

# Hiperamonyemik Sıçanlarda Beyin Gamma Aminobutirik Asit (GABA) Miktarının Araştırılması

GABA METABOLISM EXPERIMENTALLY INDUCED HYPERAMMONEMIC RATS

Dr.Gıyasettin BAYDAŞ, Dr.AbdulbakiTÜRKOĞLU, Dr.Emin DÖNDER

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD ve İç Hastalıkları ABD, ELAZIĞ

## ÖZET

Amonyak konsantrasyonunun aşırı artmasında beyin GABA metabolizmasının nasıl etkilendiğini araştırmak için, sıçanlarda deneysel olarak hiperamonyemi oluşturuldu ve beyin dokusundaki GABA miktarları ölçüldü. Üreaz injeksiyonuyla hiperamonyemi oluşturulan sıçanlarda, beyin GABA miktarı kontrol grubuna göre önemli oranda artmıştı ( $p<0.05$ ). Aynı şekilde kan amonyak konsantrasyonu da kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yükseldi ( $p<0.001$ ).

Kontrol grubunda kan amonyak konsantrasyonu ile beyin GABA miktarları arasında, herhangi bir ilişki bulunamamasına karşılık ( $r=0.192$ ), deney grubunda istatistiksel anlamda çok önemli olmamakla beraber zayıf bir ilişki vardı ( $r=0.455$ ). Sonuç olarak, aşırı amonyak konsantrasyonunun beyin GABA miktarını artırarak nöroinhibitör potansiyeli yükselttiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** GABA, Hiperamonyemi

**T Klin Gastroenterohepatoloji 1993, 4:30-34**

Santral sinir sisteminde (SSS) inhibitör olarak rol alan en önemli nörotransmitter maddeler gamma aminobutirik asit (GABA) ve glisindir. GABA dört karbonlu bir amino asittir. Etkisini çoğunlukla korteks serebri, bazal gangliyonlar, serebellar purkinje hücrelerinde ve talamusta gösterir. Buna karşılık glisinin etki alanı çok daha dar olmakla birlikte spinal motornöronlarda yoğunlaşmaktadır (1).

SSS'de yüksek konsantrasyonda bulunan GABA, tüm nöronların %25-40'ında bulunur. GABA, inhibitör nöronlarda sentezlenir ve akson uçlarında yoğunlaşır,

**Geliş Tarihi:** 17.1.1992

**Kabul Tarihi:** 1.2.1993

**Yazışma Adresi:** Dr.Gıyasettin BAYDAŞ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fizyoloji ABD ve İç Hastalıkları ABD  
ELAZIĞ

## SUMMARY

This study was designed to investigate the possible relationship between GABA metabolism and hyperammonemia. The GABA content was measured in the rat brain tissue after experimentally induced hyperammonemia, by way of the urease injection. In the hyperammonemic rats the brain GABA levels were greater than the controls' ( $p<0.05$ ).

We concluded that hyperammonemia causes neural inhibition by increasing brain GABA content.

**Key Words:** GABA, Hyperammonemia

**Turk J Gastroenterohepatol 1993, 4:30-34**

impulsun nöronu uyarmasıyla da sinaptik aralığa boşalır. Sinir hücresinden salınan GABA postsinaptik membranda bulunan kendisine özgü reseptörüyle (GABA<sub>A</sub>) birleşerek etkisi gösterir (1).

GABA reseptörü aslında bir reseptör komplekstir, farmakolojik ve biyokimyasal olarak üç ana bölgeden oluşmuştur: a) GABA reseptörü, b) Benzodiazepin reseptörü ve c) Barbiturat reseptörünü de içeren Klor (Cl<sup>-</sup>) kanalı (lonoforu) (2).

Hepatik yetmezlikte ensefalopatinin gelişmesi karaciğer tarafından metabolize edilemeyen veya portokaval santiarla genel dolaşıma geçerek ekstraselüler sıvıda biriken toksik maddelerin etkisinden ileri gelir (3,4). Karaciğer yetmezliğinde ensefalopatinin patojenezinde rol oynayan nörotoksik maddeler çeşitli olmakla birlikte, esas etkili maddenin amonyak olduğunu bildirilenlerin (3-6) yanında son zamanlarda dikkatleri GABA

üzerinde yoğunlaştırılanlar da artmıştır (7-10). Hepatik yetmezlikte gastrointestinal sistemde bakteriler tarafından üretilen ya da besinlerle alınan bazı toksik maddeler ve çeşitli amino asitler karaciğer tarafından yeterli istenemezler. Bu maddeler sistemik dolaşıma ve oradan da muhtemelen beyine geçebilirler (10).

Beyin dışında GABA'nın en büyük kaynağı barsak bakterileridir. Vena porta kanındaki GABA konsantrasyonu arterlerdekinin yaklaşık iki katıdır (10). Sindirim kanalındaki bakterilerin ürettiği GABA, portal sistemik dolaşımla karaciğere gelir ve burada metabolize edilir. Hepatosellüler yetmezlikte GABA karaciğer tarafından temizlenemediği için plazma GABA konsantrasyonu artar (3,8).

Normal durumlarda kan beyin bariyerinin GABA'ya olan geçirgenliği minimum düzeydedir. Fakat hepatic yetmezlikte sistemik dolaşıma geçen toksik maddeler kan beyin bariyerinin permeabilitesini artırarak GABA ve diğer maddeler karşı daha geçirgen hale getirirler (3,11). Kan beyin bariyerinin bu şekilde geçirgen olması muhtemelen kılcal damarları çevreleyen astrositlerin dejenerasyonundan (12) ve kılcal damar endotel-yumundaki porların sayısının artmasından ya da sıkı bağlandı yerlerinin bozulmasından ileri gelir (7).

Deneyisel olarak oluşturulan hepatic ensefalopatide veya ensefalopatiyle beraber seyreden sirozlu hastalarda plazma GABA miktarının artmış olduğu birçok çalışmada kanıtlanmıştır (9,13,14). Ayrıca hepatic ensefalopatide beyin GABA'ya karşı affinitesi de artar (10-15).

Yapılan bir çalışmada (14) hepatic ensefalopatinin geliştiği sirozlu hastaların plazma GABA miktarı, ensefalopatik olmayanlarınkinden çok daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen bulgularla, GABA'nın hepatic ensefalopatinin patojenezinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca GABA reseptörlerinin arttığı ve GABA'ya karşı affinitelerinin artmasıyla nöral inhibisyonu potansiyelize ettikleri de bildirilmektedir (16).

Arteriyel kan amonyağının %47'si çoğunlukla diffüzyon şeklinde olmak üzere beyne geçer (17). Beyin dokusu birçok maddelere karşı olduğu gibi amonyağın artan konsantrasyonuna karşı da oldukça duyarlıdır. Bu nedenle beyinde amonyağa karşı oluşmuş bir tampon sistemi vardır. Beyin amonyağı (astrositlerde) etkili bir şekilde glutamat-glutamin siklusu tarafından regüle edilir (18). **NB** glutamat ile birleşerek glutamine dönüşür. Bu reaksiyon glutamin sentetaz tarafından katalize edilir. Glutamin daha sonra kan-beyin bariyeri boyunca dışarı atılmak suretiyle beyinden temizlenebilir, ancak amonyak konsantrasyonunun aşırı yükselmesi glutamin tampon sistemini yetersiz bırakır.

Bu çalışma, hepatic ensefalopatide GABA artışı ile amonyak arasındaki ilişkiyi araştırmak için düzenlenmiştir. Suni olarak oluşturulacak hiperamonyeminin, kan ve beyin dokusundaki değerleri yanında, beyin dokusundaki GABA'ya tesiri incelenmek istenilmiştir. Bö-

lece elde edilecek araştırma değerlerle, oluşturulan hiperamonyeminin beyindeki GABA metabolizmasına etkisi hakkında bir fikir edinilmesi düşünülmüştür.

## MATERYEL VE METOD

Çalışmada 10'u kontrol olmak üzere toplam 40 adet 45-60 günlük Swiss albino sıçan ( $240 \pm 40$ gr) kullanıldı. Kontrol grubuna izotonik sodyum klorür infüzyonu yapılırken deney grubuna ise hiperamonyemi oluşturmak için Prior and Visek (19) tarafından bildirilen yöntem göre deri altı üreaz injeksiyonu yapıldı. Buna göre kristalin üreaz (Sigma Chemical Co.) normal serum fizyolojik içerisinde 10 mM potasyum fosfat bulunan çözeltide çözündürüldü (PH 7.4). Her hayvana öldürülmeden üç saat önce bu üreaz solüsyonundan deri altına enjekte edildi. Enjeksiyon oranı her hayvana 114 I.U. üreaz/kg vücut ağırlığı olmak üzere ayarlandı.

Hayvanlar öldürülmeden 2.5 dakika önce ölüm sonrası GABA miktarının değişmemesi için spesifik GABA inhibitörü olan 3-mercaptopropionic asit intraperitoneal olarak enjekte edildi (20). Sıçanlar dekapitasyonla öldürüldü ve beyin dokuları çıkarılarak  $-20^{\circ}$  C'de derin dondurucuda donduruldu.

Ekstraksiyon işlemi daha önce yapılan çalışmalarda bildirildiği gibi (21) kısaca şöyle yapıldı: Derin dondurucudan çıkarılan beyin dokuları çözündükten sonra tartılıp bir tüpe kondu. Üzerine 10ml 0.4 N HClO4 (buzlu), 0.1 ml %5'lik  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  ve 0.2ml %10'luk  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  solüsyonları ilave edildi. Doku, Ultra-Turrax homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Homojenat  $+4^{\circ}$  C'de 10.000g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantı alınıp filtre edildi. Ion exchange kromatografi için Atack and Magnusson (21) tarafından bildirilen sistem kullanıldı.

GABA tayini, primer amino grubun ortoformaldehid ve beta merkaptetanolla yüksek PH'da verdiği reaksiyonda yüksek floresan ürün oluşturması esasına dayanır (22). Bu şekilde hazırlanan örnek ve standart deneyler köre karşı spektrofotometrede (Perkin Elmer 100) 335nm eksitasyon ve 455nm emisyon dalga boylarında okundu.

Dekapitasyondan hemen sonra fıskıran kan bir tüpte toplandı ve santrifüjle plazması ayrılarak amonyak miktarı enzimatik yöntemle tayin edildi. Bunun için gerekli reaktifler Sigma Chemical Co.'den KİT halinde temin edildi.

İstatistiksel analizler: Student "t" testi kullanılarak kontrol ve deneysel değerler arasındaki fark araştırıldı. Ayrıca amonyak ve GABA değerleri arasındaki korelasyon da saptandı.

## BULGULAR

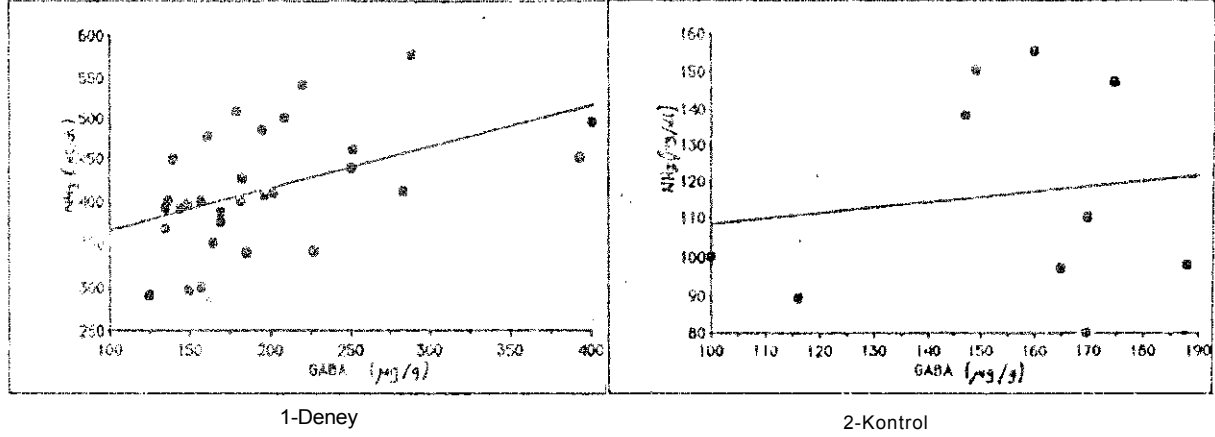
Bu çalışmada beyin dokusundaki GABA miktarları ve kan amonyak konsantrasyonları saptanarak aralarındaki ilişki incelendi.

Tablo 1. Deney ve kontrol grubu ortalama beyin GABA ve plazma amonyak miktarları

	GABA (fig/g) X±SH	Amonyak (ng/df) X±SH	r	n
Deney grubu	193.34±11.16*	418.00±12.4***	0.455	30
Kontrol grubu	154.00±6	118.38±9	0.192	10

\* : Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli (p<0.05)

\*\*\* : Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli (p<0.001)



Şekil 1.2. Kan amonyak ve beyin GABA değerleri arasındaki ilişki

Kontrol grubunda ortalama GABA miktarı 154±6 µg/g beyin dokusu olarak bulunurken, plazma amonyak konsantrasyonunun ortalama değeri 118.38±9 µg/dl idi. Bu grubun beyin GABA miktarı ile plazma amonyak konsantrasyonu arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı (r=0.192, p>0.05) (Şekil 1).

Deney grubuna üreaz enjeksiyonu yapılarak akut hiperamonyemi oluşturuldu. Hiperamonyemik grubun ortalama GABA miktarı 193.34±11.16 µg/g beyin dokusu, ortalama plazma amonyak miktarı 418±12.4 µg/dl düzeylerinde saptandı. Hiperamonyemik grupta beyin GABA miktarı ile plazma amonyak konsantrasyonu arasında istatistiksel anlamda olmamakla beraber zayıf bir ilişim saptandı (r=0.455) (Şekil 2).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında deney grubunda plazma amonyak konsantrasyonu önemli ölçüde yüksekti (t=19.84, p<0.001). Aynı şekilde hiperamonyemik grubun beyin GABA miktarları kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda olmak üzere daha yüksek bulundu (t=3.02, p<0.05).

Yukarıdaki verilere göre (Şekil 1 ve 2'de görüldüğü gibi) beyin GABA miktarı ile plazma amonyak konsantrasyonları arasında istatistiksel anlamda önemli bir ilişki bulunamamasına rağmen hiperamonyemi oluşturulduktan sonra deney grubunda GABA miktarları artmış bulunmaktadır.

## TARTIŞMA

Nöronlardaki veziküllerde bulunanın dışında, beyin omurilik sıvısı ve kanda da bir miktar GABA bulunmak-

tadır. Normal durumlarda kan dolaşımındaki GABA, kan-beyin bariyerini aşamadığı için, santral sinir sistemindeki kendi reseptörlerini etkileyemez. Ancak BOS'taki GABA'nın postsinaptik membranda bulunan kendi reseptörünü etkileyerek hiperpolarizasyon ve dolayısıyla inhibisyon yapması mümkündür. Beyin dokusundaki GABA yoğunluğu BOS'takinden yaklaşık 10.000 kat daha fazladır (23). SSS'deki GABAergik aktivite tamamen sinaptik veziküllerde bulunan GABA'ya aittir. Ancak sistemik dolaşımdaki GABA'nın herhangi bir sebepten kan beyin bariyerini aşması, ya da BOS'taki GABA miktarının artması GABAergik tonusta artışı neden olur. GABA'nın nörolinhibitör potansiyelinin iyontoforetik çalışmaları (24), karaciğer yetmezliğinde küçük bir miktar plazma GABA'sının postsinaptik nöral membrana geçerek nöronal inhibisyonu anlamlı bir şekilde etkilediğini göstermiştir. Hatta bu miktardaki GABA'nın beyin dokusunda tesbit edilemeyecek kadar az olduğu bildirilmiştir. GABA'nın akut karaciğer yetmezliğinde beyin tarafından alınımının arttığını gösteren bir çalışmada (25) yukarıdaki araştırmaya paralellik gösteren sonuçlar vermiştir.

Kan beyin bariyerinin, GABA ve diğer bazı maddelere karşı geçirgenliği, karaciğer yetmezliğinde artabileceği gibi sağlıklı deney hayvanlarına NH3 infüzyonu ya da Inhalasyonunda da (5,6) artabilmektedir. Bu sonuçlar amonyağın indirekt olarak GABAergik aktiviteye katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Mannlen ve Savolainen (6) siçanlara amonyak inhalasyonu yaptırdıktan sonra beyin dokusundaki amino asit miktarlarında önemli değişiklikler gözlemlenildi. Bu so-

nuçlara göre özellikle fhreonin ve glüteninin lineer bir şekilde artması dikkat çekmiştir. Başka bir çalışmada (26) ise amonyak infüzyonunu beyin GABA konsantrasyonunu önemli oranda arttırdığı bulunmuştur.

Köpeklerde i.v. **NH<sub>4</sub>CI** infüzyonunun pentifentetrazole karşı epilepsi eşiği üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada (27), hiperamonyeminin epileptik eşiği yükselttiği ileri sürülmüştür. Burdan NH<sub>3</sub>'ün direkt ya da indirekt olarak GABAergik tonusu arttırabileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda hiperamonyemik sıçanların beyin GABA miktarının kontrollere oranla istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) arttığını saptadık. Bugge ve ark. bir grup sıçana portokaval anastomoz diğer bir gruba ise sham operasyon yapmışlardır (26) ve her iki gruba amonyak infüzyonu yaptıklarında beyin GABA miktarının kontrollere göre önemli ölçüde arttığını saptamışlardır (sırasıyla,  $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ). Baydaş ve ark. (28) lityum verilen hiperamonyemik sıçanlarda benzer sonuçlar bildirmektedirler. Beyin dokusunda **NH<sub>3</sub>** alfa ketoglutarik asitle birleşerek glutamik asit oluşturmaktadır.

Basile ve Gammal (8) karaciğer yetmezliğinde beyin GABA konsantrasyonunun GABAergik tonus ile beraber artabileceğini fakat bir çok kompensatuvar mekanizmanın bunda rol oynayabileceğini ileri sürmektedir. Burada özellikle GABA katabolizmasının artmasından bahsedilmektedir.

Lityum verilen sıçanlarda GABA miktarının normalin 3 katına kadar çıktığı ve bu artışın da kısmen lityumun Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitesini inhibe ederek GABA geri alımını bozması sonucu meydana geldiği bildirilmiştir (29). Aynı şekilde yüksek konsantrasyondaki amonyağın da Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitesini bozduğu bilinmektedir (4,30,31). Şu halde amonyağın GABA geri alımını bozması muhtemel olup GABA konsantrasyonunu arttırması olasıdır.

Glutamin sentetaz enzim inhibitörü olan methionin sulfoximin ya da lityum verilmesinden sonra (29,32) veyahut da hiperamonyemide astrositlerde glutamine dönüşmesi gereken NH<sub>3</sub>'ün bir kısmı glutamin sentetazın yetersizliğinden dolayı kana geri döner, ya da nöronlara geçerek glutamata dönüşür. Nöronal glutamat ise GABA sentezinde kullanılır. Hiperamonyemide beyin enerji dengesi bozulur ve ATP sentezi azalır (33). Aşırı amonyak yoğunluğu normal elektrofizyolojik ve nörotransmitter fonksiyonu, hücrel morfolojiyi, kan-beyin bariyerinin özelliklerini, membran bütünlüğünü, osmoregülasyonu ve birçok biyokimyasal yolu etkiler (34). Bunların tümü indirekt olarak serebral enerji metabolizmasını bozar. Glutamin sentezinin artması serebral ATP miktarını azaltır. GABA geri alımı ATP enerjisi kullanarak aktif transportla gerçekleştiğine göre, hiperamonyemide ATP'nin azalması hem glutamat ve GABA'nın geri alımını azaltır, hem de glutamin sentetazın aktivasyonunun azalmasına neden olur. Bu durum bir taraftan GABAergik inhibitör etkinin uzamasını sağlarken, öte yandan daha fazla amonyağın nöronlarda

glutamaf-glutamin, ya da glutamat-GABA yolunu izlemesine neden olabilir.

Hepatik yetmezliğin son aşamalarında ensefalopatiye neden olan primer etkenin saptanmasına yönelik birçok çalışmada (7,9,10,14) serum ve beyin omurilik sıvısı GABA miktarlarının artmış olduğu bildirilmiştir. Bu artışın nedeni çoğunlukla barsak florası tarafından sentezlenen GABA'nın dolaşım sistemine ve oradan permeabl olan kan beyin bariyerini geçerek BOS'a ulaşması olarak yorumlanmıştır.

Amonyanın sodyum ve potasyum metabolizmasını bozduğu bilindiğine göre, fazla amonyak aynı zamanda bu yolla GABA ve glutamik asitin metabolizmasını da değiştirerek muhtemelen, hem GABA'nın nöroinhibtör etkisini artırır hem de katabolizmasını yavaşlatır.

Sonuç olarak; hiperamonyemide GABA metabolizması dört değişik yoldan etkilenmektedir. Bunlar:

1. Yüksek konsantrasyondaki NH<sub>3</sub>, glutamine dönüşerek sistemik dolaşıma geçer. Buna karşılık bazı amino asitler kan beyin bariyerini geçerek (kotransport) santral sinir sisteminin nörotransmitter dengesini bozarlar.
2. Beyin dokusunda **NH<sub>3</sub>** miktarının aşırı artması glutamine dönüşüm kapasitesini aşacağından amonyağın bir kısmı nöronlara geçerek glutamik asit oluşturur, bu ise GABA sentezi için temel kaynaktır.
3. Artan amonyak, beyinde iyon (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>) dengesini bozarak GABA reuptake'ini azaltır.
4. Beyin amonyak konsantrasyonunun artması sonucu beyin enerji dengesi bozulur (34) ve GABA'nın geri alımı yavaşlar

Yukarıda sıralanan sonuçlara göre, akut (amonyak ya da üreaz injeksiyonuyla) veya kronik (portokaval anastomoz ile) olarak oluşan hiperamonyemide GABA'nın nöroinhibtör potansiyeli artmakta ve bu da ensefalopatinin muhtemelen primer etkeni olmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Berne RM and Levy MN. Physiology, second edition. Washington: The CV Mosby Company, 1938.
2. Skolnick P. Paul SM Benzodiazepine receptors in the central nervous system. Int Rev Neurobiol 1982; 23:103-40.
3. Fraser CL. Arieff AI. Hepatic encephalopathy. New England J Med 1985; 313(14):885-71,
4. Crossley IB, Wardle EN, Williams R. Biochemical mechanism of hepatic encephalopathy. Clin Sci 1983; 64:247-52.
5. Pick TE, Schalm SW, Uliger M Continuous intravenous ammonia infusion as a model for the study of hepatic encephalopathy in rabbits. J Surgical Research 1989; 46:221-5.
6. Manninen ATA, Savolainen H. Effect of short-term ammonia inhalation on selected amino acids in rat brain 1989; 3(64):244-6.

7. Jones EA, Gammal SH and Martin P. Hepatic encephalopathy new light on an old problem. *Quarterly J Medicine* 1988; 69(259):851-67.
8. Basils AS, Gammal SH. Evidence for the involvement of the benzodiazepine receptor complex in hepatic encephalopathy. *Clin Neuropharmacol* 1988; 11 (5):401-22.
9. Ferenc P, Schafer DF, Kleinberger G, et al. Serum levels of gamma aminobutyric acid-like activity in acute and chronic hepatocellular disease. *Lancet* 1983; 11:811 -4.
10. Schafer DF, Jones EA. Hepatic encephalopathy on the  $\gamma$ -aminobutyric acid neurotransmitter system. *Lancet* 1982; 1:18-20.
11. Horowitz ME, Schafer DF, Molnar P, et al. Increased blood brain transfer in a rabbit model of acute liver failure. *Gastroenterol* 1983; 84:1003-11.
12. Traber PG, Canto MD, Ganger DR, et al. Electron microscopic evaluation of brain edema in rabbits with galactosamine-induced fulminant hepatic failure: Ultrastructure and Integrity of blood- brain barrier. *Hepatology* 1987; 7(6):1272-77.
13. Schafer DF, Thakur AK, Jones EA. Acute hepatic coma and inhibitory neurotransmission: Increase in  $\gamma$ -aminobutyric acid levels in plasma and receptors in brain. *Gastroenterol* 1980; 79:1223.
14. Minuk GY, Winder A, Burgess ED. Serum gamma aminobutyric acid (GABA) levels in patients with hepatic encephalopathy. *Hepatogastroenterol* 1985; 32:171-4.
15. Ferreire MR, Gammal SH and Jones EA. Hepatic encephalopathy (HE): Evidence of increased GABA-mediated neurotransmission in a rat model of fulminant hepatic failure (FHF). *Gastroenterol* 1988; 94, A516 (abstr).
16. Schafer DF, Fowler JM, Munson PJ, et al. Gamma -aminobutyric acid and benzodiazepine receptors in an animal model of fulminant hepatic failure. *J Lab Clin Med* 1983; 102:870-89.
17. Lockwood AH, McDonald JM, Reiman RE. The dynamics of ammonia metabolism in man: effects of liver disease and hyperammonemia. *J Clin Invest* 1979; 63:449-60.
18. Yamamoto H, Konno H, Yamamoto T, et al. Glutamine synthetase of the human brain: purification and characterization. *J Neurochem* 1987; 49:603-9.
19. Prior RL and Visek WJ. Effects of urea hydrolysis on tissue metabolite concentrations in rat. *Am J Physiol* 1972; 223:1143-49.
20. Van der Heyden JAM, Korf J. Regional levels of GABA in the brain: rapid semiautomated assay and prevention of postmortem increase by 3-mercaptopropionic acid. *J Neurochem* 1978; 31M97-209.
21. Atack C and Magnusson T. A procedure for the isolation of horadrenaline (together with adrenaline) dopamine, 5-hydroxytryptamine and histamine from the same tissue sample using a single column of strongly acidic cation exchange resin. *Acta Pharmacol et Toxicol* 1978; 42:35-57.
22. Lindgren S, Anden NE, Grabowska-Anden M. A fluorimetric method for determination of GABA in tissues following cation exchange chromatography and condensation with o-phthalaldehyde. *J Neural Transmission* 1982; 55:243-52.
23. Moroni F, Riggio O, Carla V et al. Hepatic encephalopathy: Lack of changes of  $\gamma$ -aminobutyric acid content in plasma and cerebrospinal fluid. *Hepatology* 1987; 7(4):816/820.
24. Krnjevic K. Chemical nature of synaptic transmission in vertebrates. *Physiol Rev* 1974; 54:418-540.
25. Bassett ML, Mullen KD, Scholz B, et al. Increased brain uptake of  $\gamma$ -aminobutyric acid in a rabbit model of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol* 1990; 980:747-57.
26. Bugge M, Bengtsson F, Nobin A, et al. The effect of ammonia infusion on brain monoamine metabolism in portacaval-shunted rats. *Experimental Med* 1989; 189(2):101-11.
27. Ankan MK, Türkoğlu A, Bulut S, Baydaş G, Arslan İN. Hiperamonyemi epileptik eşik ilişkisi için bir deneysel çalışma. *Türkiye Klinikleri Tıp Bil. Araştırma Dergisi* 1990; 8(1):47-51.
28. Baydaş G, Türkoğlu A, Karakılıç Z, et al. Effect of lithium on the metabolism of GABA in the hyperammonemic rat. *Doğa Türk Sağlık Bilimleri Dergisi'nde basılmak üzere kabul edilmiştir.*
29. Marcus SR, Nadiger HA, Chandrakala MU, et al. Acute and short-term effect of lithium on glutamate metabolism in rat brain. *Biochem Pharmacol* 1986; 35(3):365-9.
30. Schenker S, McCandlas DW, Brophy E. Studies on intracerebral toxicity of ammonia. *J Clin Invest* 1967; 46:838-48.
31. Lux HD, Loracher C and Neher E. The action of ammonium of postsynaptic inhibition of cat spinal motoneurons. *Exp Brain Res* 1970; 11:431-9.
32. Cooper AJL, McDonald JM, Gelbard AS, et al. The metabolic fate of <sup>13</sup>N- labeled ammonia in rat brain. *J Biological Chem* 1979; 254(12):4982-92.
33. Cooper AJL, Lai JCK and Gelbard AS. Ammonia and energy metabolism in normal and hyperammonemic rat brain. *The biochemical Pathology of Astrocytes* 1988; 419-34, Alan R. Liss, Inc.
34. Cooper AJL and Plum F. Biochemistry and physiology of brain ammonia. *Physiol Rev* 1987; 67:440-529.