

التغيرات النسجية المستحدثة بمادة كلوتامات احادي الصوديوم على نمو وتطور القرنية في مواليد الفئران البيض

ماجدة نوري ابراهيم¹ ، سميرة عبد الحسين عبدالله²

¹قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة كركوك ، كركوك ، العراق

²كلية الطب ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

تتضمن الدراسة الحالية التحري عن تأثير الجرعات المختلفة من مادة كلوتامات احادي الصوديوم (MSG) على إحداث التغيرات المرضية النسجية في قرنية مواليد الفئران للأعمار 7-15-21-30-60 يوم. جرعت الفئران الحوامل من نوع *Mus musculus* فموياً بمحلول حاوي على (MSG) وبتراكيز 2-4-8 غم/كغم من وزن الجسم بواسطة انبوبة المعدة بدءاً من اليوم السابع عشر من الحمل. اظهرت الفحوصات المجهرية عدم وجود تغيرات نسجية في القرنية لمجموعة اليوم السابع والمجرعة بتراكيز 2 و 4 غم/كغم وزن الجسم ولكن لوحظ خرب وتفكك ألياف السداة ونخر واختزال الطبقة الظهارية الأمامية للقرنية عند استخدام جرعة 8 غم/كغم. أظهرت التغيرات في مجموعة يوم 15، فرط تنسج في النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المحيطية في تركيز 2 غم. تشوه في جزء من القرنية المحيطية واختزال سمكها وتكثف مكونات السداة في تركيز 4 غم، اما عند تركيز 8 غم/كغم فقد ظهر خرب وفرط تنسج في الخلايا المولدة للألياف في سداة القرنية وتموج الغشاء القاعدي للنسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية. اما في مجموعة يوم 21 وفي تركيز 2 غم/كغم ظهر نخر وتخلخل في الألياف سداة القرنية المركزية بينما لوحظ اختزال الطبقة الظهارية الامامية للقرنية المحيطية وتموج السطح الامامي للقرنية. ظهر تشوه واختزال الطبقات وعدم انتظامها مع تفكك في الألياف السداة في بعض المناطق في تركيز 4 غم/كغم، بينما في تركيز 8 غم/كغم ظهر تلف في جزء من النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية. اما في مجموعة يوم 30 لوحظ نخر وانتفاخ في بعض خلايا النسيج الظهاري الأمامي وتكثف انوية النسيج الظهاري البطاني وتقرن سطح القرنية واستسقاء في السداة عند التجريح بتركيز 2 غم/كغم، بينما في تركيز 4 غم/كغم، ظهر انتفاخ في سداة القرنية المحيطية وفرط تنسج في الخلايا المولدة للألياف، اما في تركيز 8 غم/كغم ظهر نخر تحت النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية وتفكك واسع في ألياف السداة. اما مجموعة يوم 60 وفي تركيز 2 غم/كغم فقد ظهر تلف في النسيج الظهاري الأمامي في القرنية المحيطية وفرط تنسج في بعض اجزاء النسيج الظهاري الأمامي في القرنية المركزية. بينما لوحظ تلف في بعض ألياف سداة مع انفصال النسيج البطاني واختزال الخلايا المولدة للألياف في القرنية المحيطية. وظهر خرب وتلف في ألياف سداة القرنية المحيطية وانفصال النسيج الظهاري البطاني في تركيز 4 غم/كغم، اما في مجموعة 8 غم/كغم ظهر اختزال في النسيج الظهاري الأمامي في جزء معين من القرنية وخرب ألياف السداة وفرط تنسج في النسيج البطاني ونخر وظهور الطبقة المنكثفة على سطح النسيج الظهاري الأمامي.

المقدمة

ومنها؛ تنظيم التعبير الجين، الاشارات الخلوية Cell signaling، الاستجابات المضادة للاكسدة Antioxidative responses والمناعة، فضلاً الى ان الكلوتامات هي وقود الايض الرئيسي للامعاء الدقيقة وتُنظم مع الكلايسين Glycine وظيفه الجهاز العصبي، حيث ان 95% من الكلوتامات يتم استقلابها بواسطة خلايا الامعاء [10,11] Ali واخرون، 2012). الكلوتامات تمتص من الامعاء بواسطة جهازالنقل الفعال الخاص للاحماض الامينية، وهذه تعتمد على تركيز أيون الصوديوم [12]. الكلوتامات الزائدة تعزى اساساً الى اضطراب في توازن عملية التمثيل الغذائي للكلوتامات [13]. تشير الدراسات الى ان MSG لها تأثيرسيمي للانسان وحيوانات التجارب عند تناولها بكميات كبيرة [7]. الكلوتامات ومستقبلاتها تلعب دوراً اساسياً في العديد من الامراض العصبية وكذلك الحالة المرضية للعين [14,15,16]. وقد ثبت ان نظام تحسس الكلوتامات glutamatergic تشارك في تنظيم استثارة الدماغ في كل من الانسان [17] والحيوانات المختبرية [18]. ومن المثير للاهتمام لاحظ [19] ان الفئران الوليدة المعاملة بالMSG لديها تغير في تخطيط الدماغ EEG وردود للافعال السلوكية.

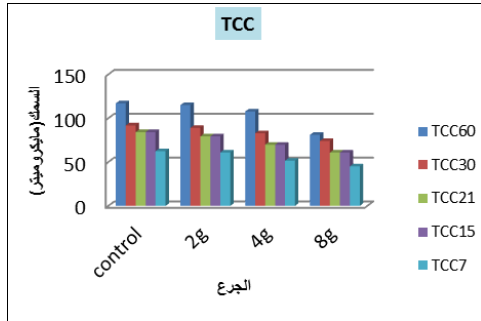
الكلوتامات احد اهم الاحماض الامينية الموجودة في الطبيعة [1]. كلوتامات أحادي الصوديوم هو ملح الصوديوم البلوري لحمامض الكلوتاميك $COONa$ $COOH(CH_2)_2$ CH NH_2 وهو من الاحماض الامينية غير الاساسية المتوفرة في الطبيعة وموجودة في معظم الاطعمة التي تحتوي على البروتين [2,3]. مصطلح MSG تقنياً يصف فقط ملح الصوديوم لحمامض الكلوتاميك والتي يتم تصنيعها لاستخدامها في الطهي لاسباب النكهة والطعم للاغذية وكذلك تستخدم كمادة حافظة [4,5]. يوجد شكلان من حامض الكلوتاميك: الشكل الحر والشكل المرتبط. الشكل الحر موجود في الكائنات العليا خارج البروتين. اما الشكل المرتبط وهو الذي يرتبط بالبيبتيدات والبروتينات. الشكل الحر مسؤول عن خاصية تعزيز النكهة للكلوتامات أحادي الصوديوم، بينما الشكل المرتبط ليس له اي تأثير على التذوق، وهو يتواجد طبيعياً في العديد من الاغذية المحتوية على البروتين مثل الجبن، الحليب، اللحم، السمك والخضراوات [6,7]. يعتبر الكلوتامات اكبر ناقل عصبي له خاصية الإثارة لخلايا الجهاز العصبي في الفقاريات عن طريق عدد من المستقبلات الموجودة على اغشية الخلايا [8,9]. تلعب الكلوتامات ادوار عديدة في وظائف الجسم [9]

(المتعادل) 10% Neutral Formalin ولمدة 48 ساعة، ثم مرت مرتين النماذج بسلسلة تصاعديّة التركيز من الكحول الايثيلي لمدة ساعتين لكل تركيز باستخدام جهاز معالج النسيج الآلي واستخدم الزيلين Xylene بمتغيرين لمدة ساعة لكل متغير لغرض الترويق ثم طمرت بشمع البارافين. قطعت العينات مقاطع متسلسلة بسمك 5.µm. استخدم ملون هيماتوكسلين- هاريس والايوسين اعتماداً على [27,26]. ولونت المقاطع النسيجية وفق طريقة [28] واستخدم DPX لغرض الارساء. فحصت المقاطع المجهزة باستخدام المجهر الضوئي المركب نوع Olympus, Japan. والتقطت صور فوتوغرافية للمقاطع النسيجية الملائمة باستخدام نفس المجهر المزود بكاميرا نوع Futur WinJoe.

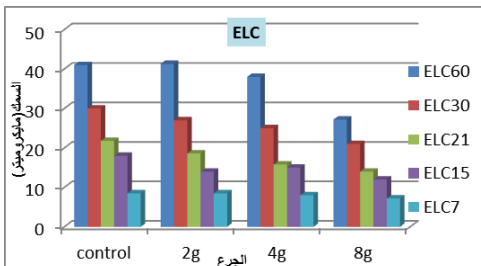
النتائج

أظهرت النتائج الأحصائية من خلال دراسة الجرعة المختلفة في الاعمار المختلفة للمجاميع بالمقارنة مع السيطرة وجود فرق معنوي ($p < 0.01$) في السمك الكلي للقرنية المركزية (TCC) Total central corneal thickness في الايام 7- 15- 30 بين التراكيز 4g و 8g، لكن في اليوم 21 سجلت معدلات قليلة بفارق معنوي وبشكل تدريجي لكل التراكيز بينما في اليوم 60 ظهر الفرق المعنوي فقط في التركيز 8g (الشكل 1).

بينما أشار الشكل (2) الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدلات السمك الكلي للقرنية المحيطية (TPC) Thickness of peripheral cornea لمجاميع الجرعة 4g و 8g للايام 7- 15- 30- 60 مقارنة مع السيطرة، بينما في اليوم الحادي والعشرين كان الانخفاض معنوياً في جميع التراكيز مقارنة مع السيطرة.



الشكل (1) تأثير الجرعة المختلفة من MSG في معدل السمك الكلي للقرنية المركزية (TCC) Thick of central cornea مقارنة بالسيطرة.



الشكل (2) تأثير الجرعة المختلفة من MSG في معدل سمك ظهارة القرنية المركزية (ELC) cornea Epithelial layer of (ELC) مقارنة مع السيطرة.

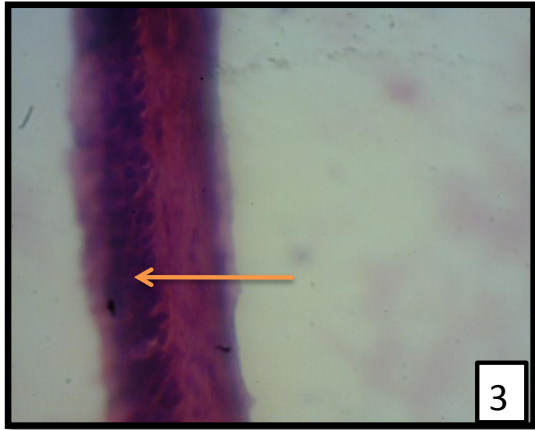
الهدف من الدراسة: دراسة وتقييم التأثيرات التطورية السمية للMSG بجرع 2, 4, 8غم/كغم من وزن الجسم يومياً على قرنية صغار الفئران الرضع عن طريق الحليب والتغيرات المرضية النسيجية فيها في الايام 7, 15, 21, 30 و 60 والمجرعة أمهاتها ابتداءً من اليوم السابع عشر من الحمل والى اليوم الحادي والعشرين بعد الولادة (يوم الفطام).

المواد و طرائق العمل

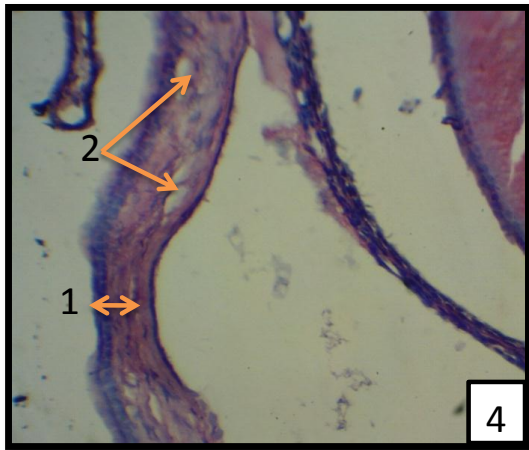
أُستخدمت في هذه الدراسة الفئران البيض (المهق) السويسرية المنتمية الى احدى سلالات فأر البيت الشائع *Mus musculus* Blab/c لاجراء التجارب، تم الحصول عليها من مركز الرقابة الدوائية في بغداد وكانت الفئران جميعها بصحة جيدة. نقلت الفئران الى غرفة في البيت ذات ابعاد 3x2.5 م أُعدت خصيصاً لتربية الفئران مزودة بساحبة هواء تعمل 24 ساعة /اليوم وذلك لضمان تبدل الهواء على نحو مستمر ومحارر جوي Thermomet لمراقبة درجة حرارة الغرفة التي كانت ضمن معدل 25م⁰، ودورة ضوئية بمعدل 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام يومياً. واعطيت الحيوانات العليقة الخاصة بتغذية الفئران. تم اختيار فئران بعمر (10-14) اسبوع لكلا الجنسين ومعدل اوزانها 25غم. وضعت الاناث المهينة للاخصاب مع الذكور بمعدل اناث عدد اثنين مع ذكر واحد في كل قفص خلال ساعات الليل وتم التأكد من حصول التزاوج في صباح اليوم التالي بملاحظة السدادة المهبلية Vaginal plug [22.21.20]. تم عزل الإناث الحوامل التي امتلكت السدادة المهبلية باقفاص منفصلة مع كتابة تاريخ التزاوج وعد يوم التزاوج هو اليوم صفر من الحمل واليوم الذي يليه هو اليوم الاول من الحمل [23 و 24].

استخدمت في هذه الدراسة مادة جلوتامات أحادي الصوديوم Monosodium Glutamate (MSG) وتسمى ايضا AJI.NO.MOTO او UMAMI او E-621 وهي بهيئة بلورات بيضاء اللون صغيرة معبئة في اكياس بلاستيكية زنة الواحدة منه 100 غرام تم الحصول عليها من الاسواق المحلية، مصنعة من قبل شركة PT AJINOMOTO INDONESIA المرخصة من شركة AJINOMOTO CO., INC., TOKYO, JAPAN. حضرت الجرعة المختلفة من مادة (MSG) بتراكيز 2-4-8غم/كغم من وزن الجسم. اعطيت الجرعة الى الفئران الحوامل بدءاً من اليوم السابع عشر من الحمل الى ما بعد الولادة الى الفطام في اليوم الحادي والعشرين [25] عن طريق الفم باستخدام انبوبة المعدة المعدنية Gavage.

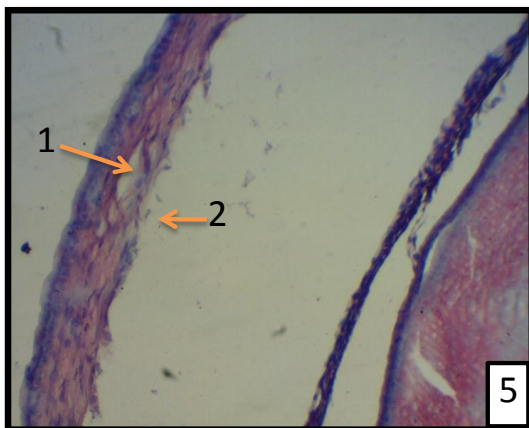
قتلت الدروس (الفئران الرضع) بعد تخديرها بوضعها في صناديق زجاجية محكمة حاوية على قطن مبلل بالكوروفورم وقطعت رؤوس الدروس بعمر سبعة ايام من منطقة العنق بوساطة مقص حاد ثم تم قطع منطقة العين من الامام والخلف بشكل مثلث واستخراجها وتثبيتها، اما الدروس بعمر 15, 21, 30 و 60 فقد قلعت عيونها بوساطة الملقط ووضعت في المثبت. تم تثبيت عيون الدروس مباشرة بعد التشريح لمجاميع السيطرة والمعاملة في مثبت الفورمالين الملقط



الصورة (3) مقطع عرضي في القرنية لعين درص عمر 15 يوما. الأم مجرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ فرط التنسج في النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المحيطة (السهم) (ملون H&E. X400).



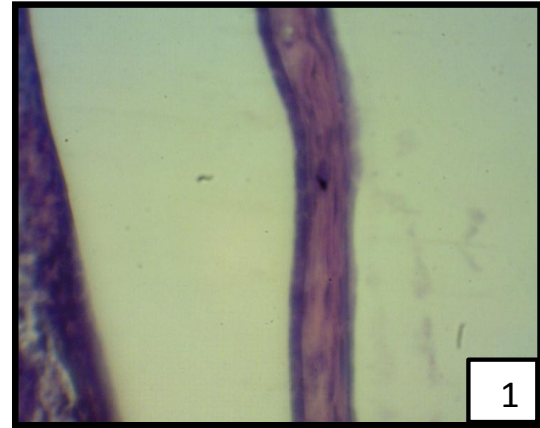
الصورة (4) مقطع عرضي في القرنية لعين درص عمر 15 يوما. الأم مجرعة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ تشوه جزء من القرنية المحيطة واختزال سمكها وتكثف مكونات السداة (1) مع وجود خبز في جزء اخر من القرنية (2) (ملون H&E. X200).



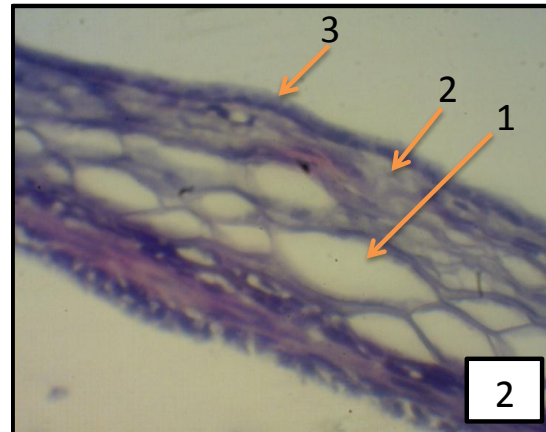
الصورة (5) مقطع عرضي في القرنية لعين درص عمر 15 يوما. الأم مجرعة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ خبز في القرنية (1) وتمزق جزء من الظهارة الداخلية للقرنية (2) (ملون H&E. X200).

اما التغيرات النسجية المرضية في القرنية ومكوناتها فقد اظهرت المقاطع النسجية التغيرات وكما يلي:

1- مجموعات اليوم السابع بعد الولادة لم يلاحظ تغيرات نسيجية في مجموعة 2 و 4غم/كغم من وزن الجسم في القرنية (الصورة:1). ولكن التغيرات ظهرت ضمن مجموعة 8غم/كغم على شكل تفكك ألياف السداة ونخر واختزال الطبقة الظهارية الأمامية للقرنية (الصورة:2).



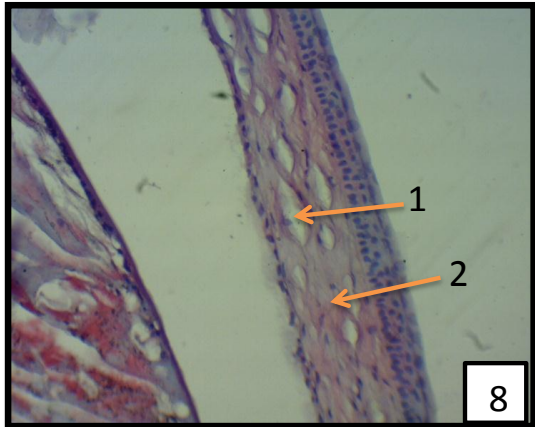
الصورة (1) مقطع عرضي في قرنية عين درص عمر 7 أيام. الأم مجرعة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ عدم حدوث تغير في القرنية (ملون H&E - X400).



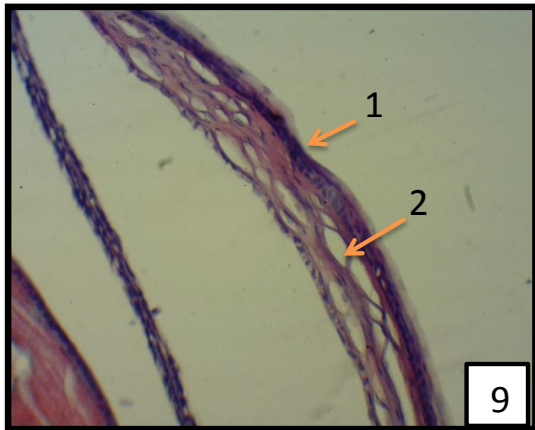
الصورة (2) مقطع عرضي للقرنية في عين درص عمر 7 أيام. الأم مجرعة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ تفكك ألياف سداة القرنية (1) ونخر (2) واختزال خلايا الطبقة الظهارية الامامية للقرنية (3) (ملون H&E. X400).

2- مجموعات اليوم الخامس عشر: فقد ظهر فرط تنسج في النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المحيطة في مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم (الصورة: 3). في مجموعة 4غم/كغم من وزن الجسم ظهر تشوه في جزء من القرنية المحيطة واختزال سمكها وتكثف مكونات السداة مع وجود خبز في جزء اخر من القرنية (الصورة: 4). وتمزق جزء من الظهارة الداخلية للقرنية (الصورة: 5). في مجموعة 8غم/كغم من وزن الجسم ظهر خبز في سداة القرنية وفرط تنسج في الخلايا المولدة للالبياف في سداة القرنية (الصورة: 6). وظهور تموج الغشاء القاعدي للنسيج الظهاري الامامي للقرنية المركزية وعدم انتظامه (الصورة: 7).

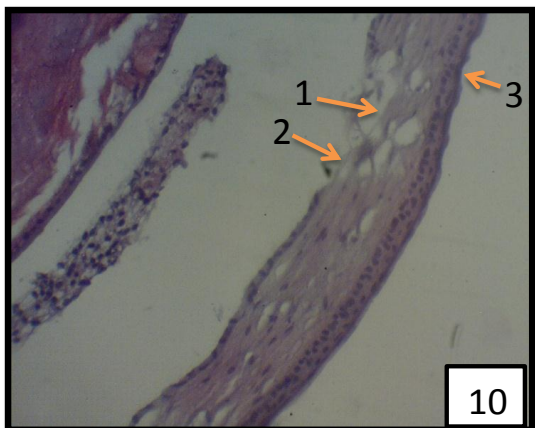
البطاني (الصورة: 14). ويظهر تكثف سطح القرنية وانتفاخ خلايا
النسيج الظهاري الامامي وتضخم الخلايا البطانية (الصورة: 15).



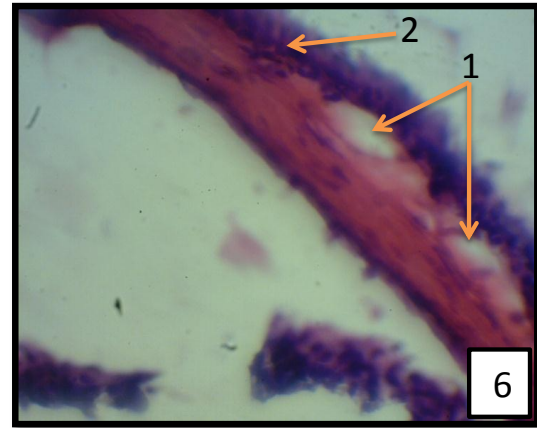
الصورة (8) مقطع عرضي في القرنية المركزية لعين درص عمر 21 يوما.
الأم مجرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ تفكك ألياف سداة القرنية المركزية (1)
مع نخر (2) (ملون H&E .X200).



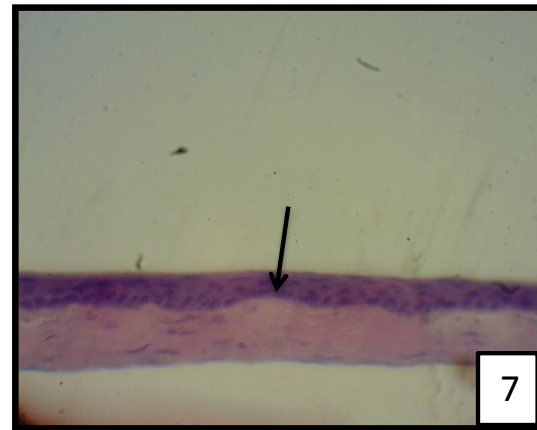
الصورة (9) مقطع عرضي في القرنية المحيطة لعين درص عمر 21 يوما.
الأم مجرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ اختزال الطبقة الظهارية الامامية
للقرنية المحيطة (1) وزيادة في تفكك السداة (2) (ملون H&E .X200).



الصورة (10) مقطع عرضي في عين درص عمر 21 يوما. الأم مجرعة ب
2غم/كغم/يوم . لاحظ نخر في جزء من سداة القرنية (1) والنسيج البطاني
الخلفي (2)، تموج السطح الامامي للقرنية (3) (ملون H&E .X200).



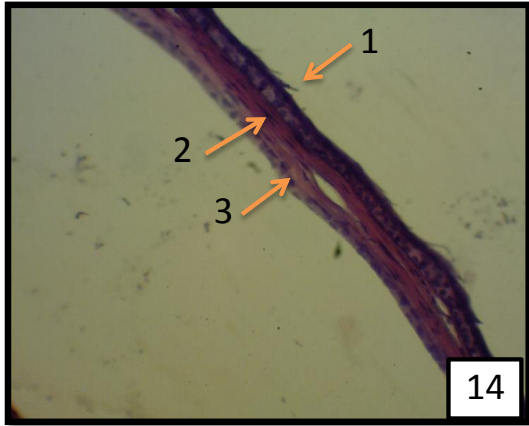
الصورة (6) مقطع عرضي في قرنية عين درص عمر 15 يوما. الأم مجرعة
ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ الخرب في سداة القرنية (1) وفرط تنسج في
الخلايا المولدة للألياف في سداة القرنية (2) (ملون H&E .X400).



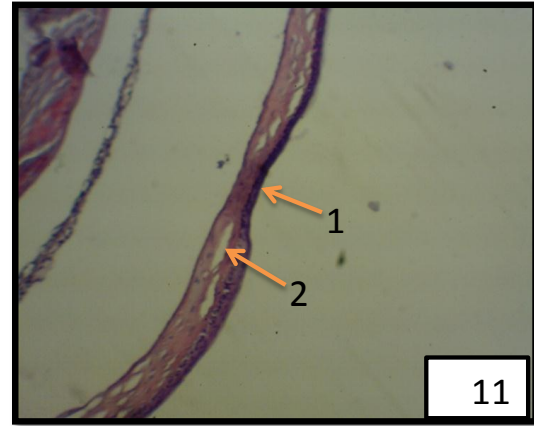
صورة (7) مقطع عرضي في القرنية المركزية لعين درص عمر 15 يوما. الأم
مجرعة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ تموج الغشاء القاعدي للنسيج الظهاري
الامامي للقرنية المركزية وعدم انتظامه (السهم) (ملون H&E .X400).

3- مجموعات اليوم الحادي والعشرين بعد الولادة

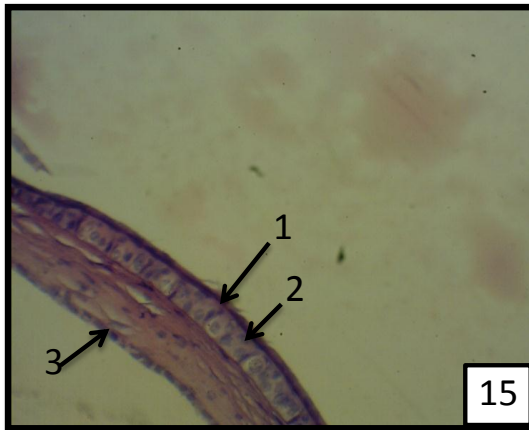
مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم تظهر نتائج هذه المجموعة تفكك
في ألياف سداة القرنية المركزية مع وجود نخر فيها (الصورة: 8).
بينما يلاحظ اختزال الطبقة الظهارية الامامية للقرنية المحيطة وزيادة
في تفكك السداة (الصورة: 9). ويظهر نخر في جزء من سداة القرنية
والنسيج البطاني الخلفي وتموج السطح الامامي للقرنية (الصورة:
10). مجموعة 4غم/كغم من وزن الجسم ظهور تشوه واختزال الطبقات
وعدم انتظامها مع تفكك في ألياف السداة في بعض المناطق (الصورة:
11). مجموعة 8غم/كغم من وزن الجسم: ظهور تلف في جزء من
النسيج الظهاري الامامي للقرنية المركزية، نخر في بعض المواقع
وتفكك في ألياف السداة مع عدم انتظام القرنية (الصورة: 12). لوحظ
ايضاً اختزال في صفوف النسيج الظهاري الامامي للقرنية المركزية
وتفكك واسع في الياف السداة (الصورة: 13). كما لوحظ عدم انتظام
في السطح الامامي للقرنية المركزية مع تقشر في هذه المنطقة ونخر
زجاجي في الياف السداة وتضخم وفرط تنسج في النسيج الظهاري



الصورة (14) مقطع عرضي في قرنية عين درص عمر 21 يوماً. الأم
مجرة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ عدم انتظام في السطح الامامي للقرنية
المركزية مع تقشر في هذه المنطقة (1) ، نخر زجاجي في ألياف السداة
(2) وتضخم وفرط تنسج في النسيج الظهاري البطاني(3)
(ملون H&E .X100).



الصورة (11) مقطع عرضي في القرنية المركزية لعين درص عمر 21 يوماً.
الأم مجرة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ تشوه في القرنية المركزية واختزال
الطبقات وعدم انتظامها (1) مع تفكك في ألياف السداة في بعض المناطق
(2) (ملون H&E .X100).

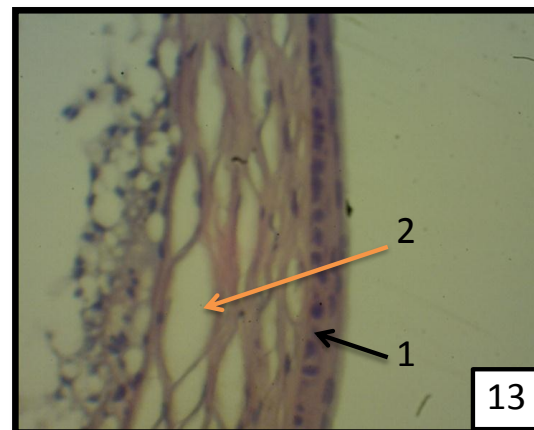


الصورة (15) مقطع عرضي في قرنية عين درص عمر 21 يوماً. الأم
مجرة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ تكثف سطح القرنية (1)، انتفاخ خلايا
النسيج الظهاري الامامي (2) وتضخم الخلايا البطاني (3)
(ملون H&E .X200).

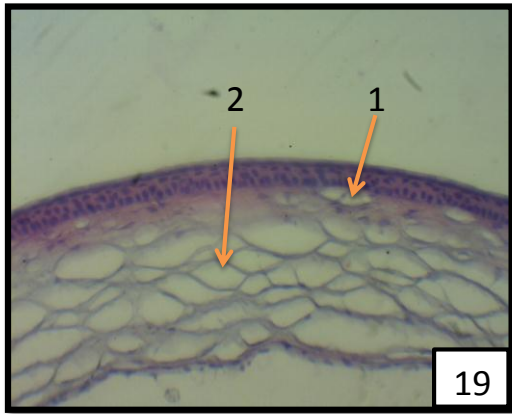


الصورة (12) مقطع عرضي في قرنية عين درص عمر 21 يوماً. الأم
مجرة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ تلف جزء من النسيج الظهاري الامامي
للقرنية المركزية (1)، نخر في بعض المواقع (2)، وتفكك في ألياف السداة
(3) وعدم انتظام القرنية (ملون H&E .X200).

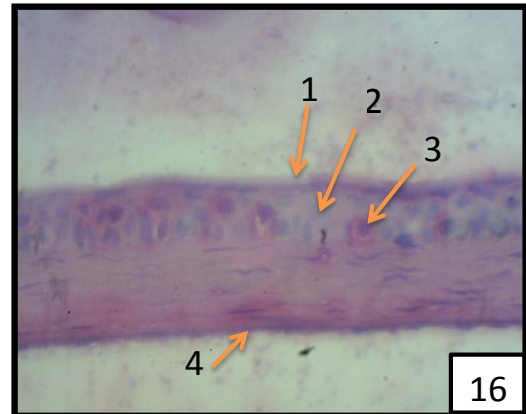
4- مجموعات اليوم الثلاثين بعد الولادة: مجموعة 2غم/كغم من وزن
الجسم القرنية لوحظ تقرن في سطح الجزء الامامي في منطقة معينة
من القرنية و نخر وانتفاخ في بعض خلايا النسيج الظهاري الامامي
وتكثف انوية النسيج الظهاري البطاني (الصورة: 16). وفي نموذج
اخر ظهر تقرن سطح القرنية و نخر بعض خلايا النسيج الظهاري
الامامي واستسقاء في السداة (الصورة: 17). اما مجموعة 4غم/كغم
من وزن الجسم اوضحت النتائج لهذه ظهور إنتفاخ في سداة القرنية
المحيطية وفرط تنسج في الخلايا المولدة للاليف (الصورة: 18).
وفي مجموعة 8غم/كغم من وزن الجسم بينت المقاطع النسجية عن
وجود نخر تحت النسيج الظهاري الامامي للقرنية المركزية وتخلخل
واسع في ألياف السداة مع اختزال حاد في الخلايا المولدة للاليف
(الصورة: 19) وتفكك في ألياف سداة القرنية المحيطية مع اختزال
السداة والنسيج الظهاري في منطقة معينة ادى الى تشوه القرنية مع
وجود نخر وتفكك في الألياف (الصورة: 20).



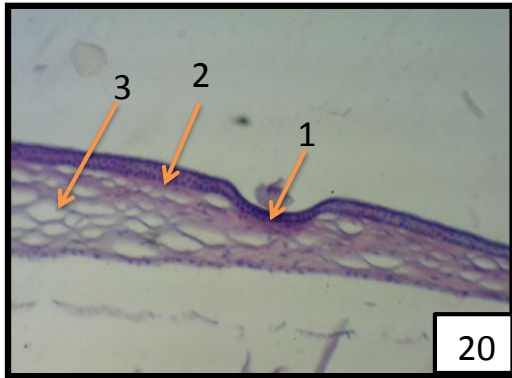
الصورة (13) مقطع عرضي في عين درص عمر 21 يوماً. الأم مجرة ب
8غم/كغم/يوم. لاحظ اختزال في صفوف النسيج الظهاري الامامي للقرنية
المركزية (1) وتفكك واسع في ألياف السداة (2) (ملون H&E .X400).



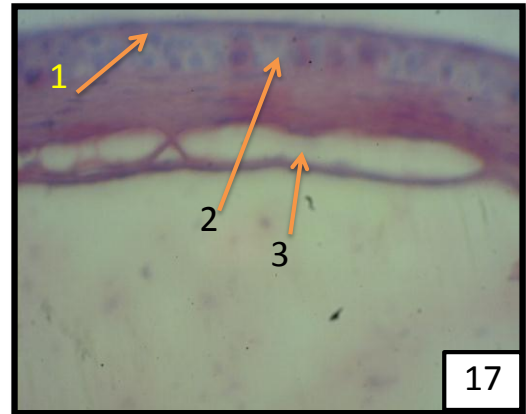
الصورة (19) مقطع عرضي في القرنية المركزية لعين فأر عمر 30 يوماً. الأم مجرعة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ نخر تحت النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية (1) وتفكك واسع في ألياف السداة (2) مع اختزال حاد في الخلايا المولدة للألياف (ملون H&E X100).



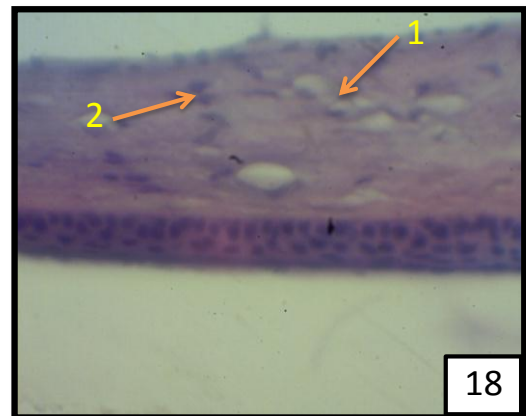
الصورة (16) مقطع عرضي في القرنية لعين فأر عمر 30 يوماً. الأم مجرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ تفرق في الجزء الأمامي في منطقة معينة من القرنية (1) نخر وانتفاخ في بعض خلايا النسيج الظهاري الأمامي (2) و (3) على التوالي، وتكثف منطقة النسيج الظهاري البطاني (4) (ملون H&E X400).



الصورة (20) مقطع عرضي في القرنية المحيطة لعين فأر عمر 30 يوماً. الأم مجرعة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ تفكك في ألياف السداة للقرنية المحيطة (1) واختزال السداة والنسيج الظهاري في منطقة معينة (2) ونخر وتفكك في الألياف (3) (ملون H&E X200).

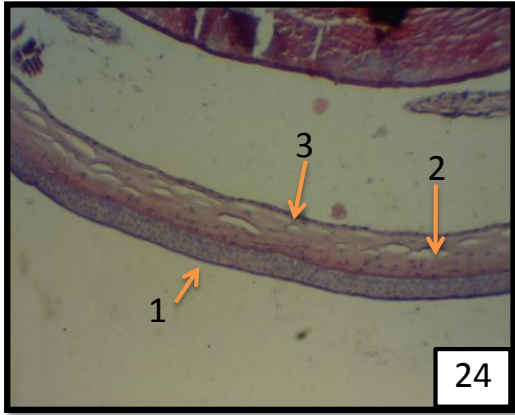


الصورة (17) مقطع عرضي في القرنية لعين فأر عمر 30 يوماً. الأم مجرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ تفرق سطح القرنية (1) نخر بعض خلايا النسيج الظهاري الأمامي (2) واستسقاء في السداة (3) (ملون H&E X400).

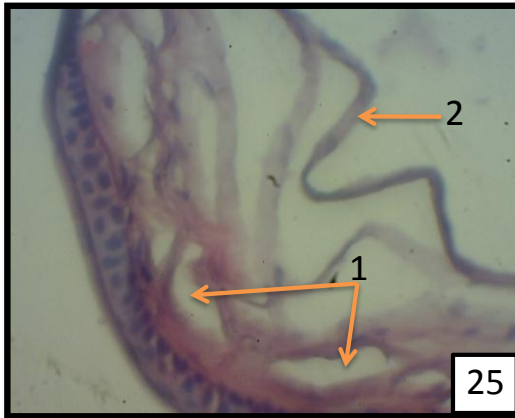


الصورة (18) مقطع عرضي في قرنية المحيطة لعين فأر عمر 30 يوماً. الأم مجرعة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ ظهور انتفاخ في سداة القرنية المحيطة (1) وفرط تنسج في الخلايا المولدة للألياف (2) (ملون H&E X400).

5- مجموعات اليوم الستين بعد الولادة: ففي مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم ظهر تلف في النسيج الظهاري الامامي في القرنية المحيطة وتفكك ألياف السداة في هذه المنطقة (الصورة 21). وظهور فرط تنسج في بعض اجزاء النسيج الظهاري الامامي في القرنية المركزية وتفكك ألياف السداة (الصورة: 22). بينما في القرنية المحيطة لوحظ نخر زجاجي في بعض ألياف سداة وتفكك كبير في الألياف مع انفصال النسيج البطاني واختزال الخلايا المولدة للألياف (الصورة: 23). وفي مجموعة 4غم/كغم من وزن الجسم كانت التغيرات المرضية في القرنية هي تكثف الحافة الأمامية واستسقاء مع تخلخل في السداة وتضخم خلايا النسيج الظهاري البطاني (الصورة: 24). وظهور تفكك وتتكس في ألياف سداة القرنية المحيطة وانفصال النسيج الظهاري البطاني (الصورة: 25). اما في مجموعة 8غم/كغم من وزن الجسم ظهرت تغيرات نسيجية مرضية واسعة في هذه المجموعة تمثلت باختزال في النسيج الظهاري الامامي في جزء معين من القرنية وتفكك ألياف السداة وفرط تنسج في النسيج البطاني (الصورة: 26). وتفكك في سداة القرنية المحيطة مع نخر وظهور



الصورة (24) مقطع عرضي في عين فأر عمر 60 يوماً. الأم جرعة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ تكثف الحافة الأمامية للقرنية (1) وتفكك في السداة (2) وتضخم خلايا النسيج الظهاري البطاني (3) (ملون H&E. X100).

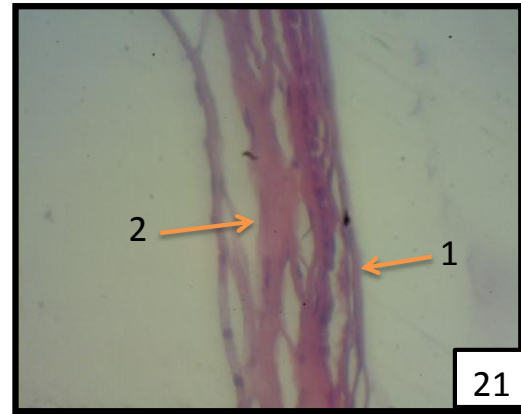


الصورة (25) مقطع عرضي في القرنية المحيطة لعين فأر عمر 60 يوماً. الأم جرعة ب 4غم/كغم/يوم. لاحظ تفكك وتتكس في ألياف سداة القرنية المحيطة (1) وانفصال النسيج الظهاري البطاني (2) (ملون H&E. X400).



الصورة (26) مقطع عرضي في قرنية عين فأر عمر 60 يوماً. الأم جرعة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ اختزال في النسيج الظهاري الأمامي للقرنية في جزء معين (1) وتخلخل ألياف السداة (2) وفرط تنسج في النسيج البطاني (3) (ملون H&E. X400).

الطبقة المتكثفة (تقرن) على سطح النسيج الظهاري الأمامي (الصورة: 27).



الصورة (21) مقطع عرضي في قرنية المحيطة لعين فأر عمر 60 يوماً. الأم جرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ تلف النسيج الظهاري الأمامي في القرنية المحيطة (1) وتفكك ألياف السداة في هذه المنطقة (2) (ملون H&E. X100).



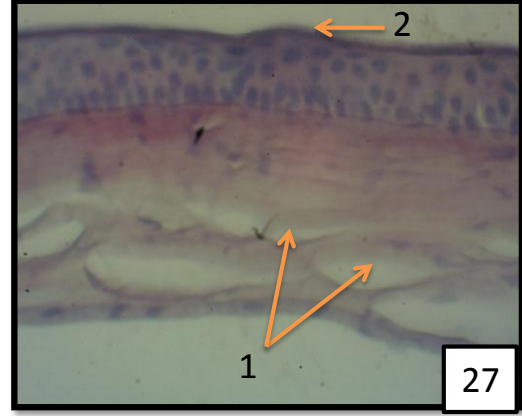
الصورة (22) مقطع عرضي في قرنية المركزية لعين فأر عمر 60 يوماً. الأم جرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ فرط تنسج في بعض اجزاء النسيج الظهاري الامامي في القرنية (1) وتفكك ألياف السداة (2) (ملون H&E. X400).



الصورة (23) مقطع عرضي في القرنية المحيطة لعين فأر عمر 60 يوماً. الأم جرعة ب 2غم/كغم/يوم. لاحظ نخر زجاجي في بعض ألياف السداة القرنية (1) وتتفكك كبير في الألياف (2) مع انفصال الخلايا البطانية (3) واختزال الخلايا المولدة للألياف في القرنية المحيطة (ملون H&E. X400).

الخلايا المولدة للألياف في سداة القرنية. وظهور تموج الغشاء القاعدي للنسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية وعدم انتظامه. في حين لوحظ اختزال في عدد صفوف الظهارة الأمامية من القرنية المحيطية وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره [32] من ان التحفيز السمي لل MSG يحدث فقط عندما يكون حاجز الدم- الدماغ blood brain barrier (BBB) ضعيفاً، كما في حديثي الولادة.

3- مجموعات اليوم الحادي والعشرين بعد الولادة: مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم تظهر نتائج هذه المجموعة تفكك في ألياف سداة القرنية المركزية مع وجود نخر فيها. بينما يلاحظ اختزال الطبقة الظهارية الأمامية للقرنية المحيطية و زيادة في تفكك السداة. وظهور نخر في جزء من سداة القرنية والنسيج البطاني الخلفي و تموج السطح الأمامي للقرنية وظهر تشوه واختزال الطبقات وعدم انتظامها مع تفكك في ألياف السداة في بعض المناطق في مجموعة 4غم/كغم وهذه تتفق مع ما لاحظته [33] من ان زيادة الكلوتامات العالية في الغذاء (-20 10%) هو المسؤول عن احداث مستويات عالية من الكلوتامات في الجهاز العصبي المركزي بضمنها العين. وظهر في مجموعة 8غم/كغم تلف في جزء من النسيج الظهاري الامامي للقرنية المركزية، نخر في بعض المواقع و تفكك في ألياف السداة مع عدم انتظام القرنية. لوحظ أيضاً اختزال في صفوف النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية و تفكك واسع في ألياف السداة. كما لوحظ عدم انتظام في السطح الأمامي للقرنية المركزية مع تقشر في هذه المنطقة ونخر زجاجي في ألياف السداة وتضخم وفرط تنسج في النسيج الظهاري البطاني. وظهور تكثف سطح القرنية وتضخم خلايا النسيج الظهاري الأمامي وتضخم الخلايا البطانية. وهذا يتفق مع ما لاحظته [34,35] من ان استخدام ال MSG يسبب نخر الخلايا العصبية في الانوية المقوسة تحت المهاد عند الجرعات العالية لجرذان حديثي الولادة. غير ان تأثيرات ال MSG واسعة ولا تقتصر على منطقة تحت المهاد. 4- مجموعات اليوم الثلاثين بعد الولادة: : مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم القرنية لوحظ تقرن في سطح الجزء الأمامي في منطقة معينة من القرنية و نخر وانتفاخ في بعض خلايا النسيج الظهاري الامامي وتكثف انوية النسيج الظهاري البطاني. وتقرن سطح القرنية ونخر بعض خلايا النسيج الظهاري الأمامي واستسقاء في السداة وهذه النتيجة تتفق مع ما لاحظته باحثون اخرون [36,37] بأن صغار الفئران والجرذان المحقونين بال MSG تُظهر تلف واضح في الخلايا غير المستقبلية للضوء في الشبكية العين. اما مجموعة 4غم/كغم من وزن الجسم اوضحت النتائج لهذه المجموعة ظهور انتفاخ في بعض ألياف سداة القرنية المركزية ونخر في الخلايا المولدة للألياف. وظهور انتفاخ في سداة القرنية المحيطية وفرط تنسج في الخلايا المولدة للألياف وهذه النتيجة متفقة مع [38,39] من ان معاملة القوارض الحديثي الولادة بالكلوتامات، او احد منتجاته تسبب تلف في مناطق الدماغ الخالية من حاجز الدم-الدماغ (BBB). حيث ان هذه المناطق الاكثر تأثراً عند التعرض للكلوتامات خصوصاً مناطق



الصورة (27) مقطع عرضي في قرنية عين فأر عمر 60 يوماً. الأم مجرعة ب 8غم/كغم/يوم. لاحظ تفكك في سداة القرنية المحيطية مع نخر (1) وظهور الطبقة المتكثفة على سطح النسيج الظهاري الأمامي (2) (ملون H&E. (X400).

المناقشة

اوضحت نتائج هذه الدراسة انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في السمك الكلي للقرنية المحيطية مقارنة مع المركزية والسيطرة في مواليد الفئران. ويعزى الانخفاض إلى انخفاض سمك كلا من الظهارة والسداة وهذه النتيجة متفقة مع ما توصل اليه [29] من ان السداة والظهارة تسهم إلى ما يقرب من الثلثين والثلث من مجموع سمك القرنية، على التوالي. اشارت النتائج الى انخفاض ($p < 0.01$) في مجاميع الايام 30-60 و 7-15 للجرع 4g-8g مقارنة مع السيطرة، بينما في اليوم الحادي والعشرين كان الانخفاض معنوياً في جميع التراكيز مقارنة مع السيطرة. علماً انه توجد نحافة في سمك القرنية المحيطية مقارنة مع القرنية المركزية وهذه النحافة ترجع الى قلة سمك السداة والطبقة الظهارية وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره الباحثين [30].

1- مجموعات اليوم السابع بعد الولادة لم يلاحظ تغيرات نسجية في مجموعة 2 و 4غم/كغم من وزن الجسم في القرنية. ولكن التغيرات ظهرت ضمن مجموعة 8غم/كغم على شكل تفكك ألياف السداة القرنية المركزية والمحيطية ونخر واختزال الطبقة الظهارية الأمامية للقرنية وهذه النتيجة مشابهة لما قام بها [31] لاطهار تأثير كلوتامات أحادي الصوديوم على القوارض البالغة، حيث حقن 1ملي مول من ال MSG داخل الجسم الزجاجي لعين الجرذان البالغة حيث لوحظ تغيرات تنكسية حادة والتي تطورت بمرحلتين : الاولى تورم كبير داخل الخلية والمرحلة الثانية تنخر وفقدان الخلايا.

2- مجموعات اليوم الخامس عشر: فقد ظهر فرط تنسج في النسيج الظهاري الامامي للقرنية المحيطية في مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم. مجموعة 4غم/كغم من وزن الجسم وظهور تشوه في جزء من القرنية المحيطية واختزال سمكها وتكثف مكونات السداة مع وجود خرب في جزء اخر من القرنية. وتمزق جزء من الظهارة الداخلية للقرنية. وتلف في بعض اجزاء القرنية المحيطية. وفي مجموعة 8غم/كغم من وزن الجسم وجد خرب في سداة القرنية وفرط تنسج في

السمية وتحسين فهم طرق التي تربط هذه العملية بعدة حالات مرضية للجهاز العصبي المركزي وان تحفيز السمية الناجمة عن علاج حديثي الولادة ب MSG ينتج تأثير مرضي في جسم البالغ، والتي يمكن ان تكون بسبب التغيرات في نفاذية حاجز الدم الدماغ او بالعكس. وفي مجموعة 4غم/كغم من وزن الجسم كانت التغيرات المرضية في القرنية هي تكثف الحافة الأمامية و استسقاء مع تفكك في السداة وتضخم خلايا النسيج الظهاري البطاني. وظهور تفكك في الياف سداة القرنية المحيطة وانفصال النسيج الظهاري البطاني وهذه تتفق ايضاً مع ما ذكره Yu [41] تعرض المفرط للصرار الحديثي الولادة لل MSG قد يؤدي إلى التحفيز الزائد وموت الخلايا العصبية خلال النمو. اما مجموعة 8غم/كغم من وزن الجسم ظهرت تغيرات نسجية مرضية واسعة في هذه المجموعة تمثلت باختزال في النسيج الظهاري الأمامي في جزء معين من القرنية وتفكك ألياف السداة وفرت تسنج في النسيج البطاني والتفكك في سداة القرنية المحيطة مع نخر وظهور تقرن على سطح النسيج الظهاري الأمامي وهذه النتيجة تتفق مع [42,43] حيث أشاروا إلى أن تناول حديثي الولادة جرعات كبيرة من MSG يمكن أن يسبب نخر الخلايا العصبية في بعض مناطق الدماغ.

التماس التي تتواجد في عدة مناطق بين بطينات المخ والسطح الخارجي للدماغ وان هذه المناطق الكثيرة الاوعية الدموية توجد خارج حاجز الدم-الدماغ. وفي مجموعة 8غم/كغم بينت المقاطع النسجية عن وجود تغيرات كبيرة على شكل نخر تحت النسيج الظهاري الأمامي للقرنية المركزية وتفكك واسع في ألياف السداة مع اختزال حاد في الخلايا المولدة للألياف. وتفكك في ألياف سداة القرنية المحيطة مع اختزال السداة والنسيج الظهاري في منطقة معينة ادى الى تشوه القرنية مع وجود نخر في الألياف وهذه النتائج تتفق مع ما اشار اليه [40] من ان اعطاء تراكيز عالية من كلوتامات خارجية المنشأ ينتج تغيرات تنكسية عصبية في النواة المقوسة لتحت المهاد في القوارض.

5- مجموعات اليوم الستين بعد الولادة: في مجموعة 2غم/كغم من وزن الجسم ظهر تلف في النسيج الظهاري الأمامي في القرنية المحيطة وتفكك الياف السداة في هذه المنطقة وظهور فرط تسنج في بعض اجزاء النسيج الظهاري الأمامي في القرنية المركزية وتفكك ألياف السداة. بينما في القرنية المحيطة لوحظ نخر زجاجي في بعض ألياف سداة وتفكك كبير في الألياف مع انفصال النسيج البطاني واختزال الخلايا المولدة للألياف وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره [8] من ان ال MSG هو محفز السمية الاكثر استخداماً لوصف عملية تحفيز

المصادر

- 1- **Abd-Allah, M.M. (2011).** Effect of monosodium glutamate on postnatal development of lateral geniculate body and visual cortex in albino rats. Unpublished PhD thesis, University of Assiut, 186 p.
- 2- **Rankin, I. (2010).** Monosodium Glutamate: An Assessment of Health Implications in Human and Animal Studies. Senior Research Thesis, Wofford College, South Carolina, 54p.
- 3- **Kingsley, O.A., Jacks, T.W., Amaza, D.S., Tarfa, M., Peters, A.T. and Otong, E.S. (2013).** The Effect of Monosodium Glutamate (MSG) on the Gross Weight of the Heart of Albino Rats., Sch. J. App. Med. Sci., 1(2):44-47.
- 4- **Walker, R. and Lupien, J.R. (2000).** The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate. J. Nutr., 130 (4): 1049S-1052S.
- 5- **Eweka, A.O. and Adjene, J.O. (2007).** Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the medial geniculate body of adult Wister Rat. Electron. J. Biomed., 2: 9-13.
- 6- **Ninomiya, K. (1998).** Natural occurrence. Food rev. Int., 14 (3&3): 177- 211 .
- 7- **Tawfik1, M. S. and Al-Badr, N. (2012).** Adverse Effects of Monosodium Glutamate on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E. Food and Nutrition Sciences, 3: 651-659.
- 8- **Gudino-Cabrera, G. Urena-Guerrero, M.E., Rivera Cervantes, M.C., Alfredo, I. Feria-Velasco, A. I., and Beas-Zarate, C. (2014).** Excitotoxicity Triggered by Neonatal Monosodium Glutamate Treatment and Blood-Brain Barrier Function. Arch. Med. Res., 45: 653 - 659.
- 9- **Wu, G. (2010).** Functional amino acids in growth, reproduction and health. Adv. Nutr., 1: 31-37.
- 10- **Burrin, D.G. and Stoll, B. (2009).** Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. Am. J. Clin. Nutr., 90: 850S-856S .
- 11- **Ali, H.S., El-Gohary, A.A., Metwally, F.G. Sabra, N.M. and El Sayed, A. A. (2012).** Mono Sodium Glutamate-induced Damage in Rabbit Retina: Electroretinographic and Histologic Studies. Glob. J. Pharmacol., 6 (3): 148-159.
- 12- **Schultz, S.G., Yu-Yu, I. Alvafez, O.O. and Curran, P.F. (1970).** Dicarboxylic amino acid influx across brush border of rabbit ileum. J. Gen. Physiol., 56:621-639.
- 13- **Ishikawa, M. (2013).** Abnormalities in Glutamate Metabolism and excitotoxicity in the Retinal Diseases. Hindawi Publishing Corporation Scientifica. ID5 28940,13p.
- 14- **Pedersen, V. and Schmidt, W. J. (2000).** The neuroprotectant properties of glutamate antagonists and antilglutamatergic drugs. Neurotox. Res., 2: 179–204.
- 15- **Danysz, W. and Parsons, C.G. (2002).** Neuroprotective potential of ionotropic glutamate receptor antagonists. Neurotox. Res., 4:119– 126.
- 16- **Carozzi, V.A., Canta, A., Oggioni, N., Ceresa, C., Marmiroli, P., Konvalinka, J. and et al., (2008).** Expression and distribution of 'high affinity' glutamate transporters GLT1, GLAST, EAAC1 and of GCPII in the rat peripheral nervous system. J. Anat., 213:539–546.
- 17- **Stagg, C. J., Bestmann, S., Constantinescu, A. O., Moreno, L.M., Allman, C., Mecke, R. and et al.**

- (2011). Relationship between physiological measures of excitability and levels of glutamate and GABA in the human motor cortex. *J. Physiol.*, 589:5845–55.
- 18-El-Hassar, L., Hagenston, A.M., D' Angelo, L.B. and Yeckel MF.(2011).** Metabotropic glutamate receptors regulate hippocampal CA1 pyramidal neuron excitability via Ca(2)(+) wave-dependent activation of SK and TRPC channels. *J. Physiol.*, 589:3211–29.
- 19- López-Pérez, S.J., Ureña-Guerrero, M.E., Morales - Villagrán, N. (2010).** Monosodium glutamate neonatal treatment as a seizure and excitotoxic model. *Brain Res.*, 1317: 246 – 256.
- 20- Rugh, R. (1964).** Vertebrate Embryology. The Dynamic of Development. Chapter 6: The Mouse: Harcourt, Brace and World, INC. New York. 237-303.
- 21-Rugh, R.,(1968).** The mouse, its reproduction and development Burgess . publishing Co.,430p.
- 22-Ozeki, H. and Shirai, S. (1998).** Developmental Eye Abnormalities in Mouse Fetuses Induced by Retinoic Acid. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 42(3): 162-167.
- 23- Padmanabhan, R., Singh, G. and Singh, S. (1981).** Malformations of the Eye Resulting from Maternal Hypervitaminosis A During Gestation in the Rat. *Acta. Anat.*, 110(4): 291-298.
- 24- Biernacki, B., Wfodarezyk, B. and Minta, M. (2000).** Effect of Sodium Valporate on rat embryo development in vitro. *Bull. Vet . Int. s. Pulway*, 44 : 201-205.
- 25- Kohn, D.F. and Barthold , S.P.(1984).** Biology and Diseases of rats In: Fox JG, editor. *Labrotory Animal Medicine.* Academic Press: Inc.(London) Ltd; pp 95-97 .
- 26-Carleton, M. A., Drury, R. S., Wallington, E. A. and Gameron, S. R. (1967).** *Histological techniques.* ,Oxford Univ. Press. 432p.
- 27- Luna, I. g.(1968).** Manual of histological staining methods of the forces institute of pathology. 3th ed. McGraw-Hill Book, New York,pp.5- 35.
- 28-Humason, G.L.(1979).** *Animal tissue technique* .4th ed. W.H. Freeman and company, USA., pp 569.
- 29-Henriksson, J.T., McDermott, A. M. and Bergmanson, J.P.G. (2009).** Dimensions and Morphology of the Cornea in Three Strains of Mice. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 50(8): 3648–3654.
- 30-Henriksson, J.T., Bron, A. J., Bergmanson J.P.G. (2012).** An explanation for the central to peripheral thickness variation in the mouse cornea. *Clin. Exp. Ophthalmol.*, 40:174–181.
- 31- Sisk, D. R. and Kuwabara, T.(1985).** Histologic changes in the inner retina of albino rats following intravenous injection of monosodium L-glutamate. *J. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 223(5):250-258.
- 32-Matyskova, R., Maletinska, L., Maixnerova, J., Pirnik, Z., Kiss, A. and Zelezna, B. (2008).** “Comparison of the Obesity Phenotypes Related to Monosodium Glutamate Effect on Arcuate Nucleus and/or the High Fat Diet Feeding in C57BL/6 and NMRI Mice.” *Physiol. Res.*, 57(5): 727-34.
- 33-Ohguro, H., Katsushima, H., Maruyama, I., Maeda, T., Yanagishi, S., and Metoki, T. (2002).** A high dietary intake of sodium glutamate as flavoring (ajinomoto) causes gross changes in retinal morphology and function. *Exp. Eye Res.*, 75(3):307-315.
- 34- Abe, M., Saito, M. and Shimazu, T. (1990).** Neuropeptide-Y in specific hypothalamic nuclei of rats treated neonatally with monosodium glutamate. *Brain Res. Bull.*, 24: 289–291.
- 35- Pelaez, B., Blazquez, J. L., Pastor, F. E., Sanchez, A. and Amat, P. (1999).** “Lectin histochemistry and Ultrastructure of Microglial Response to Monosodium Glutamate-Mediated Neurotoxicity in the Arcuate Nucleus. ” *Histology and histopathology*, 14(1): 165-174.
- 36- Olney, J.W. (1969b).** Glutamate induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely evolving lesion. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 28: 455-474.
- 37- Hansson, H. A. (1970).** Ultrastructural studies on the long term effects of sodium glutamate on the rat retina. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.* 6, 1-1 1.
- 38- Olney, J.W. (1982).** The toxic effects of glutamate and the related compound in the retina and the brain. *Retina*, 2: 341 -359.
- 39- Goldsmith, P.C. (2000).** Neuroglial responses to elevated glutamate in the medial basal hypothalamus of the infant mouse. *J. Nutr.*, 130: 1032s -1038s.
- 40- Olney, J.W., Labruyere, J. and De Gubareff, T. (1980).** Brain damage in mice from voluntary ingestion of glutamate and aspartate. *Neurobehav. Toxicol.*, 2: 125–129.
- 41- Yu, L., Zhang, Y., Ma, R., Bao, L., Fang, J. and Yu, T. (2006).** Potent protection of ferulic acid against excitotoxic effects of maternal intragastric administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 16:170–177.
- 42- Ali, M.M., Bawari, M., Misra, U.K. and Babu, G.N. (2000).** Locomotor and learning deficits in adult rats exposed to monosodium L-glutamate during early life. *Neurosci. Lett.*, 284:57– 60.
- 43- Fogal, B., Trettel, J., Uliasz. T.F., Levine, E.S. and Hewett, S.J. (2005).** Changes in secondary glutamate release underlie the development regulation of excitotoxic neuronal cell death. *Neuroscience*, 132:929–942.

Histological Changes Induced by Monosodium Glutamate on the Growth and Development of the Offsprings Albino Mice Cornea

Maieda Noori Ibrahim¹, Samira Abd Al Hussian²

¹ Biology Department, College of Sciences, Kirkuk University, Kirkuk, Iraq

² Medicine College, Tikrit University, Tikrit, Iraq

Abstract

This research aim to study the effect of different doses of a Monosodium Glutamate (MSG) to cause histopathological changes in the offspring corneal for the ages 7, 15, 21, 30, and 60 days. The mothers, type *Mus musculus* mice has been orally administrated from 17th day of pregnancy by different concentrations (2, 4, and 8 g/Kg/ body weight) of MSG using stomach tube. Microscopic examination showed no changes in the cornea for a seventh day and administrated concentrations of 2 and 4 g / kg body weight, but observed degeneration of fibre stroma, necrosis and the reduction of the anterior epithelial layer of the cornea at dose of 8 g / kg. In the group of 15 days, these changes are mentioned; hyperplasia in the anterior epithelium of the peripheral cornea of 2 g, deformation in the peripheral part of the cornea and the reduction of thickness and intensify the stroma components at a concentration of 4 g either at a concentration of 8 g / kg has appeared hyperplasia in fibroblast cells in the corneal stroma and wave of the basement membrane of anterior epithelial tissue of central cornea. In a group 21days, these changes are shown; necrosis and rarefaction in stroma of central cornea while the reduction of the anterior epithelial layer of the peripheral cornea notes and wave anterior surface of the cornea in the concentration of 2 g / kg. Deformation appeared and reduction layers and irregular with dissociation in the stromal fibers in some areas in the concentration of 4 g / kg, while in the concentration of 8 g / kg show damage in the anterior part of epithelial of the central corneal tissue. In a group 30 days and concentration of 2 g / kg, these changes were observed; necrosis, swelling in some anterior epithelial cells, condensation of nuclei in endothelial cells, with Keratinized at the surface of the cornea and edema in the stroma. Bulge appeared in the stroma of peripheral cornea and hyperplasia in fibroblast at a concentration of 4g/kg, meanwhile at a concentration of 8 g/kg show necrosis under the anterior epithelium of central cornea and dissociation of stromal fibroblast. In the group 60 Days at the concentration of 2 g / kg show damage in the anterior epithelial tissue of the peripheral cornea and hyperplasia in some parts of the anterior epithelial tissue in the central cornea. At the concentration of 4g/kg show damage in the stromal fibers of peripheral corneal epithelium and detachment of endothelial tissue. In concentration 8 g/kg reduction appeared in the anterior epithelial tissue in the certain part of the cornea, hyperplasia in endothelial tissue, condensed layer appeared on the surface of anterior epithelial tissue.