

## HEPATİK ENSEFALOPATİ OLUŞTURULAN RATLARIN KAN-BEYİN BARIYER GEÇİRGENLİĞİNDEKİ DEĞİŞMELER\*

Abdulkaki TÜRKOĞLU, F. Emel EKŞİOĞLU, Gıyasettin BAYDAŞ

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ / TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 04.03.1998

### Changes In The Blood-Brain Barrier Permeability In Hepatic Encephalopathy-Induced Rats

#### SUMMARY

This study was undertaken to investigate how the permeability of the blood brain barrier (BBB) changed in the rats with liver failure. In the experimental group, 50 rats were injected with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) s.c. three times a week for six weeks. CCl<sub>4</sub> was dissolved in olive oil (3/4 v/v). Twenty rats were injected with olive oil s.c. for control group. When characteristic findings of hepatic encephalopathy occurred, evans-blue (%2) was given by jugular vein at a dose of 4 ml/kg under ether anesthesia. Five minutes later, rats were killed by intracardiac injection of saline. Cerebrum and cerebellum were removed and evaluated visually and spectrophotometrically.

The concentration of evans-blue in the brain tissues of the experimental group was higher than that of control (p<0.0005). There was a significant difference between cirrhotic rats with hepatic encephalopathy and cirrhotic rats without hepatic encephalopathy in the levels of brain evans-blue (p<0.005).

In conclusion, we suggest that hepatic encephalopathy increases the BBB permeability in the rat.

*Key Words:* Hepatic Encephalopathy, Blood-Brain Barrier, Carbon tetrachloride

#### ÖZET

Hepatik ensefalopatinin (HE) nedenlerinden biri, karaciğer yetmezliğinde çeşitli maddelere karşı kan beyin bariyeri (KBB) geçirgenliğinin artması ve bu maddelerin beyinde çeşitli etkiler göstermesidir. Barsaklarda oluşan bazı toksik maddelerin bozulmuş bariyerden beyine geçerek klinik tablonun oluşmasına neden olduğu sanılmaktadır.

Ratlarda karaciğer yetmezliği oluşturmak suretiyle kan beyin bariyerinin geçirgenliğinin nasıl değiştiğini ve ensefalopatiye ne oranda neden olduğunu araştırmak için bu çalışma yapıldı. Deney grubundaki 50 rata 6 hafta gūnaşırı deri altı karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) verildi. CCl<sub>4</sub> zeytin yağı ile 3/4 oranında (v/v) karıştırıldı. Kontrol grubundaki 20 rata aynı süre içinde deri altı zeytin yağı verildi. HE'nin karakteristik belirtileri gözlenince dietil eter ile anestezi yapılmış ratlara juguler venden evans-blue solusyonu 4 ml/kg %2'lik verildi. Beyin ve beyincik çıkarılarak gözle ve spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

Beyin dokusunun 1 gramında boya miktarı (µg/gr) deney ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında fark anlamlı bulundu (P<0,0005). HE gelişmiş sirozlu ratlarla, HE'nin tam gelişmediği sirozlu ratların beyin boya miktarları arasındaki fark anlamlıydı (p<0.005). HE 'nin geliştiği sirotik hayvanlarda KBB'nin kontrollere göre daha geçirgen olduğu saptandı.

*Anahtar Kelimeler:* Hepatik ensefalopati, Kan beyin Baryeri, karbon tetraklorür

## GİRİŞ

Hepatik ensefalopati (HE) nöronal inhibisyonun artmasıyla karakterize olan kompleks bir nöropsikiyatrik sendromdur. Bu sendrom akut veya kronik olabilir (1).

Ensefalopati gelişmişse motor fonksiyon, entellektüel yeteneklerde ve şuurda bozukluk oluşur ve sonunda koma gelişir. Uyku ritminde bozukluk, mental disosiasyon oluşur (2).

Hepatik ensefalopati için son araştırmalar karaciğerde normalde metabolize edilen toksik maddelerin kanda birikmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Bununla birlikte tek bir toksin tanımlanamamıştır(3). HE'nin ortaya çıkışından amonyak, merkaptanlar, yağ asitleri ve anormal plazma amino asitleri sorumlu olmaktadır(4-6).

Amonyakın HE patojenezinde etken olduğu yaygın bir inanıştır. Bununla birlikte amonyakın rolü tam olarak belirlenememiştir (4). HE'nin patogenezi kısmen merkaptanlar, kısa zincirli yağ asitleri ve fenoller içerir. Bu atık maddeler tek başlarına HE nedeni değildir. Bu maddelerin subensefalopatik veya subkoma seviyelerindeki kombinasyonlarının MSS üzerindeki sinerjistik etkilerinin sonucu olarak ensefalopatiye ve komaya yönlendirdiği kabul edilir(7).

Kan beyin bariyeri'nin işlevi muhtemelen santral sinir sistemi (SSS)'ndeki nöronların iç ortamını sabit bir şekilde korumaktır. Bu sinir hücreleri içinde yer aldıkları havuzun  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $H^+$  ve diğer iyonları yoğunluklarına öylesine duyarlıdır ki bunlardaki çok küçük değişimler bile büyük değişikliklere neden olur. Ekstraselüler sıvı (ESS)'nin sabit bileşimde korunması vücudun tüm bölgelerinde çok çeşitli homeostatik mekanizmalarla sağlanır (8,9).

Kan beyin bariyerinin ileri sürülen diğer görevleri kandaki iç ve dış kaynaklı toksinlerden beyini korumak ve nörotransmitterlerin genel dolaşıma geçmesini önlemektir (10).

Beyin dokusu ve menenjlerin enfeksiyonu (ensefalit, menenjit), beyine radyoterapi uygulanması, beyin arteri içine hipertonic solüsyon (glükoz, mannitol ve üre solüsyonları) enjeksiyonları, yüksek konsantrasyonda alkol, sitotoksik kanser ilaçları gibi etkenler KBB'ini bozarlar (9). Buna karşılık glükokortikoid ilaçlar (kortizon ve benzerleri) artmış olan permeabilityi azaltırlar (11).

Amonyak, serbest yağ asitleri, metiloktanat, konjuge olmamış fenol ve merkaptan etanetol verilerek yapılan çalışmada (12), bu toksinlerin KBB geçirgenliğini bozduğu ve nöronlarda  $Na^+$ -

$K^+$ ATPase'ı inhibe etmesiyle geçirgenliği arttırdıkları gösterilmiştir.

Karbontetraklorür ( $CCl_4$ )'ün yaptığı karaciğer nekrozu lipid peroksidasyonu sonucu olur. Toksik etki

sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin hücre membranlarındaki (sitoplazmik ve hücre organel membranlarındaki) lipidlerin doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi membranları oksidatif yıkıma uğrattır (13). Ayrıca, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid parçalanma ürünleri çeşitli enzimlerin ve diğer proteinlerin sülfhidril gruplarını yok edebilir(14). Böylece karaciğerde detoksifiye edilemeyen toksik maddeler kanda birikime eğilimi gösterir ve kan beyin bariyerini etkileyebilir.

Bu çalışmadaki amaç karbontetraklorür ile oluşturulan deneysel karaciğer yetmezliğinde kan beyin bariyerindeki değişiklikleri incelemek ve hepatic ensefalopatiye olan katkısını irdelemektir.

## MATERYAL VE METOT

Ağırlıkları ortalama olarak 150-250 gr olan Wistar-Albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. 12 saat gün ışığı alan ve penceresinde havalandırma tertibatı olan bir odada bulunan özel olarak hazırlanmış kafeslerde bakıma alındı.

Deney hayvanlarının beslenmesinde Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen ve özel olarak hazırlanmış rat yemi kullanıldı. 50 adet rat deney için ayrıldı. Bu gruptaki ratlarda karaciğer yetmezliği oluşturuldu. Bunun için selektif hepatotoksin olarak  $CCl_4$  (MERCK) kullanıldı (14,15).  $CCl_4$  zeytin yağı (SIGMA) ile 3/4 (v/v) oranında karıştırıldı ve haftada 3 kez 0,15cc/100gr deri altına enjekte edildi. Altı hafta süre ile  $CCl_4$  verildikten sonra bir rat doğrudan kalbe serum fizyolojik enjeksiyonu ile öldürüldü. Karaciğerin histopatolojik incelemesi sonucu siroz oluştuğu görüldü. Siroz oluşumu aşamasında 3 rat öldüğü için 47 rat ile çalışmamız tamamlandı.

Sirozlu ratlar gözlem altına alındı. Ratlarda denge bozukluğu, uyuklama, hareketlerinde azalma, tüylerinde azalma ve zayıflama gözlenenlerde hepatic ensefalopati geliştiği sonucuna varıldı.

Deney sonunda, dietil eter anestezisi altında vena jugularis interna'ya No 24 intravenöz kateter sokuldu. Evans-blue 4ml/kg %2'lik serum fizyolojik içinde verildi (16). Evans-blue vital bir boya olup hemen plazma proteinlerine ve özellikle

serum albumini ile birleşerek onun maviye boyanmasını diğer bir deyimle işaretlenmesini sağlar. Normal koşullarda KBB'den geçemeyen albumin, KBB'de yıkılma olursa beyne geçer ve geçtiği beyin bölgesinin maviye boyanmasına neden olur. Evans-blue'nun albumine bağlanma kapasitesi 34.2 mg evans-blue/ ml plazma'dır. Bu miktar albuminin boyayı bağladığı alanları doyurur (17,18). 5 dakika sonra ratlar intrakardiyak serum fizyolojik ile öldürüldü. Kafatası sütürallerinden açıldı, beyin dokusunu zedelemeyen beyin ve beyincik çıkarıldı ve gözle değerlendirildi.

Grade 0+: Boya almamış.

Grade 1+: Önemsenebilir boyanma.

Grade2+: Hafif mavi boyanama.

Grade3+: Koyu mavi boyanma olarak değerlendirildi.

Beyindeki boyanın kantitatif hesabı Öztaş ve ark (19) metodu ile yapıldı. Her bir beyin ve beyincik sagittal kesi ile iki parçaya ayrıldı. Yarım beyin parçası tartıldı ve fizyolojik pH'da 5 ml %5'lik 1 N NaOH içeren fosfat tamponunda homojenize (Ultra Turrax T 25) edildi. Homojenat 10.000 rpm' de 10'dak santrifüjlendi (Hettich). Süpernatantı alınarak spektrofotometrede (Shimadzu UV-1201V ) 620 nm'de absorbansı ölçüldü (19). Standart ile kıyaslanarak boya miktarı hesaplandı.

20 adet rata 6 hafta süre ile deri altı zeytin yağı enjekte edildi. Bu işlem sırasında 1 rat öldüğü için kontrol grubu 19 rat ile tamamlandı. Deney sonunda birinci grupta yapılan işlemlerin aynı yapıldı.

### İstatistiksel analiz:

Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata ( $\bar{X} \pm SE$ ) şeklinde yazılmıştır. Kontrol ve deney grupları arasındaki farklılık "Student's t-testi" kullanılarak araştırıldı. İstatistiksel analizler bilgisayar istatistik paket programları kullanılarak yapıldı.

### BULGULAR

Hayvanlar intrakardiyak Serum Fizyolojik enjeksiyonu ile öldürüldükten sonra, çıkarılan beyin dokuları görsel olarak incelendi. Grade 0,1,2,3 şeklinde olmak üzere boyanma yoğunluğuna göre değerlendirdiğimizde, kontrol grubu ratların beyin dokuları ortalama  $0.74 \pm 0.17$  grade olmak üzere az boyandığını, deney grubu ratların beyin dokuları da  $1.60 \pm 0.13$  olmak üzere daha yoğun boyandıklarını gözlemlendi. Bu iki grubun görsel değerlendirmeleri arasındaki istatistiksel fark anlamlı bulundu ( $P < 0.0005$ ,  $t=3.69$ ).

Gruplar arasında boya alımı ( $\mu\text{g/g}$ ) karşılaştırıldığında ; Deney grubunda 1 g beyin dokusundaki boya miktarı ortalama  $3.10 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ , kontrol grubunda  $2.17 \pm 0.13 \mu\text{g/g}$  olarak bulundu (tablo 1).

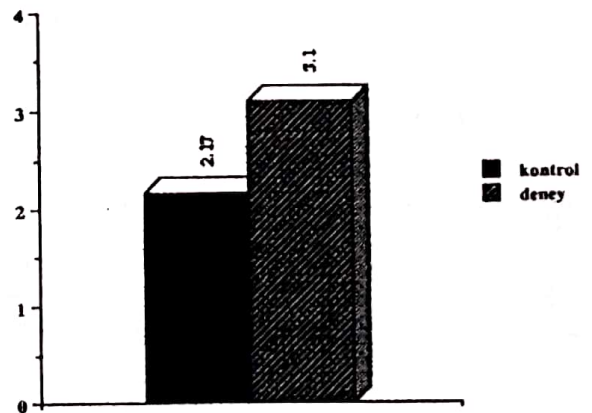
**Tablo-1:** Kontrol ve Deney gruplarında ortalama evans-blue ve grade değerleri .

	Kontrol (n=19)	Deney (n=47)	p değeri
Evans-blue( $\mu\text{g/g}$ )	$0.74 \pm 0.17$	$1.60 \pm 0.13$	$<0.0005$
$\bar{X} \pm SE$			
Grade $\bar{X} \pm SE$	$0.74 \pm 0.17$	$1.60 \pm 0.13$	$<0.0005$

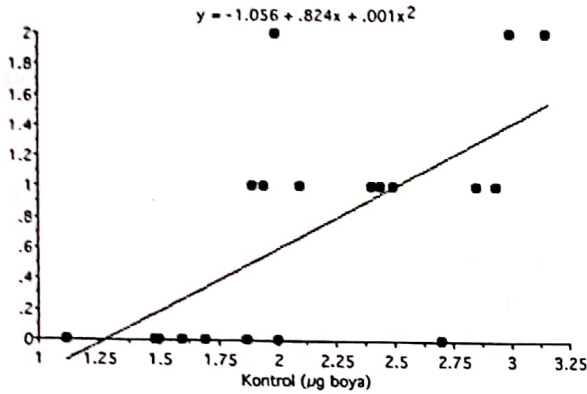
Bu iki grup arasındaki farklılık anlamlı bulundu ( $P < 0.0005$ ,  $t=3.77$ ).

HE gelişen sirozlu ratların beyin dokusundaki boya miktarı ( $4.20 \pm 0.20 \mu\text{g/g}$ ), HE gelişmemiş sirozlu ratların boya miktarı ( $2.77 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ ) arasındaki fark anlamlıydı ( $P < 0.005$ ,  $t=3.99$ ). HE gelişmiş ratların beyinlerinin koyu mavi (grade 3) boyandığı gözlemlendi. Siroz gelişmiş fakat HE henüz başlangıç safhasındaki ratların beyinlerinin açık mavi ve mavi (grade 1 ve 2) boyandığı tesbit edildi. Görsel ve spektrofotometrik değerlendirmede uygunluk belirlendi (Şekil 1,2,3).

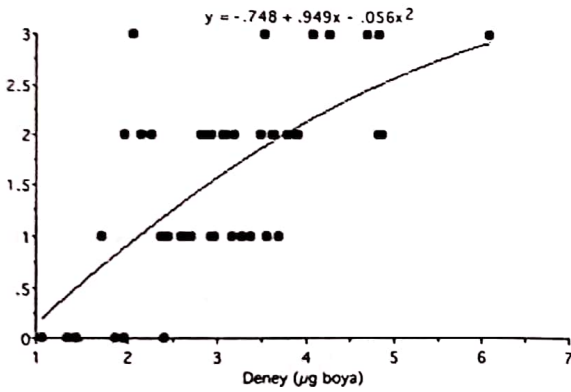
Gözle ve spektrofotometrik olarak değerlendirilmede HE gelişmesi ile doğru orantılı bir artış gözlemlendi . HE ilerlemesiyle birlikte KBB'nin geçirgenliğinin artan bir şekilde bozulduğunu dolayısıyla boyanma şiddetinde bir artışın olduğu kaydedildi.



**Şekil 1.** Kontrol ve deney gruplarının beyin dokusundaki ortalama evans-blue miktarı ( $\mu\text{g/g}$ )



Şekil 2. Kontrol grubunun beyin dokularının grade ve spektrofotometrik değerlerinin regresyon analizi..



Şekil 3. Deney grubunun beyin dokularının grade ve spektrofotometrik değerlerinin regresyon analizi.

### TARTIŞMA

Jonung ve arkadaşları (20), portosistemik şanlı köpeklerde yaptıkları çalışmalarda hiperamonyemi, beyin artan glutamin konsantrasyonu, plazma nötral amino asit modelindeki değişiklik ve Dallı zincirli amino asitler (DZAA)'in yüksek oranlarını bulmuşlardır. Sinir sistemindeki bu maddelerin oranlarındaki artış KBB geçirgenliğindeki bir bozulmaya işaret etmektedir. Bu durum ensefalopatinin gelişimine katkıda bulunmaktadır.

Zaki ve arkadaşları (12) Olendorf tekniğini kullanarak metil oktanat, merkaptanlar, fenol, linoleik asit ve bilirubin için KBB geçirgenliğinin

arttığını rapor etmişlerdir. Laktik asit, amonyak ve oktanik asit verilen hayvanlarda KBB değişiklikleri galaktozamin ile oluşturulan karaciğer yetmezliğinde daha az olduğu görülmüştür. CCl<sub>4</sub> ile oluşturduğumuz sirozda değişiklikleri Öztaş ve arkadaşları (18) kriterlerine göre değerlendirdiğimizde permeabilitede belirgin bir artış gözledik.

Mishchenko ve arkadaşları (21), Wistar dişi ratlarda tetraklorometan ile oluşturdukları sirozda, ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile KBB'de peri ve endokapiller değişiklikler olduğunu, ayrıca damarsal uzantılardaki astrositlerde de değişiklikler izlemişlerdir. Yine aynı araştırmacılar HE'deki metabolik toksinlerin KBB'ini yapısal değişimlere uğrattığını açıklamışlardır.

Farklı metabolik anormalliklerde plazmadan beyne bazı maddelerin geçişi kantitatif otoradyografi ile ölçülmüştür. Beyne glukoz, nötral amino asitler(22), temel amino asitler ve keton cisimlerinin akışı ölçülerek yapılan çalışmada, portokaval şanlı ratlarda beyin transport sisteminde değişiklikler gösterilmiştir. Buna rağmen sonuçta yapısal değişikliklerin daha uygun bir neden olduğu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamız HE'de KBB'deki yapısal değişiklikleri desteklemektedir. Çünkü evans-blue albumin transport sistemiyle taşınmamakta, doğrudan bozulmuş endotel hücreleri ve astrositler arasından geçmektedir.

Sears ve arkadaşları (23), HE'de KBB yıkımının olduğunu düşünerek yaptıkları bir çalışmada farelere amonyum asetat vererek ensefalopatik tablo oluşturmuşlardır. KBB bütünlüğü evans-blue ve alfa-aminoizobütirik asit ile ölçülmüştür. Beyin dokusu koma+ornitin grubunda mavi boyandığı görülmüştür. Beyin dokusu koma+deksametazon uygulanan grupta açık mavi boyanma gözlenmiştir. Bu sonuçlar gösterir ki hiperamonyemi ile KBB yıkımı oluşturulabilir. Fakat bariyer bütünlüğündeki bozulma koma gelişiminden öncedir. Buna rağmen koma zamanı ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (24). Çalışmamızda beyin dokusunun boyanma derecesi ile HE gelişim oranı arasında doğrusal bir gelişim gözlenmiştir. Özellikle deney bitiminde ensefalopati belirtileri gözlenen ve gözlenmeyen sirozlu ratların beyin boya miktarı arasındaki fark anlamlıydı (p<0.005). Bu durum ensefalopatinin oluşumu ile KBB bozukluğunun gelişimi arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Öztaş ve arkadaşları (25), hipotermi esnasında beyin glukoz kullanımını ve oksijen tüketimini incelemişlerdir. Beynin enerji içeriği, iyonların aktif transportu muhafazası ve membran potansiyel yükünün düzeni esnasındaki taşıma ve eksitasyonlar ile tüketilir. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase

aktivitesi Na<sup>+</sup> 'un endotel hücreleri içinde birikmesinden sonra bozulmuştur. Aynı durum koroidal epitelde de gözlenmiştir. Böylece endotel hücreleri şişmiş, "Tight-junction"lar arasında genişlemeler başlamıştır. Hücrelerdeki ozmotik şişmenin gelişmesiyle orantılı olarak aradaki sıkı bağlantılar açılıp evans-blue albumin kompleksi beyin içine girer. Bu KBB için ağır ve yaygın bir yıkımdır. Beyinde bunlara ilave olarak sitrik asit siklusu gibi alanin, glutamik asit ve GABA azalır. CCl<sub>4</sub> ile oluşturduğumuz HE'de evans-blue albumin kompleksi beyin içine girmiştir. Kontrol ve deney grupları arasında beyin boya miktarları arasındaki fark anlamlı olarak bulunmuştur (p<0.0005). HE'de aynı hipotermideki gibi KBB yıkımı olmaktadır.

Knudsen ve arkadaşları(26), hepatektomize ratlara i.v. tripan blue verdiklerinde KBB'den geçmeyen D-sükroz, insülin ve L-glukoz gibi maddelerin daha kolay geçmeye başladığını gözlemlemiştir.

Jones ve arkadaşları (27), tarafından önerilen hipoteze göre HE'de hiperamonyemi, KBB'den geçen DZAA'nin transportunu arttırmada yardımcı olacaktır.

Jessy ve arkadaşları (28), beyin ödemindeki artışın ensefalopati derecesiyle uygunluk gösterdiğini, hücrel şişmenin primer mekanizmasının KBB permeabilitesindeki değişikliklerde rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ratlara uyguladığımız evans-blue ile beyin boyanması ensefalopati derecesiyle uygunluk gösterdi. Gözlemlerimize göre farklı hepatik ensefalopati derecelerinde beyin aldığı evans-blue değişkendi. Yukarıdaki çalışmanın bulgularımızla uygunluk göstermesinden anlaşılıyor ki HE gelişimi KBB bozukluğunun derecesiyle yakından ilgilidir.

Çalışmamızın sonuçları ve yukarıda bildirilen görüşlerin ışığı altında, karaciğer yetmezliğinin son aşamalarında artan toksik maddelerin KBB'ni bozduğu, bunun sonucunda HE'nin geliştiği ve komaya neden olduğu söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Sergio H, Gammal MD and Jones A: Hepatic encephalopathy. Med Clin North America, 1984; 73(4): 793-813.
2. Neyzi O, Ertugrul T: Pediatri. Istanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1990: 900-4.
3. Crossly JR, Wardle EN, Williams R : Biochemical mechanisms of hepatic encephalopathy. Clin Sci ,1983; 64:247-52.
4. Jones EA, Gammal SH, Martin P: Hepatic encephalopathy; New light on an old problem. Quart J Med, 1988; 69(259): 851-67.
5. Hawkins RA, Jessy J, Mans AM, DeJoseph K: Effect of reducing brain glutamine synthesis on metabolic symptoms of hepatic encephalopathy. J Neurochem,1993; 60(3): 1000-5.
6. Jessy J, Mans AM, DeJoseph K, Hawkins RA: Hyperammonaemia causes many of the changes found after portacaval shunting. Biochem J, 1990; 272:311-7.
7. Schearman DJC, Finlayson NDC: Diseases of the Gastrointestinal Tract and Liver. 2. Edition. New York: Churchill Livingstone, 1989:861-5.
8. Ertekin C: Nörolojide Fizyopatoloji ve Tedavi İzmir: Bilgehan Matbaasi, 1987:10-5.
9. Babül A: Özel bölümlerde dolasim. (Editör Dr Ayşe Dogan) Ganong Tibbi Fizyoloji , 1995: 659-661.
10. Broman T, Stainwall O: Pathophysiology of fluids. Blood-Brain Barrier. (Editor: Mincler J). Pathology of the Nervous System, McGraw Hill In, 1968: 406-14.
11. Kayaalp O: Tibbi Farmakoloji, 6. Baskı, Ankara: Feryal Matbaacılık,1991:76-78.
12. Zaki AEO, Wardle EN, Canalese J, Ede RJ, Williams R: Potential toxins of acute liver failure and their affects on blood-brain barrier permeability. Exp 1983; 39(9):988-91.
13. Poli G, Cottalasso D, Pronzato MA, Chiarpotto E, Marinari UM: Lipid peroksidation and covalent binding in the early functional impairment of liver golgi apparatus by carbon tetrachloride . Cell Biochem Func,1990; 8: 1-10.

14. Poli G, Albano E and Dianzani MU: The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem Phys Lipids*, 1987; 45:117-42.
15. Masaki N, Yamada S, Ogata I, Ohta Y, Fujiwara K: Enhancement of carbon tetrachloride- induced liver injury by glucagon and insulin treatment. *Res Exp Med*, 1988; 188: 27-33.
17. Öztas B, Küçük M, Sandalci U: Effect of insulin-induced hypoglycemia on blood-brain barrier permeability. *Exp Neurology*, 1985; 87: 129-36.
18. Öztas B, Küçük M, Gökhan N: Kronik elektrosokun kan-beyin permeabilitesine etkisi. *I Ü Tıp Fak Mecmuasi*, 1987; 50: 653-8.
19. Digregorio GJ: Agents used in liver, renal and cardiac diseases. (Editor:Dipalma JR). *Drill's Pharmacology in Medicine*, Fourth edition, McGraw Hill In, 1971:1857-8.
20. Öztas B: Influence of acute exposure to heat on the blood-brain barrier permeability during acute hypertension. *Pharm Biochem Behav*, 1995; 52(1): 354-7.
21. Jonung T, Ramzy A, Herlin P, Chance WT, James JH, Fischer JE: Factors influencing the concentrations of the large neutral amino acids in the brain and in the CSF of dogs after portacaval anastomosis. *HPB Surg*, 1991; 4(4): 299-312.
22. Mishchenko VA, Goriukhino OA, Iliuk RD: Changes in the hemato-encephalic barrier in experimental liver cirrhosis. *Biol Exp Biol Med*, 1993; 116(12): 638-41.
23. Hawkins RA: Transport of essential nutrients across the blood-brain barrier of individual structures. *Fed Proc*, 1986; 45 (7):2055-9.
24. Sears ES, McCandles DW, Candler MD: Disruption of the blood-brain barrier in hyperammonemic coma and the pharmacologic effects of dexamethasone and difloromethyl ornitine. *J Neuro Sci Res*, 1985; 14(2):255-61.
25. Öztas B, Kaya M: The effect of acute hypertension on blood-brain barrier permeability to albumin during experimentally induced epileptic seizures. *Pharm Research*, 1991; 23(51): 41-6.
26. Knudsen GM, Schmid J, Almdal T, Poulson OB, Vilstrup H: Passage of amino acids and glucose across the blood-brain barrier in patients with hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 1993; 17(6): 987-92.
27. Jones EA, Schaffer D: Fulminant hepatic failure. (In: Zakim D, Boyer TD). *Textbook of Liver Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1982: 415-45.
28. Dixit U, Chang TM: Brain edema and the blood-brain barrier in galaktosamine-induced fulminant hepatic failure rats. An animal model for evaluation of liver support systems. *Asaio-Trans* 1990; 36 (1):21-27.