

ข้อเสนอแนะเพื่อแก้ไข	ส่วนที่ดำเนินการแก้ไข
● บทความควรมีข้อมูลเชิงปริมาณของผลการทดลองที่วัดได้ด้วย ไม่ใช่มีแต่คำบรรยายเชิงพรรณนาเท่านั้น	● ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้าของบทคัดย่อ
● ชื่อเรื่องภาษาไทย anthraquinones → anthraquinones และชื่อเรื่องภาษาอังกฤษ Cassia alata Linn. Via → Cassia alata Linn. Via	● ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้าปก Anti-inflammatory effects of rhein anthraquinones and crude extracts from <i>Cassia alata</i> Linn. via inhibition of NADPH oxidases (NOX1) in HaCaT cells.
● ตำแหน่งทางวิชาการของหัวหน้าโครงการและผู้ร่วมวิจัย ในหน้าปกและบทคัดย่อ ควรใช้ตัวเต็มไม่ควรใช้ตัวย่อ	● ดำเนินการแก้ไขแล้วในส่วนของหน้าปกและบทคัดย่อ ญ.อ.ดร.นุชจิรา พงศ์นิมิตประเสริฐ Dr. Nushjira Pongnimitprasert รองศาสตราจารย์ ดร.ฉัตรชัย ฉันทพิศาล Associate Professor Dr. Chatchai Chinpaisal รองศาสตราจารย์ ดร.เพ็ญพรรณ เวชวิทย์กุล Associate Professor Dr. Penpan Wetwitayaklung ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มัลลย์ สติรพันธุ์ Assistant Professor Dr. Malai Satiraphan
● การสรุปและอภิปรายผลการทดลอง 4.1) การสรุปผลการทดลองของสารสกัดชุมเห็ดเทศ ที่กล่าวว่า “ถ้าดูจากผลการวิจัยเห็นว่า %rhein ในสารสกัด ประมาณ 0.12% w/w ฉะนั้นแทนที่สารสกัดชุมเห็ดเทศออกฤทธิ์ลดการเกิด ROS ได้ใน conc. ที่ต่ำ (และมี rhein% ต่ำด้วย) แสดงว่าน่าจะมีสารอื่นๆ ในสารสกัดรอบนี้ก็มีผลต่อ ROS เหมือนกัน 4.2) ROS และ cell viability คณะผู้วิจัยได้อภิปรายผลการวิจัยว่าทำไมมีความเข้มข้น 0.05 และ 0.1%	● ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 28 ● จากการศึกษาจะเห็นได้ว่า rhein ที่เป็นสารมาตรฐานและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีแนวโน้มที่จะสามารถลดการอักเสบได้ โดยที่ค่า TNF-α และ IL-8 ลดลง อันเป็นผลจากลดการเกิด ROS โดยที่สารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีศักยภาพในการลด TNF-α และ IL-8 ได้ค่อนข้างดีกว่าเมื่อเทียบกับ rhein ที่เป็นสารมาตรฐาน ทั้งนี้ผลที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากสารชนิดอื่นในสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่นอกเหนือจาก rhein ที่ส่งผลต่อการเกิด ROS และลดการอักเสบ ● ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 26

w/v (เทียบเท่ากับ 2.15 และ 4.31 μM rhein ทำให้เซลล์ตายค่อนข้างมาก ควรให้เหตุผลในกรณีนี้ว่าเกิด (น่าจะเป็น) จากสาเหตุใดบ้าง มิใช่ระบุเพียงเพิ่มขึ้น/ลดลง

4.3) สำหรับการหาผลของ rhein และสารสกัดจากชุมเห็ดเทศในการยับยั้ง NADPH-oxidases ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการทำให้เกิด ROS คณะผู้วิจัยไม่สามารถดำเนินการทดลองให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยได้ ซึ่งประเด็นนี้คณะผู้วิจัยได้อ้างว่า “เนื่องจากทั้ง rhein anthraquinone และสารสกัดจากชุมเห็ดเทศไม่สามารถเลี้ยงใน HaCaT cells ได้ในระยะเวลาแบบข้ามคืน ซึ่งในการศึกษาระดับโมเลกุลต้องใช้การเลี้ยงเซลล์เป็นเวลานานเพื่อให้มีการสร้างโปรตีน” จากประเด็นข้างต้นไม่เข้าใจคำว่า “เลี้ยง” “ไม่สามารถเลี้ยงใน HaCaT cells” ไม่เข้าใจว่าคณะผู้วิจัยต้องการสื่อหรือใช้คำ “incubate” หรือ “incubation” หรือ “บ่ม” สารดังกล่าวใน HaCaT cells หรือไม่อย่างไร แล้วดูผล/ติดตามผลการสังเคราะห์/สร้าง/ผลิตโปรตีนที่ต้องการให้เซลล์ HaCaT cells นั้นสร้างใช้หรือไม่ และในหน้า 36 คณะผู้วิจัยได้อ้างว่าไม่ได้มีการทำ pilot study ล่วงหน้าก่อน ทำให้ขั้นตอนการทำวิจัยบางส่วนไม่สามารถทำได้ นั่นคือ ไม่สามารถทำการศึกษาทดลองในระดับลึกถึงโมเลกุลได้ เนื่องจาก.....” หมายความว่าคณะผู้วิจัยยังไม่มีความพร้อมที่จะ

- สำหรับในความเข้มข้นที่มากกว่า 0.01% (0.05, 0.1, 0.3%) จะพบการตายของเซลล์เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดจากชุมเห็ดเทศนั้นประกอบไปด้วยสารชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่ rhein เพียงอย่างเดียว ที่อาจส่งผลต่อ cell viability ของเซลล์ได้
- ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 27-28
- สำหรับการหาผลของ rhein และสารสกัดจากชุมเห็ดเทศในการยับยั้ง NADPH-oxidases ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการทำให้เกิด ROS ไม่สามารถดำเนินการทดลองให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยได้ เนื่องจากหลังการใส่สารทดสอบ rhein anthraquinone และสารสกัดจากชุมเห็ด แล้วทำการบ่มใน CO2 incubator เป็นเวลา 5, 18 และ 24 ชม. พบว่า HaCaT cells มีการตายเป็นจำนวนมาก ซึ่งในการศึกษาระดับโมเลกุลต้องใช้การบ่มเซลล์เป็นเวลานานเพื่อให้มีการสร้างโปรตีน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสามารถดูฤทธิ์ด้านการอักเสบของ rhein anthraquinone ที่มีผลต่อ HaCaT cells และเปรียบเทียบฤทธิ์กับสารสกัดจากชุมเห็ดเทศผ่านการลดการเกิด ROS, TNF- α และ IL-8 บน HaCaT cells
- จากการศึกษาจะเห็นได้ว่า rhein ที่เป็นสารมาตรฐานและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีแนวโน้มที่จะสามารถลดการอักเสบได้ โดยที่ค่า TNF- α และ IL-8 ลดลง อันเป็นผลจากการลดการเกิด ROS โดยที่สารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีศักยภาพในการลด TNF- α และ IL-8 ได้ค่อนข้างดีกว่าเมื่อเทียบกับ rhein ที่เป็นสารมาตรฐาน ทั้งนี้ผลที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากสารชนิดอื่นในสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่นอกเหนือจาก rhein ที่ส่งผลต่อการเกิด ROS และลดการอักเสบ
- ขั้นตอนการทำวิจัยบางส่วนไม่สามารถทำได้ในระดับลึกถึงโมเลกุล เนื่องจากทั้ง rhein anthraquinone และสารสกัดจากชุมเห็ดเทศไม่สามารถบ่มใน HaCaT cells ได้ในระยะเวลาที่พอที่จะทำให้เซลล์สามารถสร้างโปรตีน โดยพบการตายของเซลล์เป็นจำนวนมากหลังบ่มเซลล์เป็นเวลานาน 5, 18, 24 ชม. ทั้งนี้ในการค้นหาข้อมูลเบื้องต้นจากการศึกษาของ Heo et al., 2010 และคณะ (Emodin and rhein inhibit LIGHT-induced monocytes migration by blocking of ROS production) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับ NOX ที่สัมพันธ์กับ ROS โดยการใช้เซลล์ THP-1 (monocyte-like cell line) คณะผู้วิจัยได้ใช้ข้อมูลดังกล่าวมาเป็นแนวทางสำหรับการศึกษาในเซลล์ผิวหนัง HaCaT cells ซึ่งยังไม่มีข้อมูลในการใช้เซลล์นี้กับสารทดสอบของคณะผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาและคณะผู้วิจัยไม่เคยมีเซลล์นี้มาก่อน ดังนั้นการทำ pilot study อาจไม่สามารถดำเนินการได้ ทำให้นักศึกษานี้จึงสามารถดูฤทธิ์ด้านการอักเสบของ rhein anthraquinone ที่มีต่อ HaCaT cells และเปรียบเทียบฤทธิ์กับ

ทำงานวิจัยในด้าน Molecular Biology และ cellular responses ของ animal cell (line) ต่อการตอบสนองต่อสารสำคัญ หรือ ตัวยา รวมทั้งความไม่พร้อม/อุปสรรคในเรื่องการบริหารจัดการดังที่คณะผู้วิจัยได้กล่าวถึงในบทที่ 5 (สรุปผลการวิจัย/ข้อเสนอแนะ) 4.4) ควรแสดง/ใส่ข้อมูลผลการทดลอง cell viability ที่ vary parameters ต่างๆ เช่น เวลา (p.27), ROS ที่ vary NaOH, HBSS (p.29 และ p.30) เพื่อให้รายงานการวิจัยสมบูรณ์มากขึ้น 4.4) ควรใช้โปรแกรมสถิติที่เหมาะสม วิเคราะห์ข้อมูลให้ถูกต้อง แม่นยำกว่านี้ การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย unpaired t-test (p.21) น่าจะไม่เหมาะสม เพราะมีการเปรียบเทียบที่หลายกลุ่ม (>2) เช่น รูปที่ 5 (p.22) มี 4 กลุ่ม คือ 1 hr, 2 hr, 3 hr และ 4 hr การเปรียบเทียบแบบนี้ควรใช้เทคนิคสถิติแบบ ANOVA 4.5) การวิเคราะห์ทางสถิติและการแสดงผลในรูปแบบต่างๆ ค่า p-value ควรละเอียดมากกว่านี้ เช่น มีได้ทั้ง $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$ etc. การแสดงผลในทุกๆ รูป จะระบุว่า sig difference from control ที่ $p < 0.05$ แต่จากข้อมูล ระดับ sig difference น่าจะมีหลายระดับมากกว่าเพียงแค่ $p < 0.05$	สารสกัดจากชุมเห็ดเทศผ่านการลดการเกิด ROS, TNF-α และ IL-8 บน HaCaT cells ซึ่งเป็นเซลล์ผิวหนังประเภท keratinocytes - ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 15-16;18-19 - ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 14 - ผลการทดลองนำเสนอในรูปแบบ Mean$\pm$SD โดยมีค่า n=3 โดยในแต่ละ n จะทำเป็น triplicate ค่าทางสถิติคำนวณโดย one-way ANOVA และมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ - ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 15-25
หน้าที่ 12, 35 และ 36 ไม่เข้าใจความหมาย “เนื่องจากทั้ง rhein anthraquinone และสารสกัดจากชุมเห็ดเทศไม่สามารถเลี้ยงใน HaCaT cells ได้ใน	คำตอบอยู่ในข้อ 4.3

ระยะเวลานานแบบข้ามคืน (overnight)....เพื่อให้มีการสร้างโปรตีน	
• ขาดผลการทดลอง TNF-α และผลของ GSH	• แสดงผลของ TNF-α ในหน้าที่ 22-23 • สำหรับผลของ GSH ยังไม่สามารถดำเนินการได้ • GSH ถือเป็นกลไกที่สำคัญในการต่อต้านการถูกทำลายจากอนุมูลอิสระในพยาธิสภาพต่างๆของการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา lipid peroxidation อันเนื่องมาจาก ROS ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุสำคัญในการทำลายและเกิดการบาดเจ็บที่เซลล์เมมเบรน เนื่องจาก PUFA ของเซลล์เมมเบรนจะถูกทำให้แตกโดยกระบวนการที่ไปทำลายความสมบูรณ์แข็งแรงของเมมเบรน (Zhao 2011) ในการศึกษาี้ยังไม่สามารถได้ผลของ GSH ณ ขณะนี้ เนื่องจากสภาวะของการทดลองและวิธีการยังไม่เหมาะสม ประกอบกับเกิดปัญหาในการใช้งานของ microplate reader ณ ขณะนี้
• ปรับปรุงการอ้างอิงใหม่ทั้งในเนื้อหาในบรรณานุกรม เนื่องจากไม่มีความสม่ำเสมอในการอ้างอิง ปรับรูปแบบของบรรณานุกรมให้เป็นสากล เพราะในงานวิจัยนี้เป็นเอกสารอ้างอิง (Reference) ไม่ใช่บรรณานุกรม • ตัวอย่างเช่น การอ้างอิงในเนื้อหา ควรเป็น (ผู้แต่ง, ปีพิมพ์, เลขหน้า) บรรณานุกรม – หนังสือ : ผู้แต่ง. ชื่อเรื่อง. จำนวนเล่ม. ครั้งที่พิมพ์. สถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์, ปีพิมพ์. - บทความในวารสาร : ผู้เขียนบทความ. "ชื่อบทความ." ชื่อวารสาร ปีที่, ฉบับที่ (ปีพิมพ์): เลขหน้า. • ตรวจสอบ format ของการอ้างอิงในส่วนเนื้อหา เช่น ในหน้าที่ 9, 20 เป็นต้น ปี ค.ศ. ไม่ตรงกัน เช่น Lands 2000 (p.9) กับ Lands 2007 (p.41 ใน list of reference)	• ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 3-8; 11-13; 26-27; 29-32

● การอ้างหน้าในบรรณานุกรมคละกันไปคนละรูปแบบ จำนวนหน้าจะอ้างเป็นตัวท้าย เช่น 1334-48 ไม่ใช่ 1339-1348 เป็นต้น	
● ชื่อ Journal จะใช้เป็นตัวย่อหรือตัวเต็มต้องให้ เหมือนกันทั้งเล่ม ชื่อวารสารไม่ถูกต้อง (Panichayupakaranant P, Intaraksa N. ในหน้า 42)	● ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 3-8; 11-13; 26-27; 29-32
● ตรวจพิสูจน์อักษร มีการสะกดคำผิดหลายแห่ง เช่น p.9 ปราคานต์→ปราคาร p.12, p.3 โปนติน→โปรติน p.22, 24, 27 คำว่า เปอร์เซ็น→ร้อยละ หรือ เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น และการเขียนศัพท์เทคนิค ภาษาไทย-อังกฤษ หากมีการวงเล็บใช้ครั้งแรกครั้ง เดียว ครั้งต่อไปไม่จำเป็นต้องวงเล็บทุกครั้ง	● ดำเนินการแก้ไขแล้วในหน้า 3, 5-9, 15-16, 18-21