

Thesis Title Responses of Clara Cells in Respiratory Airway of Rat
after Exposure to Different Levels of Hyperoxia

Author Mr. Kittikorn Phomchan

Degree Master of Science (Anatomy)

Thesis Advisory Committee Dr. Vipavadee Chaisuksunt Chairperson

Assoc. Prof. Kledkaew Danvivathana Member

Asst. Prof. Wiwat Wangpreedalertkul Member

ABSTRACT

The purposes of this experiment are to investigate the effect of hyperoxia on the morphology and secretory function of rat Clara cells and to compare the responses of Clara cells following the treatment of high concentrations of oxygen at different doses and exposure times. The study was done in male Sprague-Dawley rats which were divided into 3 groups; the control group, lethal group (100% O₂), and sublethal group (60% O₂). The lethal dose group was subdivided into 4 groups for the exposure times of 6, 12, 24 and 72 hours. The sublethal dose group was subdivided into 6 groups for the exposure times of 6, 12, 24, 72 hours, 5 days and 7 days. For the control group, the animals were arranged into the same condition as the treated group's but omitted

the exposure to O₂. The lung tissue from each group was processed for both paraffin and semi-thin sections for light microscopic observation on Clara cells morphology. The production of the secretory protein of Clara cells, CC10, was investigated by immunohistochemical method. The result showed that there were no remarkable change in morphology of Clara cells in both lethal groups and sublethal groups in 6, 12, and 24 hours after exposure to hyperoxia. At the exposure time 72 hours, the Clara cells were high columnar and slim, and apical cytoplasm was puffy in the lethal dose group, but the Clara cells were became cuboidal to low cuboidal in sublethal dose group. Moreover, the CC10 immunoreactivity in Clara cells in the lethal dose group seemed to be increased in all exposure time except 24 hours. Slightly different between lethal and sublethal dose group, the CC10 immunoreactivity was strong in all exposure time except 72 hours. The comparison of CC10 immunoreactivity between sublethal dose group and lethal dose group as the same period of exposure time showed significantly statistic differences. As compared, the CC10 immunoreactivity of lethal dose group was stronger than sublethal dose group except at 24 hours exposure time the immunoreactivity of lethal dose group was less than sublethal dose group. According to the present result, it suggests that following exposure to 60% O₂, cellular tolerance of Clara cells to the inflammation caused by this oxidant gas might be developed. On the other hand, the treatment with 100% O₂ causes more detrimental effect to Clara cells. Nonetheless, a response of Clara cells in response to hyperoxia exposure, both at lethal and sublethal doses, was to the increase in CC10 secretion. This response may support the role in anti-inflammation of CC10 protein.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตอบสนองของเซลล์คลาราในทางเดินหายใจของหนูหลังจาก
สัมผัสภาวะออกซิเจนที่มีความเข้มข้นสูงในระดับต่าง ๆ

ชื่อผู้เขียน นายกิตติกร พรหมจันทร์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร. วิภาวดี ชัยสุขสันต์ ประธานกรรมการ
รศ. เกียรติแก้ว ดำเนินวิวัฒน์ กรรมการ
ศศ. วิวัฒน์ หวังปรีดาเลิศกุล กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของภาวะ hyperoxia ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และหน้าที่ในการคัดหลั่งสารของเซลล์คลาราของหนู และเพื่อเปรียบเทียบผลการตอบสนองของเซลล์คลาราภายหลังสัมผัสกับออกซิเจนที่มีความเข้มข้นสูงในระดับ และเวลาที่แตกต่างกัน การศึกษาทำในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley โดยแบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่สัมผัสออกซิเจนระดับ lethal (ความเข้มข้นของออกซิเจน 100%) และกลุ่มที่สัมผัสในระดับ sublethal (ความเข้มข้นของออกซิเจน 60%) กลุ่มที่สัมผัสออกซิเจนระดับ lethal แบ่งกลุ่มย่อยตามระยะเวลา เป็น 6, 12, 24 และ 72 ชั่วโมง สำหรับกลุ่มที่สัมผัสออกซิเจนระดับ sublethal แบ่งกลุ่มย่อยตามระยะเวลาเป็น 6, 12, 24, 72 ชั่วโมง, 5 วัน และ 7 วัน สำหรับหนูกลุ่มควบคุมจัดให้อยู่ในสภาพแวดล้อมเดียวกับกลุ่มทดลองเพียงแต่ไม่ให้ออกซิเจนเพิ่ม หลังจากครบตามระยะเวลาสัมผัสกับออกซิเจน เนื้อเยื่อปอดของหนูแต่ละกลุ่มจะถูกนำเข้าสู่กระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อสำหรับ paraffin section และ semi-thin section แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์คลารา การตรวจสอบโปรตีน CC10 ที่เซลล์คลาราผลิตออกมาใช้วิธีการทาง immunohistochemistry ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐาน

วิทยาของเซลล์คลาราของทั้งกลุ่ม lethal และ กลุ่ม sublethal ภายหลังจากได้รับออกซิเจน เป็นระยะเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมงไม่เด่นชัด การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้อย่างชัดเจนปรากฏในระยะเวลา 72 ชั่วโมง ของในหนูกลุ่ม lethal และ sublethal ซึ่งเซลล์คลาราในหนูกลุ่ม lethal จะยึดตัวขึ้นจนมีลักษณะเป็นรูปแท่ง (columnar) ทรงสูงและพอม บริเวณยอดเซลล์บวม ส่วนในกลุ่ม sublethal นั้น เซลล์คลารามีรูปร่างเตี้ยลงจนเกือบเป็นรูปลูกบาศก์ (cuboid) นอกจากนี้ ผลทาง immunoreactivity ของ CC10 ที่ปรากฏในเซลล์คลาราของหนูกลุ่ม lethal นั้นเพิ่มขึ้นเกือบทุกกลุ่มย่อยยกเว้นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม lethal และ sublethal พบว่ามีความแตกต่างเพียงเล็กน้อย โดย immunoreactivity ของ CC10 ของกลุ่ม sublethal จะเข้มเกือบทุกกลุ่มยกเว้นในกลุ่มระยะเวลา 72 ชั่วโมง และจากการเปรียบเทียบ immunoreactivity ของ CC10 ระหว่างกลุ่ม lethal และ sublethal ในช่วงระยะเวลาที่สัมผัสออกซิเจนเท่า ๆ กันพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่ม lethal มีความเข้มของ immunoreactivity ของ CC10 มากกว่ากลุ่ม sublethal ยกเว้นในช่วงเวลาหลังสัมผัสออกซิเจนที่ 24 ชั่วโมง ที่กลุ่ม lethal จะมีความเข้มของ immunoreactivity ของ CC10 น้อยกว่าในกลุ่ม sublethal จากผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าภายหลังจากที่หนูสัมผัสออกซิเจนที่ความเข้มข้น 60% เซลล์คลารามีการปรับตัวให้มีความทนทานต่อภาวะอักเสบที่เกิดจาก oxidant gas ขณะที่การสัมผัสกับออกซิเจนที่ความเข้มข้น 100% เป็นสาเหตุให้เกิดอันตรายขึ้นต่อเซลล์คลาราที่รุนแรงกว่า อย่างไรก็ตามไม่ว่าจะเป็นความเข้มข้นของออกซิเจนระดับ lethal หรือ sublethal ต่างมีผลทำให้เกิดการคัดหลั่งสาร CC10 จากเซลล์คลาราเพิ่มขึ้น ซึ่งการตอบสนองนี้เป็นการสนับสนุนบทบาทของโปรตีน CC10 ที่ช่วยในการต้านการอักเสบ