บทที่ 3 ผลการศึกษา

สรุปภาพการดำเนินงานของโครงการ MIRCIT Trial ตั้งแต่ 1 ธันวาคม 2549 ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2554

โครงการ MIRCIT Trial ได้รับอนุมัติจากจากคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2549 โดยได้ยื่นขอรับการพิจารณาล่วงหน้าก่อนทราบผลพิจารณาทุนจากสกว. ทำให้สามารถเริ่มเก็บข้อมูลได้ภายในเวลากำหนดทุน โครงการ MIRCIT Trial ได้มีการพัฒนาและปรับโครงการมาเป็นระยะๆ เพื่อให้สอดคล้องกับความเป็นไปได้ในการคัดเลือกอาสาสมัครเข้ารวมทั้งปรับการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูลตัวอย่างชีวภาพที่เกี่ยวข้อง ซึ่งทุกขั้นตอนได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุกครั้ง และการดำเนินการเป็นไปตาม Good Clinical Practice (GCP) ทั้งนี้ โครงการ MIRCIT Trial ได้เริ่มเก็บข้อมูลผู้ป่วยรายแรกในวันที่ 16 สิงหาคม 2550 และในช่วงเวลาที่ผ่านมามีการรายงานความก้าวหน้าและต่ออายุโครงการมาอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันมีอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาแล้ว 168 คน คาดว่าจะเก็บข้อมูลได้ครบตามกำหนด (174 คน) ภายในเดือนมิถุนายน 2554

หนึ่งในเป้าหมายการดำเนินการวิจัย MIRCIT Trial คือ ให้ผู้ป่วยได้รับประโยชน์จากงานวิจัยอย่างแท้จริง จึงเตรียมการเพื่อให้ผู้ป่วยสามารถเข้าถึงยาและมียาใช้ได้หากผลการศึกษายืนยันให้เห็นว่าเมลาโทนินมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยมะเร็งจริง ดังนั้นจึงได้ติดต่อฝ่าย R&D ของบริษัทเยนเนอร์ราลดรักเฮาส์ เพื่อขอความร่วมมือ (in kind) ในการผลิตผลิตภัณฑ์เมลาโทนินและยาหลอกสำหรับใช้ในการวิจัย เนื่องจากเป็นโรงงานที่มี Good Manufacturing Practice (GMP) โดยได้ร่วมในการพัฒนาสูตรตำรับและผลิตผลิตภัณฑ์เมลาโทนินที่ได้มาตรฐาน การร่วมมือดังกล่าวนำไปสู่การขยายความร่วมมือในการวิจัยมากขึ้น โดยนักวิจัยได้รับอนุมัติทุนสนับสนุนจาก สกว ตามโครงการความร่วมมือกับภาคอุตสาหกรรม (TRF-MAG) ตั้งแต่ปี 2550 – 2553 แล้ว จำนวน 5 ทุน เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับการขึ้นทะเบียนเมลาโทนินเป็นยาสำหรับผู้ป่วยโรคมะเร็งในประเทศไทย โดยล่าสุดบริษัทเยนเนอร์ราลดรักเฮาส์ได้ยื่นหลักฐานผลิตภัณฑ์ไปยังองค์การอาหารและยา ประเทศไทย เพื่อขอขึ้นทะเบียนเมลาโทนินสำหรับเป็นยาเพื่อใช้ในผู้ป่วยมะเร็งเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2554 และอยู่ระหว่างรอผลการพิจารณา

ปัญหาหลักของโครงการ MIRCIT Trial คือ ทุนวิจัยมีงบประมาณจำกัดและไม่เพียงพอ ส่วนหนึ่งเนื่องจากเป็นโครงการวิจัยทางคลินิกขนาดใหญ่ งานวิจัยมีความซับซ้อนและต้องติดตามผู้ป่วยเป็นเวลานาน มีการประสานงานกับเจ้าหน้าที่หลายฝ่าย จึงต้องจ้างผู้ช่วยวิจัยในการประสานและติดตามเรื่องดังกล่าวอย่างใกล้ชิด ทำให้มีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ยังมีการวัดผลลัพธ์ทางห้องปฏิบัติการหลายอย่าง ซึ่งล้วนใช้งบประมาณจำนวนมาก ทั้งนี้ หลังจากได้รับทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.-สกว. นักวิจัยได้ติดต่อขอความร่วมมือทั้งแบบ in kind และ in cash จากหลายหน่วยงาน เพื่อให้สามารถดำเนินโครงการได้ตามที่กำหนด ซึ่งผลจากกิจกรรมดังกล่าว ทำให้ทีมวิจัยได้ขยายไปสู่การตั้งกลุ่มวิจัย โดยเริ่มจากกลุ่มวิจัยในคณะเภสัชศาสตร์ในปี 2550 ก่อนที่จะขยายไปสู่กลุ่มวิจัยเมลาโทนิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปี 2552 ซึ่งการพัฒนาดังกล่าวทำให้กลุ่มวิจัยมีเงินสนับสนุนโครงการ MIRCIT Trial ได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ ยังได้ขยายการวิจัยไปสู่การศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี (วรยา มั่นประเสริฐ และคณะ 2553, ทุน TRF-MAG) การพัฒนาผลิตภัณฑ์เมลาโทนินรูปแบบต่างๆ (ทุน TRF-MAG 4 ทุน) การศึกษาปริมาณเมลาโทนินในผลไม้ (ทุน TRF ชุดโครงการสมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต 2 ทุน) รวมถึงการพัฒนาอนุพันธ์เมลาโทนินและการทดสอบฤทธิ์การต้านมะเร็งและต้านการอักเสบของอนุพันธ์ต่างๆ (ทุนอุดหนุนการวิจัย ปี 2553 และ 2554) และล่าสุดพัฒนาไปสู่แผนงานวิจัยนวัตกรรมผลิตภัณฑ์เมลาโทนินเพื่อเสริมประสิทธิภาพการรักษาและเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ครอบคลุมตั้งแต่กลไกการออกฤทธิ์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ ในศึกษาในสัตว์ทดลอง และการทดสอบทางคลินิกครอบคลุมโรคพยาธิใบไม้ตับ มะเร็งท่อน้ำดี มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ และมะเต็งต่อมลูกหมาก (ทุนสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ปี 2554, กำลังรอผลการพิจารณา) ซึ่งโครงการและทุนวิจัยต่างๆนี้ได้พัฒนามาจากทุนได้รับทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.-สกว.ทั้งสิ้น

นอกจากปัญหาเรื่องทุนวิจัยแล้ว โครงการ MIRCIT Trial ยังมีความล่าช้าในการเก็บข้อมูล ส่วนหนึ่งเนื่องจากคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาได้น้อย โดยเฉลี่ยเพียง 2-3 คนต่อเดือน แม้ต่อมาจะปรับแผนโดยเพิ่มทีมแพทย์และโรงพยาบาลที่เข้าร่วมการศึกษาแล้วก็ตาม เพื่อให้สอดคล้องกับการดำเนินงานจริง นักวิจัยจึงได้ขอปรับเปลี่ยนโครงการวิจัย MIRCIT Trial ส่วนที่ขอทุนทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ.-สกว.ที่เสนอต่อสกว.ใหม่ โดยลดจำนวนขนาดตัวอย่างจากเดิม 120 คน เป็น 30 คน และเพิ่มการตรวจวัดระดับเมลาโทนินในน้ำลาย เพิ่มการตรวจวัดภาวะออกซิเดชัน โดยวัดปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) และ 8-isoprostane (8-epi-PGF2$_\alpha$) ในปัสสาวะ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนินและยาหลอก ทั้งนี้ ได้รับอนุมัติเปลี่ยนแผนการดำเนินการจากฝ่ายวิชาการ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแล้ว ตามหนังสือเลขที่ นร 6808/319/2551 ลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551

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

การเตรียมผลิตภัณฑ์เมลาโทนินสำหรับการวิจัยทางคลินิก

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

การเตรียมทีมงานวิจัยทางคลินิก

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

ตารางที่ 4 คุณภาพของผลิตภัณฑ์เมลาโทนินที่ใช้ในงานวิจัย

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

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

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา

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

ผลของเมลาโทนินต่อระดับความเครียดออกซิเดชันในผู้ป่วย

โครงการวิจัยได้วางแผนตรวจระดับความเครียดออกซิเดชัน โดยใช้ 2 ตัวชี้วัด คือ ปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) และ 8-isoprostane (8-epi-PGF2$_\alpha$) ในปัสสาวะ แต่ภายหลังมีปัญหาความไม่พร้อมของเครื่องมือ HPLC ที่กำหนดสำหรับวัด ปริมาณ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) จึงได้เปลี่ยนมาเป็นการวัดระดับ Malondialdehye (MDA) ในพลาสมาแทน ซึ่งผลการศึกษาในผู้ป่วย 13 คนที่มีตัวอย่างพลาสมา พบว่า 10 คนได้รับเมลาโทนิน10 มิลลิกรัม 4 คนได้รับเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม และ 4 คนได้รับยาหลอก เมื่อเปรียบเทียบผล MDA ที่เคมีบำบัดคอร์สที่ 3 (หรือหลังการรักษาด้วยเมลาโทนิน 2 เดือน) กับก่อนรับการรักษา พบว่าเมลาโทนินลดระดับ MDA ได้ดีกว่ายาหลอก และผลแปรผันตามขนาดเมลาโทนิน โดยลดระดับ MDA ได้เท่ากับ -1.02, -0.85 and -0.61 µmol/L ในกลุ่มเมลาโทนิน 20 มิลลิกรัม เมลาโทนิน 10 มิลลิกรัม และ ยาหลอกตามลำดับ (ตารางที่ 6)

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

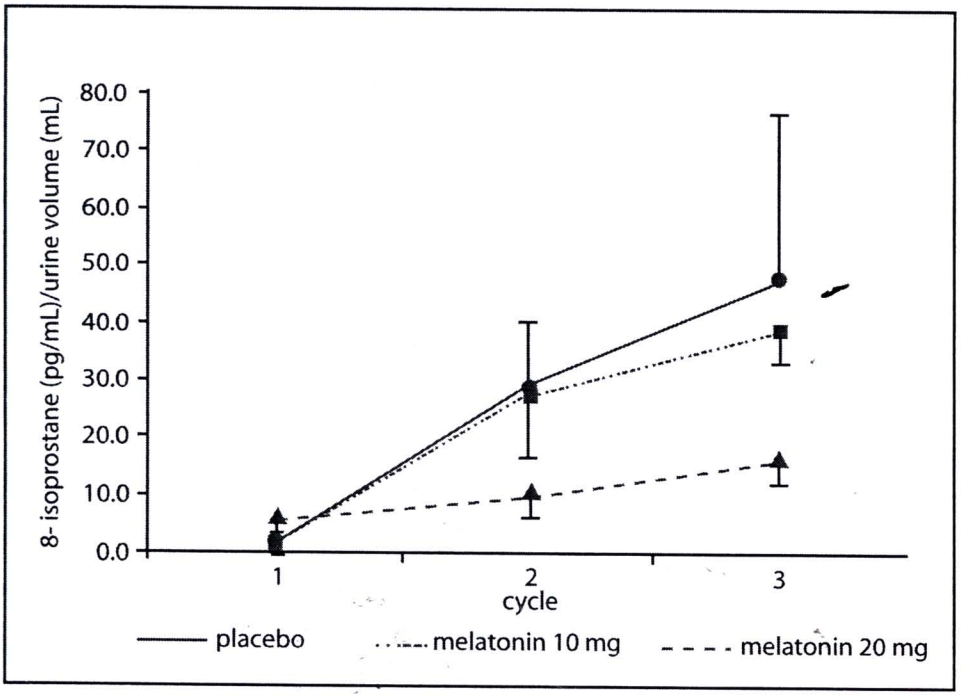
ตารางที่ 5: ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา (N = 30)

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

ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group,
FACT-G = Functional Assessment of Cancer Therapy - General
† Fisher's exact test for categorical data and ANOVA test for numerical data
Quality of life: higher scores means better

ตารางที่ 6 ระดับ MDA ในพลาสมาของผู้ป่วยมะเร็งที่รับเคมีบำบัดคอร์สที่ 1, 2 และ 3

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



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

ผลของเมลาโทนินต่ออาการไม่พึงประสงค์จากเคมีบำบัด

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

ตารางที่ 7 อุบัติการณ์ของอาการไม่พึงประสงค์ที่รายงานในแต่ละคอร์สของเคมีบำบัดในแต่ละกลุ่ม

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

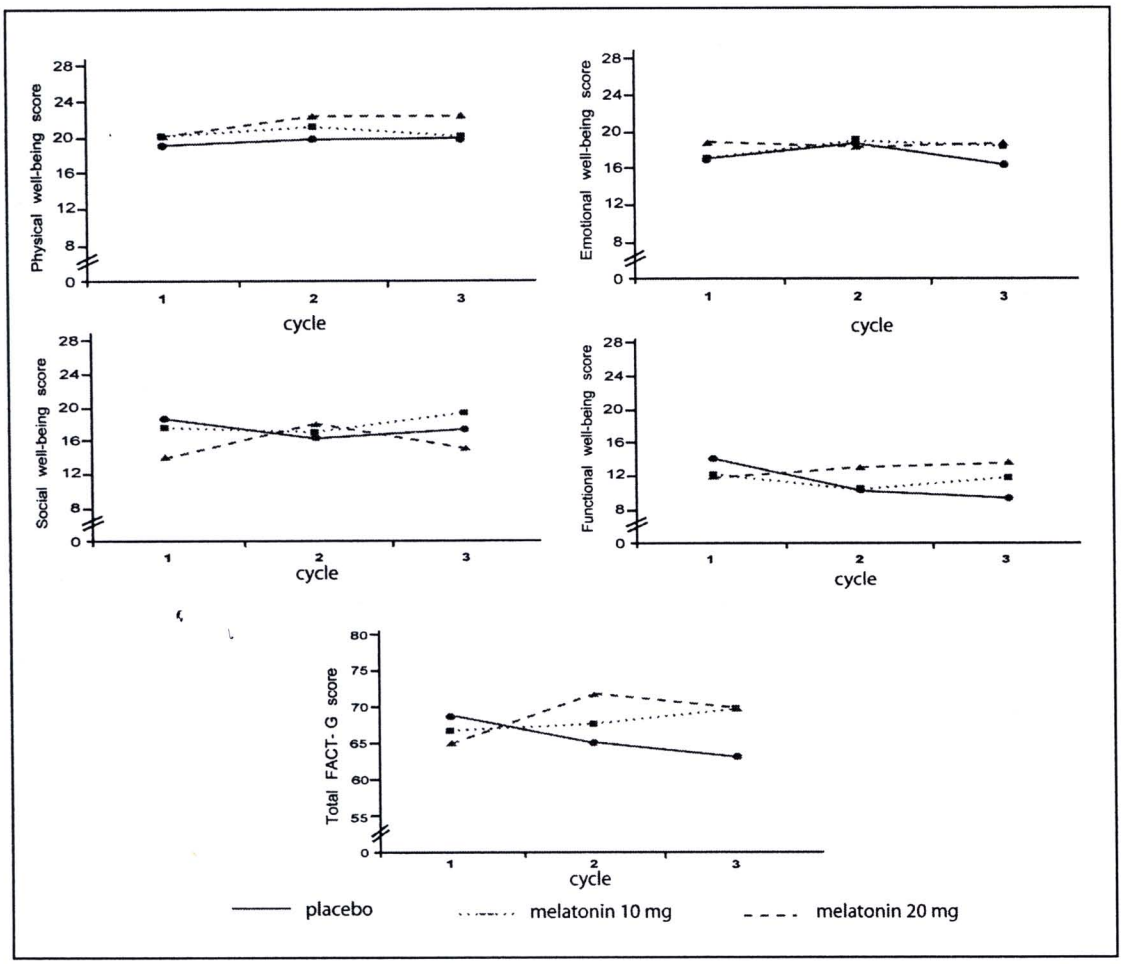
* Report of adverse events by physician-rated CTCAE grading, except hemoglobin < 10 g/dL and weight loss > 5% where laboratory results and actual body weight were used.

ผลของเมลาโทนินต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็ง

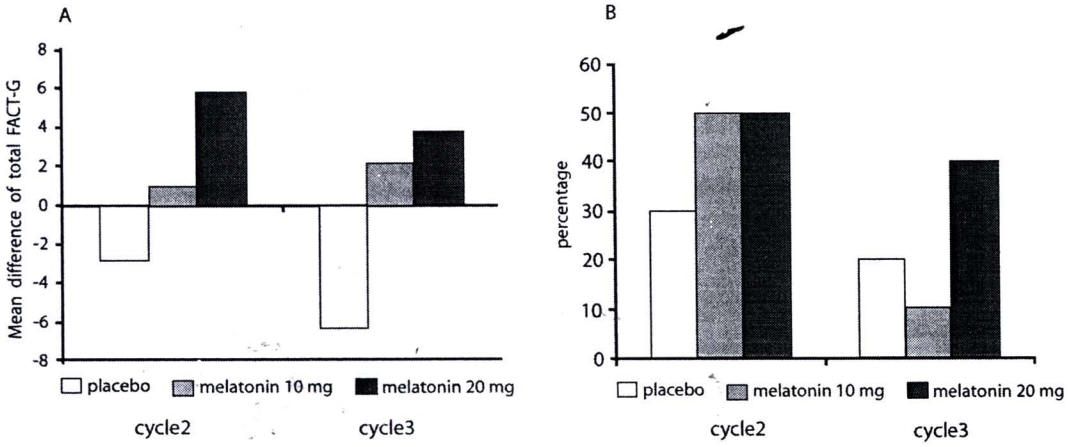
ที่เวลา 1 และ 2 เดือน หลังการรักษาผู้ป่วยในกลุ่มเมลาโทนินรายงานคะแนนคุณภาพชีวิตคงที่หรือดีขึ้น ในขณะที่พบรายงานคุณภาพชีวิตคงที่หรือแย่ลงในกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 9) โดยพบว่าหลังการรักษาที่เวลา 2 เดือน ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของคะแนนรวมคุณภาพชีวิต FACT-G ลดลง 6.3 คะแนน (95% CI; -18.5, 6.0) ในกลุ่มควบคุม แต่เพิ่มขึ้น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

ผลของเมลาโทนินต่อการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษา

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



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



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

ตารางที่ 8 คะแนนคุณภาพชีวิตที่รายงานในแต่ละคอร์สของเคมีบำบัด

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

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

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

ผลการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เมลาโทนินในพลาสมา

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

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

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

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

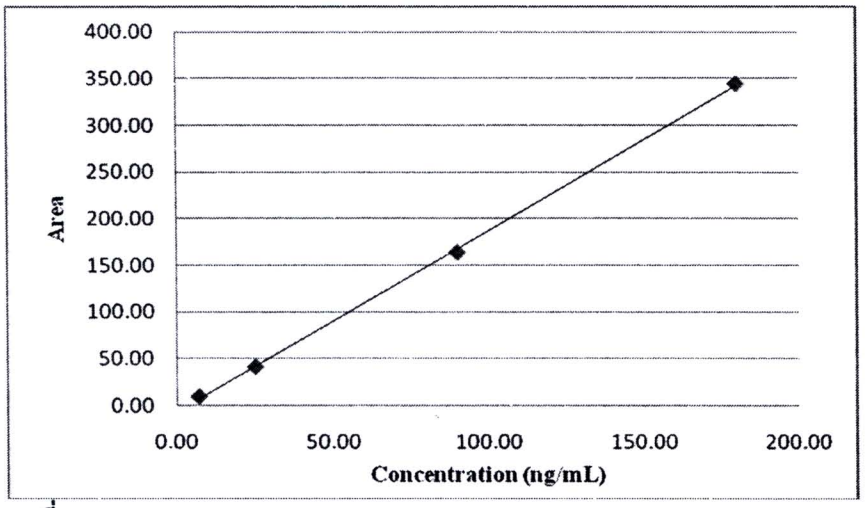
Extraction of melatonin standards in the 7.2-180 ng/mL concentration range.
The linear regression equation is Y = 1.94X-6.32, r = 0.9998; and r^2 = 0.9996.

ตารางที่ 10. Precision for the determination of melatonin standard

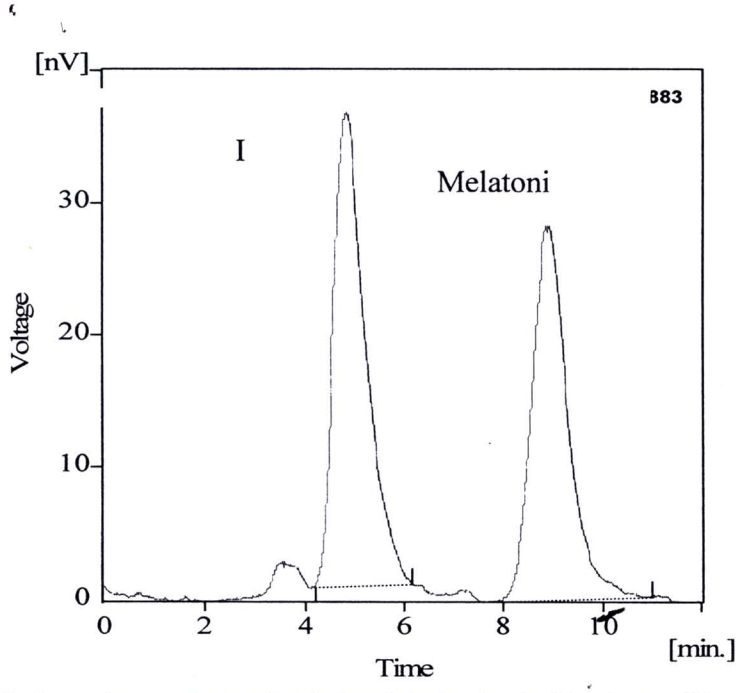
Sample	Area	Height	Rt (minutes)	Melatonin (ng/mL)
1	38.38	0.88	8.93	23.10
2	42.00	0.94	8.88	24.97
3	41.72	0.89	8.89	24.82
4	38.61	0.87	8.94	23.22
5	39.39	0.84	8.93	23.62
%CV	4.31	4.40	0.30	3.72

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

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



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



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

ผลของระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลาย

แม้ว่าจะได้วิธีการวิเคราะห์ระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลายแล้ว นักวิจัยยังไม่ได้วัดระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลายในตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วย เนื่องจากไม่มีงบประมาณเพียงพอ ส่วนหนึ่งเนื่องจากใช้งบประมาณไปกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ ประกอบกับงบประมาณในส่วนการศึกษาทางคลินิกและการวิเคราะห์ระดับความเครียดออกซิเดชันเป็นค่าใช้จ่ายที่สูงกว่าที่กำหนดไว้ในเบื้องต้น จึงยังไม่สามารถวิเคราะห์วัดระดับเมลาโทนินในพลาสมาและน้ำลายในตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วยได้ในขณะนี้