช้ขนาดใกล้เคียงกับปริมาณยาสูงสุดที่สัตว์ป่วยสามารถทนได้ (maximal tolerated dose, MTD) ของยาแต่ละชนิดเท่าที่จะเป็นไปได้ (Carolyn and Higginbotham, 2010)

การคำนวณขนาดยา

การคำนวณขนาดยาเคมีบำบัดมักนิยมใช้หลักการคำนวณขนาดยาต่อพื้นที่ผิวของร่างกาย หน่วยเป็นตารางเมตร (m^2) มากกว่าการใช้น้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ทั้งนี้เนื่องจากเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูป การกระจายตัวและการขับยาออกจากร่างกายจะมีความเกี่ยวข้องกับพื้นที่ผิวมากกว่าน้ำหนักตัว โดยการเทียบน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัมกับพื้นที่ผิวสามารถทำได้ โดยการคำนวณจากสูตร

$$\text{พื้นที่ผิว (ตารางเมตร; } m^2) = A \times (\text{น้ำหนักตัวเป็นกรัม})^{2/3} / 10000$$

เมื่อ $A = 10.1$ กรณีที่เป็นสุนัข และ $A = 10.0$ กรณีที่เป็นแมว

หรือใช้ตารางเทียบ (conversion chart) เทียบระหว่างน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัมกับพื้นที่ผิวของสุนัขและแมวดังที่แสดงไว้ในภาพผนวกที่ ก3

DOGS				CATS	
Kg	m²	Kg	m²	Kg	m²
0.5	0.06	33	1.03	2.0	0.159
1	0.10	34	1.05	2.5	0.184
2	0.15	35	1.07	3.0	0.208
3	0.20	36	1.09	3.5	0.231
4	0.25	37	1.11	4.0	0.252
5	0.29	38	1.13	4.5	0.273
6	0.33	39	1.15	5.0	0.292
7	0.36	40	1.17	5.5	0.311
8	0.40	41	1.19	6.0	0.330
9	0.43	42	1.21	6.5	0.348
10	0.46	43	1.23	7.0	0.366
11	0.49	44	1.25	7.5	0.383
12	0.52	45	1.26	8.0	0.400
13	0.55	46	1.28	8.5	0.416
14	0.58	47	1.30	9.0	0.432
15	0.60	48	1.32	9.5	0.449
16	0.63	49	1.34	10	0.464
17	0.66	50	1.36		
18	0.69	52	1.41		
19	0.71	54	1.44		
20	0.74	56	1.48		
21	0.76	58	1.51		
22	0.78	60	1.55		
23	0.81	62	1.58		
24	0.83	64	1.62		
25	0.85	66	1.65		
26	0.88	68	1.68		
27	0.90	70	1.72		
28	0.92	72	1.75		
29	0.94	74	1.78		
30	0.96	76	1.81		
31	0.99	78	1.84		
32	1.01	80	1.88		

ภาพผนวกที่ ก3 การเทียบน้ำหนักตัวหน่วยเป็นกิโลกรัมกับพื้นที่ผิวของร่างกายของสุนัขและแมว
หน่วยเป็นตารางเมตร

ผลข้างเคียงของยาเคมีบำบัด

อาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากยาเคมีบำบัดสามารถพบได้ในทุก ๆ ช่วงของการรักษา โดยที่ยาเคมีบำบัดบางชนิดสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาการแพ้ขึ้นทันทีภายหลังได้รับยา ขณะที่ยาบางชนิดมีความระคายเคืองสูงและทำให้เกิดการรั่วของยาออกนอกเส้นเลือดก็สามารถเหนี่ยวนำให้เนื้อเยื่อที่อยู่โดยรอบเกิดการระคายเคือง ซึ่งอาจเกิดการอักเสบรุนแรงจนนำไปสู่เนื้อตายในบริเวณนั้นได้

อีกทั้งยาเคมีบำบัดซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์จะมีกลไกการทำงานที่ไม่จำเพาะต่อเซลล์เนื้องอกเท่านั้น จึงส่งผลให้เซลล์ปกติได้รับผลกระทบและเกิดความเป็นพิษขึ้นตามมา ทั้งนี้วิธีที่จะประกอบด้วยเซลล์ที่มีอัตราการแบ่งตัวและการเจริญสูง จะมีความไวต่อยาเคมีบำบัดและการเกิดพิษ

สูงขึ้นตามมาด้วย ทั้งนี้ระบบที่ได้รับผลกระทบสูงสุดจากการได้รับยาเคมีบำบัด คือ ไชกระดูก และระบบทางเดินอาหาร และมีผลต่อระบบต่างๆของร่างกายดังนี้

1. ผลต่อระบบเลือด (Hematologic complications)

ยาเคมีบำบัดเกือบทุกชนิดมีผลลดการทำงานของไขกระดูก (myelosuppression) เนื่องจากอัตราการแบ่งตัวของเซลล์ภายในไขกระดูกสูง และยาเคมีบำบัดสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลในเลือดต่ำ (neutropenia) เกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia) และ เม็ดเลือดแดงต่ำ (anemia) ขึ้นภายหลังได้รับยา โดยที่ยาจะมีผลต่อจำนวนของเม็ดเลือดขาวเป็นหลัก เนื่องจากเป็นเม็ดเลือดที่มีระยะเวลาอยู่ในกระแสเลือด (circulation time) น้อยที่สุด และจากภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำนี้ ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อแทรกซ้อนเพิ่มสูงมากขึ้นตามมา ควรเลื่อนเวลาการให้ยาในครั้งต่อไปกรณีพบว่า เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำกว่า 3,000 cells/ μ l ซึ่งภาวะ neutropenia ที่เกิดขึ้นจะมีผลจำกัดขนาดของยาเคมีบำบัดที่ใช้ไม่ให้เพิ่มสูงมากจนเกิดอันตรายรุนแรง โดยระยะเวลาที่ระดับของเซลล์นิวโทรฟิลลดลงจนถึงจุดต่ำสุดในกระแสเลือดภายหลังจากได้รับยาเคมีบำบัดหรือ nadir จะเกิดขึ้นที่ 7-10 วันภายหลังจากการได้รับยา

นอกจากนี้การกดไขกระดูกยังมีผลต่อจำนวนเกล็ดเลือด เช่นการให้ยา CCNU (lomustine) ในระยะเวลาที่นานทำให้เกล็ดเลือดลดลง

2. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร (Gastrointestinal effects)

ปัญหาที่พบมากภายหลังจากการให้ยาเคมีบำบัดที่มีต่อระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ สัตว์ป่วยแสดงอาการอาเจียนสามารถพบได้ภายหลังการให้ยา 6-12 ชั่วโมงหรืออาจเกิดขึ้นภายหลังการให้ยาเคมีบำบัดไป 24-48 ชั่วโมง อาการที่พบได้ใช้อื่นเช่น เบื่ออาหาร และท้องเสีย ซึ่งอาการท้องเสียที่เกิดขึ้นเป็นผลจากยาทำให้เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารตายและหลุดลอก ขณะที่ยาเคมีบำบัดแต่ละชนิดจะมีผลในการกระตุ้นให้เกิดการอาเจียนในระดับความรุนแรงที่แตกต่างกัน ยาบางชนิด เช่น cisplatin และ doxorubicin มีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการคลื่นไส้และอาเจียนได้สูง จากการกระตุ้นที่ chemoreceptor trigger zone ซึ่งอยู่ที่สมองส่วน medulla oblongata โดยตรงได้อีกทางหนึ่งด้วย ซึ่งการรักษาอาการคลื่นไส้อาเจียนที่เกิดขึ้น สามารถทำได้โดย

1. ให้ยาระงับอาเจียน เช่น metoclopramide หรือ ondansetron ซึ่งจะช่วยป้องกันและควบคุมการอาเจียน
2. ให้ยาเคลือบกระเพาะหรือลดกรด เพื่อช่วยป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร

3. ความเป็นพิษต่อหัวใจ (Cardiotoxicity)

มักพบได้บ่อยกรณีให้ยา doxorubicin ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อหัวใจโดยความเป็นพิษที่เกิดขึ้นเนื่องจากขนาดของยาที่ได้รับและเกิดการสะสมจนเกิดพิษ (dose-dependent cardiotoxicity) ด้วยเหตุนี้จึงแนะนำให้ขนาดของยารวมที่ให้กับสุนัขหนึ่งตัวในการรักษาไม่ควรสูงเกินกว่า 200 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร (พื้นที่ผิว) เพราะถ้าเกินกว่านี้มีโอกาสเสี่ยงต่อความเป็นพิษต่อหัวใจ ขนาดที่แนะนำในสุนัขอยู่ในช่วง 150-240 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร (พื้นที่ผิว)

ข้อควรปฏิบัติควรทำการตรวจร่างกายอย่างละเอียดทุกครั้งก่อนการให้ยาและตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (echocardiography; ECG) ก่อนเริ่มการให้ยาครั้งแรก หรือหลังจากได้รับยาเป็นสิ่งที่ควรดำเนินการและมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดผลข้างเคียงที่อาจตามมา

ผลข้างเคียงต่อหัวใจจากยาสามารถเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะคือ

3.1 ผลข้างเคียงแบบเฉียบพลัน (Acute cardiac toxicity) ซึ่งอาจเกิดขึ้นในระหว่างที่ได้รับยา โดยทำให้เกิด tachycardia, arrhythmias ขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการตรวจติดตาม pulse rate และลักษณะการเต้นของหัวใจในระหว่างที่ให้ยา หากพบความผิดปกติก็ควรปรับอัตราเร็วในการให้ยาให้ช้าลงหรือหยุดการให้ยา

3.2 ผลข้างเคียงแบบเรื้อรัง (Chronic cardiac toxicity) ซึ่งเกิดขึ้นจากการสะสมของยาจนเป็นอันตรายต่อกล้ามเนื้อหัวใจ โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นบางกรณีอาจไม่สามารถหายเป็นปกติได้

4. ความเป็นพิษต่อไต (Nephrotoxicity)

cisplatin และ carboplatin สามารถสะสมใน renal tubular epithelial cells แล้วขัดขวางกระบวนการ oxidative phosphorylation ทำให้เกิด acute proximal tubular necrosis ทั้งยังอาจมีผลต่อการไหลเวียนเลือดภายในไตอีกด้วย การป้องกันความเป็นพิษต่อไตโดยการให้ NSS อัตราการไหล 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมงก่อนการให้ยาเป็นเวลา 4 ชั่วโมงและ 2 ชั่วโมงภายหลังจากการให้ยา cisplatin

5. ภาวะภูมิไวเกิน (Hypersensitivity reaction)

ยาเคมีบำบัดที่มีรายงานว่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิไว ได้แก่

-L-asparaginase

-Doxorubicin

-Cisplatin

-Cytarabine

ดังนั้นจึงควรให้ยากลุ่ม corticosteroids เช่น dexamethasone และยากลุ่ม antihistamine เช่น chlorpheniramine ก่อนการให้ยาเหล่านี้

6. ผลต่อเนื้อเยื่อ

เนื่องจากยาเคมีบำบัดหลายชนิดสามารถก่อให้เกิดความระคายเคืองบริเวณที่ฉีดยา โดยมีระดับความระคายเคืองรุนแรงแตกต่างกัน ทำให้แบ่งยาเคมีบำบัดตามลักษณะที่ก่อให้เกิดความระคายเคืองหรือผลที่มีต่อเนื้อเยื่อออกเป็น 2 กลุ่มคือ

6.1 Irritant หมายถึงยาที่มีผลให้เกิดความเจ็บปวดบริเวณที่ฉีดหรือภายในเส้นเลือด โดยอาจเกิดการอักเสบร่วมด้วยหรือไม่ก็ได้

6.2 Vesicant หมายถึงยาที่มีความระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อสูงหากเกิดการรั่วของยาออกนอกเส้นเลือด (extravasation) ทำให้เกิดเนื้อตายหรือการอักเสบบริเวณที่เกิดการรั่วออกของยา

การประเมินผลการตอบสนองต่อเคมีบำบัด

การประเมินการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัดของเนื้องอกโดยพิจารณาจากลักษณะวิการที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า และอาการทางคลินิกที่พบ โดยแบ่งได้เป็น 4 ระดับ ตามหลักเกณฑ์การแบ่งที่ได้อธิบายไว้โดยสุณิและคณะ (2010) ดังนี้

1. การรักษาที่ให้ผลตอบสนองอย่างสมบูรณ์ (complete remission; CR) หมายถึง การหาย (ตรวจไม่พบ) เนื้องอก เซลล์มะเร็งทุกชนิดอย่างสมบูรณ์และไม่ปรากฏการเกิดโรคขึ้นใหม่อย่างน้อยเป็นเวลา 1 เดือนภายหลังจากการรักษา

2. การรักษาที่ให้ผลตอบสนองอย่างไม่สมบูรณ์ (partial remission; PR) หมายถึงการตอบสนองต่อยาที่มีผลให้ขนาดของเนื้องอก หรือดัชนีบ่งชี้ภาวะมะเร็งอื่น ๆ ลดลงอย่างน้อยครึ่งหนึ่งหรือมากกว่า อีกทั้งไม่มีภาวะการเกิดโรคขึ้นใหม่อย่างน้อย 1 เดือนภายหลังได้รับยา

3. การตอบสนองแบบทรงตัว หมายถึง การที่ขนาดของก้อนเนื้อไม่เกิดการเพิ่มหรือลดขนาดลงอย่างมีนัยสำคัญภายหลังได้รับยา กรณีที่ขนาดของก้อนเนื้ออาจลดลงเพียงเล็กน้อย แต่ส่งผลบรรเทาอาการอื่น ๆ ที่เกิดเนื้องอกมะเร็ง เช่น อาการปวดลดลง สามารถรับประทานอาหาร

ได้มากขึ้น ลักษณะเช่นนี้จะจัดเป็นการตอบสนองในเชิงปรับปรุงคุณภาพชีวิต และลดความรุนแรงของอาการทางคลินิก (clinical benefit response)

4. การไม่ตอบสนองภายหลังการได้รับยา หมายถึง ขนาดของเนื้องอกมีการเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 25% หรือปรากฏมีการใหม่เพิ่มขึ้นขณะได้รับการรักษา จะจัดเป็นภาวะที่ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น ซึ่งเกณฑ์การพิจารณาดังกล่าวข้างต้นเป็นเกณฑ์ที่ต้งขึ้นเพื่อใช้ในการกรณีที่เกิดมะเร็งในลักษณะที่เป็นก้อนปรากฏให้เห็น

การดื้อของเซลล์มะเร็งต่อการรักษาโดยใช้ยาเคมีบำบัด

การไม่ตอบสนองของเซลล์มะเร็งต่อยาเคมีบำบัดเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การรักษามะเร็งโดยใช้ยาเคมีบำบัดไม่ประสบผลสำเร็จ ปัจจัยที่ทำให้เกิดการดื้อต่อยาเคมีบำบัดอาจเกิดจากภายในหรือภายนอกกระบวนการรักษาซึ่งรูปแบบการดื้อยาสามารถจำแนกได้เป็น 3 รูปแบบ ได้แก่

1. Kinetic resistance

การดื้อยารูปแบบนี้เกี่ยวข้องกับสัดส่วนระหว่างเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวต่อเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดของก้อนมะเร็ง ซึ่งก้อนมะเร็งที่มีขนาดใหญ่จะมีเซลล์ที่อยู่ในระยะ G_0 ซึ่งเป็นระยะพักค่อนข้างมากดังนั้นการใช้ยาเคมีบำบัดที่ออกฤทธิ์จำเพาะต่อระยะหนึ่งของวงจรชีวิตของเซลล์ (cell cycle phase-specific agents) ทำให้การตอบสนองต่อการรักษาลดลง

2. Biochemical resistance

การดื้อยารูปแบบนี้เกี่ยวข้องกับกลไกทางชีววิทยาของเซลล์ ได้แก่ การลดการสะสมของยาภายในเซลล์จากการเพิ่มการขับออกของยา การเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา การเปลี่ยนตำแหน่งเป้าหมายของยา กระบวนการที่ทำให้เกิดการดื้อยานั้นมีการขับยาออกจากเซลล์โดยกระบวนการขนส่งโปรตีนที่เรียกว่า พี ไกลโคโปรตีน (P-glycoprotein) เป็นโปรตีนชนิด efflux protein ซึ่งสามารถพบได้ตามเซลล์ชนิดต่างๆ

3. Pharmacological resistance

การดื้อยารูปแบบนี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ ได้แก่ การดูดซึมยา เมตาบอลิซึม หรือ การขับออกของยาที่ไม่ดี หรือการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยา การลดการดื้อยาทางเภสัชวิทยาสามารถทำได้โดยเพิ่มขนาดของยาที่ใช้แต่จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวผู้ใช้ได้ (Maddison *et al.*, 2008)





ภาคผนวก ข
การเตรียมยาเคมีบำบัด

การเตรียมยาเคมีบำบัด

1. อุปกรณ์สำหรับการป้องกันการสัมผัสกับยาเคมีบำบัด

อุปกรณ์สำหรับการป้องกันการสัมผัสกับยาเคมีบำบัดประกอบด้วย

- 1.1 ถุงมือ
- 1.2 ชุดคลุมร่างกาย
- 1.3 หน้ากากและแว่นตา
- 1.4 ตู้ biosafety carbinet สำหรับเตรียมยา

2. หลักในการเตรียมยาเคมีบำบัด

- 2.1 ผู้ปฏิบัติงานควรสวมอุปกรณ์ป้องกัน ได้แก่
 - สวมเสื้อคลุม
 - สวมถุงมือสองชั้น โดย สวมถุงมือชั้นในไว้ใต้แขนเสื้อคลุมและสวมถุงมือชั้นนอกทับด้านนอกของแขนเสื้อคลุม
 - สวมหน้ากากเพื่อป้องกันการสูดดมละอองเคมีบำบัดและสวมแว่นตากรณีที่เป็นหน้ากากแบบไม่เต็มหน้า
- 2.2 ห้องและพื้นที่เตรียมยาเคมีบำบัดควรแบ่งแยกเข้าได้เฉพาะผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องและสวมอุปกรณ์ป้องกันครบถ้วนเท่านั้น
- 2.3 ทำการเตรียมยาเคมีบำบัดทุกชนิดใน biosafety carbinet และมีอากาศถ่ายเทได้ดี
- 2.4 เช็ดภาชนะบรรจุยาเคมีบำบัดด้วย 70% alcohol และปล่อยให้แห้งก่อนการจับสัมผัสเพื่อป้องกันการแอลกอฮอล์ทำลายสภาพถุงมือ
- 2.5 การเตรียมยาเคมีบำบัดใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique)
- 2.6 ยาเคมีบำบัดที่เตรียมเสร็จควรระบุชนิดยา ขนาดยาและชื่อสัตว์ป่วยที่รับยาอย่างชัดเจน
- 2.7 ขยะจากการใช้ยาเคมีบำบัดต้องบรรจุในภาชนะหรือถุงพลาสติกปิดสนิท
- 2.8 ถุงที่บรรจุขยะเคมีบำบัดจะต้องเป็นถุงสีแดงที่ระบุถึงการเป็นขยะอันตราย และควรแยกทิ้งกับขยะติดเชื้อ
- 2.9 ผู้ปฏิบัติงานถอดถุงมือ โดยพลิกด้านในออกด้านนอก โดยให้ถอดถุงมือชั้นนอกให้เสร็จในตู้เตรียมยา

2.10 ผู้ปฏิบัติงานล้างมือด้วยสบู่และน้ำสะอาดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากยาเคมีบำบัด
หลังจากถอดถุงมือ





หลักการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

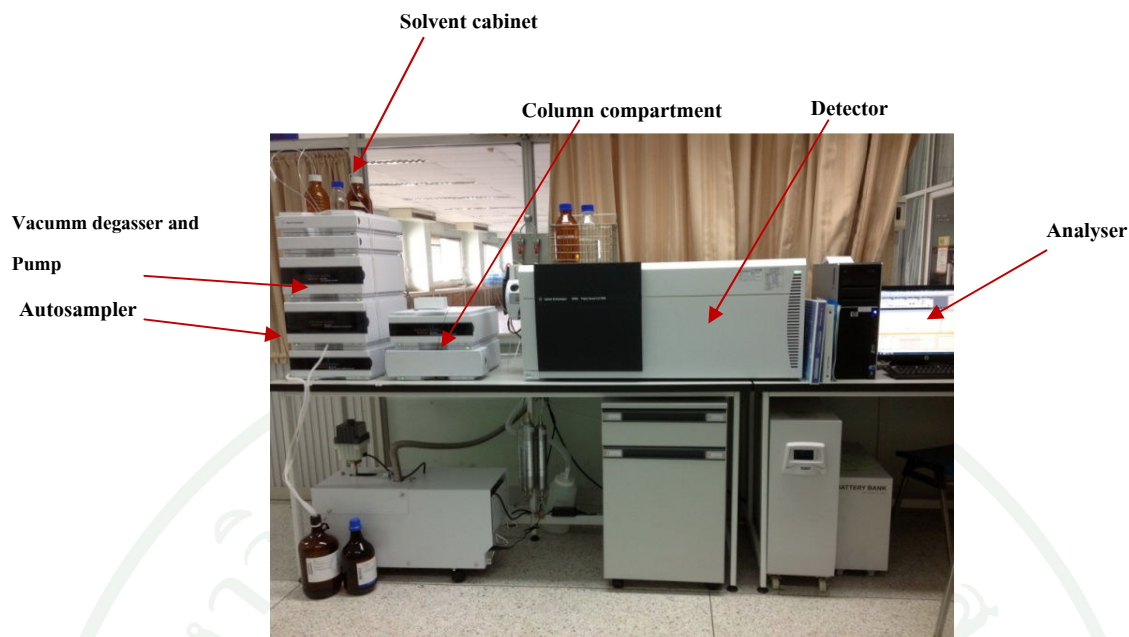
โครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารที่ต้องการศึกษาที่ผสมอยู่ในตัวอย่างและบ่งชี้ว่าแต่ละส่วนเป็นสารชนิดใดวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative Analysis) โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน โครมาโทกราฟีได้มีการพัฒนาขึ้นตั้งแต่ปีค.ศ. 1960 ในปัจจุบันนี้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายหลากหลายอุตสาหกรรม เกษษศาสตร์ สิ่งแวดล้อม เทคโนโลยีชีวภาพและอุตสาหกรรมอาหาร (ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538)

หลักการเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงอาศัยกระบวนการแยกสารประกอบที่เรานั้นจะระหว่างเฟส 2 เฟส

1. เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) หรือ คอลัมน์ (column)
2. เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นตัวทำละลายที่ใช้นำสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าไปในคอลัมน์เพื่อทำการแยกสารเฟสเคลื่อนที่มีลักษณะเป็นของเหลว

ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC ประกอบด้วย

1. ส่วนบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (solvent cabinet)
2. เครื่องกำจัดก๊าซ (vacuum degasser)
3. ปั๊ม (pump)
4. เครื่องฉีดสารอัตโนมัติ (autosampler)
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิคอลัมน์ (column oven or column compartment)
6. เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (detector)
7. เครื่องประมวลผล



ภาพผนวกที่ ค1 องค์ประกอบของเครื่อง LC-MS/MS

ชนิดของโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

1. โครมาโทกราฟีชนิดดูดซับ (Adsorption chromatography) ใช้หลักการที่ตัวถูกละลายและตัวทำละลายเข้าจับหรือดูดซับกับตำแหน่งบนผิวของเฟสอยู่กับที่ โดยทั่วไปจะใช้ซิลิกาเจลอลูมินาหรือคาร์บอน

2. โครมาโทกราฟีประเภทพาร์ทิชัน แบ่งออกเป็น

2.1 โครมาโทกราฟีเฟสปกติ (Normal phase chromatography) ขึ้นอยู่กับความมีขั้ว คือเฟสที่ใช้อยู่กับที่จะมีสภาพมีขั้ว และใช้เฟสเคลื่อนที่ไม่มีสภาพขั้ว

2.2 โครมาโทกราฟีเฟสผกผัน (Reversed phase chromatography) คือเฟสที่ใช้อยู่กับที่จะมีสภาพไม่มีขั้วหรือมีสภาพขั้วต่ำและใช้เฟสเคลื่อนที่มีสภาพมีขั้วที่สูงกว่า

3. โครมาโทกราฟีประเภทแยกขนาด (Size exclusion chromatography) เป็นวิธีการแยกใช้ความแตกต่างของขนาดโมเลกุล เทคนิคนี้ใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาทางโพลีเมอร์

4. โครมาโทกราฟีประเภทการแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange chromatography)

คอลัมน์ที่ใช้ใน HPLC

1. คอลัมน์มาตรฐาน (standard column) มีหน้าที่ในการแยกสารประกอบในตัวอย่างออกจากกัน อนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์มีหลายแบบ องค์ประกอบของคอลัมน์

1.1 เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน (internal diameter) เส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์เป็นตัวกำหนดปริมาณของสารที่เราวิเคราะห์ซึ่งมีผลต่อความไวในการวิเคราะห์ ขนาดของคอลัมน์ที่เล็กจะทำให้ความไวในการวิเคราะห์ดีขึ้นและปริมาณตัวทำละลายที่ใช้จะน้อยลง

1.2 ขนาดของอนุภาค (particle size) เฟสคงที่ที่ใช้ในระบบ HPLC มักจะใช้ซิลิกาเจล ขนาดของอนุภาคยิ่งเล็กพื้นที่ผิวยิ่งมากประสิทธิภาพในการแยกสารจะดีขึ้น ขนาดของอนุภาคที่ใช้ในคอลัมน์จะมีตั้งแต่ 3-20 ไมครอน

1.3 ขนาดของรูพรุน (pore size) ขนาดรูพรุนที่เล็กทำให้พื้นที่ผิวปริมาณมากจึงจับกับตัวอย่างได้ดี

1.4 รูปร่างของอนุภาค (particle shape) มี 2 แบบ คือรูปร่างกลม (spherical) และรูปร่างแน่นอน (irregular) รูปร่างกลมจะใช้แรงดันในการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่น้อยกว่า

2. Guard column จะติดอยู่ระหว่างคอลัมน์และตัวฉีดสาร ทำหน้าที่กรองสารที่จะไปติดอยู่ใน analytical column ทำให้ยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์

ระบบการแยกสารในเทคนิค HPLC มี 2 แบบ

1. Isocratic เป็นการแยกสารโดยที่องค์ประกอบหรืออัตราส่วนของตัวทำละลายคงที่แบบเดียวกันตลอดการแยก

2. Gradient เป็นการแยกสารโดยอัตราส่วนของตัวทำละลายมีการปรับอัตราส่วนตามเวลาที่เปลี่ยนไป

การเตรียมเฟสเคลื่อนที่

1. การทำให้แห้ง (drying) กรณีของเฟสปกติ (normal phase chromatography) เมื่อใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ไม่ควรมีน้ำปนอยู่

2. การไล่อากาศ (degassing) เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการแยกแบบผันกลับ (reverse phase) ควรไล่อากาศออกเพื่อการทำงานที่ดีของปั๊มหรือเครื่องตรวจวัด

3. การกรอง (filtering) ควรทำการกรองก่อนนำโมบายเฟสไปใช้เพื่อป้องกันไม่ให้อนุภาคขนาดใหญ่ไปอุดตันในคอลัมน์ซึ่งจะทำให้คอลัมน์มีความดันสูงเป็นสาเหตุให้คอลัมน์พังหรือประสิทธิภาพเสื่อมลง

เครื่องตรวจวัด (detector)

เครื่องตรวจวัดที่ใช้สำหรับตรวจจับสารหรือองค์ประกอบในคอลัมน์มีด้วยกันหลายแบบที่นิยมใช้ได้แก่

1. ยูวี-วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-VIS detector)

หลักการทำงานอาศัยหลักการดูดกลืนแสง UV ของสารตัวอย่าง เครื่องวัดชนิดนี้นิยมใช้ใน HPLC เพราะไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของการไหลและอุณหภูมิ ที่นิยมใช้ใน HPLC แบ่งเป็น 3 ชนิด

- 1.1 Fixed-wavelength UV detector
- 1.2 Variable wavelength UV-VIS detector
- 1.3 Diode array detector

2. ฟลูออเรสเซนส์ดีเทคเตอร์ (Fluorescent detector)

เป็นตัววัดที่มีความไวสูงกว่ายูวี ใช้กับสารประกอบที่เรืองแสงได้เองหรือเตรียมเป็นอนุพันธ์ที่สามารถเรืองแสงได้

3. คอนดักติวิตีดีเทคเตอร์ (Conductivity detector)

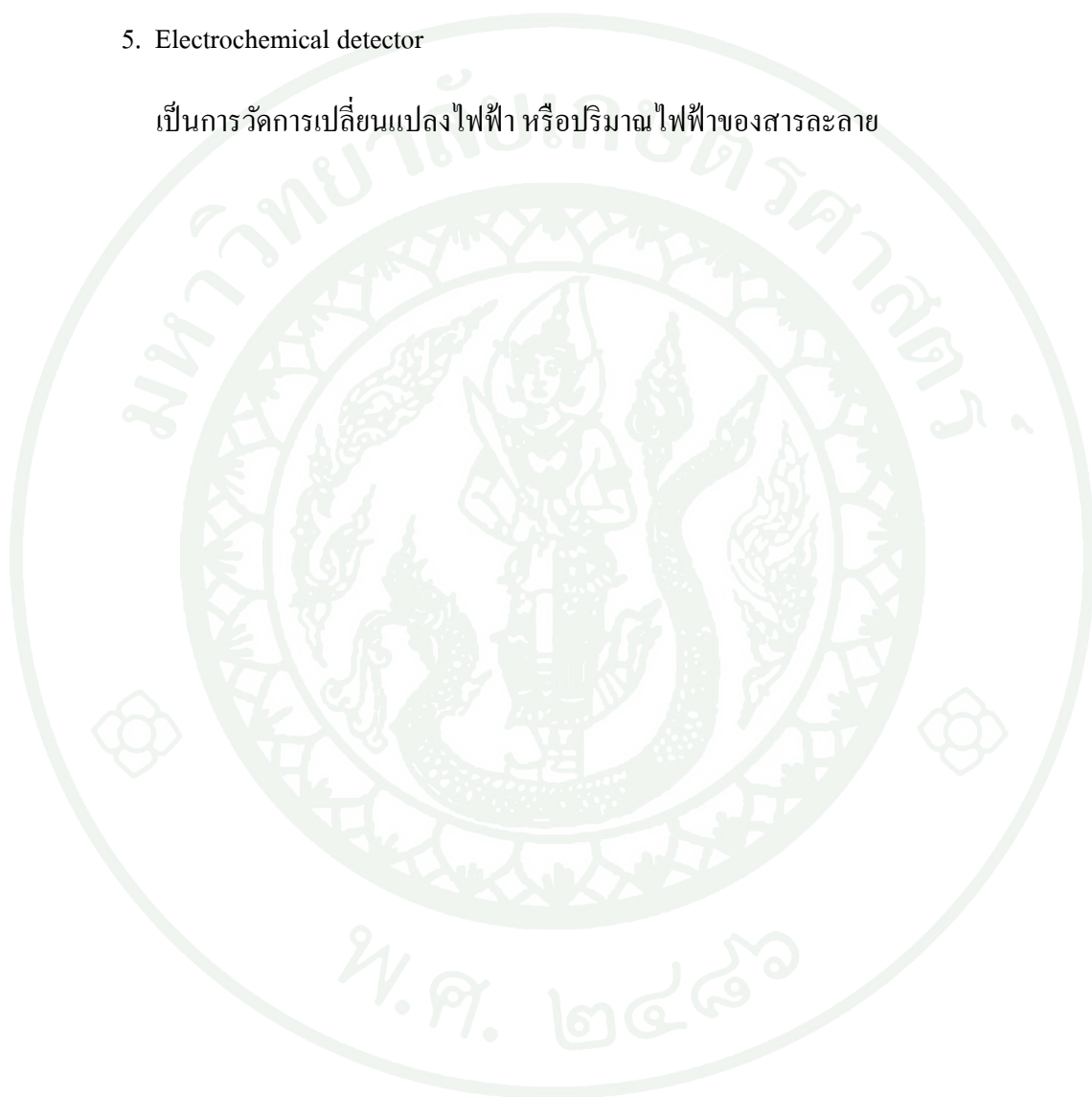
เป็นการวัดสารจากการนำไฟฟ้าของสารเหมาะสำหรับที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำและเหมาะสำหรับสารที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยยูวี-วิสิเบิล

4. แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass spectrometer)

เป็นเครื่องตรวจวัดที่ให้ความไวสูงที่สุด ใช้ปริมาณสารตัวอย่างเพียงเล็กน้อยถ้าต่อเข้ากับเครื่อง HPLC จะเรียกว่า LC-MS (Liquid chromatography Mass spectrometry)

5. Electrochemical detector

เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงไฟฟ้า หรือปริมาณไฟฟ้าของสารละลาย



ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสุพรรณิการ์ หาญตระกูล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	11 กรกฎาคม 2522
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ระดับปริญญาตรี (สพ.บ.) คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	สัตวแพทย์ประจำคลินิกโนนทองรักษาสัตว์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คลินิกโนนทองรักษาสัตว์ เลขที่ 21/3 หมู่ 16 ถ.มิตรภาพ ต.ลาดบัวขาว อ.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา 30340
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	—
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานใน วารสารวิชาการระดับนานาชาติ ประจำปีงบประมาณ 2553