

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, ALICJA PRONASZKO-KURCZYŃSKA,  
JACEK RÓZGA, RAFAŁ PALUSZKIEWICZ

WPŁYW  $\alpha$ -OKSOGLUTARANU NA ROZWÓJ GLIOPATII  
WĄTROBOWEJ U SZCZURÓW Z ZESPOLENIEM  
WROTNÓ-UKŁADOWYM

DONIESIENIE WSTĘPNE

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
Kierownik Zespołu: prof. dr med. M. J. Mossakowski

W cyklu prac poświęconych gliopatii wątrobowej wykazano, że patologiczne postaci gleju astrocytarnego, charakterystyczne dla choroby Wilsona i encefalopatii pochodzenia wątrobowego rozwijają się w pozaustrojowej hodowli tkanki nerwowej zarówno pod wpływem egzogennych soli miedzi i amoniaku jak i środków hamujących aktywność enzymów cyklu kwasów trójkarboksylowych (Mossakowski i wsp. 1970a, Renkawek i wsp. 1973). Równocześnie stwierdzono, że penicylamina, środek stosowany w leczeniu choroby Wilsona, hamuje rozwój gliopatii wywołanej przez zastosowanie surowic od chorych ze zwyrodnieniem wątrobowo-soczewkowym i egzogennych soli miedzi, pozostając bez wpływu na gliopatie, stanowiące następstwo działania egzogennych soli amoniaku (Mossakowski i wsp. 1976). Glutaminian osłabiał wprawdzie efekt działania wszystkich stosowanych czynników uszkodzających, jednakże działanie jego było niekompletne (Mossakowski i wsp. 1975). Pełny efekt hamujący rozwój gliopatii wątrobowej *in vitro* uzyskano jedynie przy stosowaniu  $\alpha$ -oksoglutaranu (Renkawek i wsp. 1973). W oparciu o powyższe obserwacje wysunięto hipotezę, że u podstaw metabolicznego uszkodzenia gleju, niezależnie od rodzaju bezpośredniego czynnika patogenetycznego leży upośledzenie detoksykacji amoniaku, związane ze względnym lub bezwzględnym niedoborem endogenego  $\alpha$ -oksoglutaranu, stanowiącego wyjściowe ogniwo metabolizmu amoniaku do glutaminy (Mossakowski 1974).

Celem podjętych badań było sprawdzenie powyższej hipotezy, opartej o spostrzeżenia *in vitro*, na doświadczalnym materiale *in vivo*. Badania

przeprowadzono na modelu doświadczalnej encefalopatii wywołanej przez wytworzenie przetoki między żyłą wrotną i żyłą główną dolną, stanowiącej odpowiednik występującej u ludzi encefalopatii wrotno-układowej (Mc Dermotte, Adams 1954). Model ten opracowany i scharakteryzowany przez Kyu i Cavanagha (1970) wydawał się szczególnie użyteczny, ponieważ występujące w nim strukturalne nieprawidłowości w ośrodkowym układzie nerwowym, ograniczają się do zmian gleju astrocytarnego, wyrażających się występowaniem komórek Alzheimer'a typu II (Cavanagh, Kyu 1971a).

#### MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na szczurach szczepu Wistar, 2,5-miesięcznych samcach o ciężarze ciała około 300 g.

U wszystkich zwierząt doświadczalnych, w głębokiej narkozie eterowej wykonywano zespolenie żyły wrotnej z żyłą główną dolną w sposób opisany szczegółowo w pracy Róźgi i Paluszkiewicza (w przygotowaniu).

Zwierzęta doświadczalne podzielono na dwie grupy — właściwą grupę doświadczalną (grupa I) i grupę kontrolną (grupa II). Grupa I obejmowała 6 zwierząt, które od 3 dnia po zabiegu operacyjnym, przez okres 7 tygodni, otrzymywały dootrzewnowe iniekcje  $\alpha$ -oksoglutaranu w dawce 14,1 mg/100 g ciężaru ciała, rozpuszczonego w 0,5 ml wody destylowanej. Dawkę  $\alpha$ -oksoglutaranu opracowano w oparciu o równanie reakcji chemicznej glutaminian- $\alpha$ -oksoglutaran (Caughey i wsp. 1957) oraz o dane dotyczące stężenia  $\alpha$ -oksoglutaranu w mózgu zdrowych szczurów (Shorey i wsp. 1967). Iniekcje podawano codziennie. Grupa II składała się z 7 zwierząt, które przez ten sam okres czasu otrzymywały dootrzewnowe iniekcje samego rozpuszczalnika. Wszystkim zwierzętom grupy I oraz 4 zwierzętom grupy II po upływie 7 tygodni wykonano przezsercową perfuzję 10% roztworem formaliny, poprzedzoną krótkotrwałą perfuzją roztworem fizjologicznym soli. Trzy zwierzęta grupy II uśpiono w sposób analogiczny po upływie 10 tygodni od zabiegu operacyjnego. Przedłużenie czasu przeżycia miało na celu ocenę różnicy w nasileniu zmian patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym, uwarunkowanej dłuższym okresem funkcjonowania przetoki żyłnej.

U większości zwierząt grupy I i II bezpośrednio przed perfuzją pobierano próbki krwi, w celu oznaczenia poziomu amoniaku. Krew pobierano wprost z serca, przy użyciu heparynizowanej strzykawki i natychmiast wirowano. Poziom amoniaku w surowicy krwi oznaczano metodą kolorymetryczną w oparciu o testowy zestaw odczynników firmy Hyland (Hyland Blood Ammonia Test — Mondzac i wsp. 1965). Próbki odczytywano na kolorymetrze Specol przy długości fali 630 nm, a wyniki po-

równywano z krzywą wzorcową. Stężenie amoniaku we krwi wyrażano w  $\mu\text{g}/100$  ml surowicy.

Materiał doświadczalny uzupełniono 3 zwierzętami, u których nie wykonywano żadnego zabiegu, poza codziennym podawaniem przez okres 7 tygodni dootrzewnowych iniekcji 0,5 ml wody/100 g ciężaru ciała. U zwierząt tej grupy, zabijanych w sposób identyczny jak w grupach doświadczalnych wykonywano również oznaczenie poziomu amoniaku we krwi i badanie histopatologiczne ośrodkowego układu nerwowego.

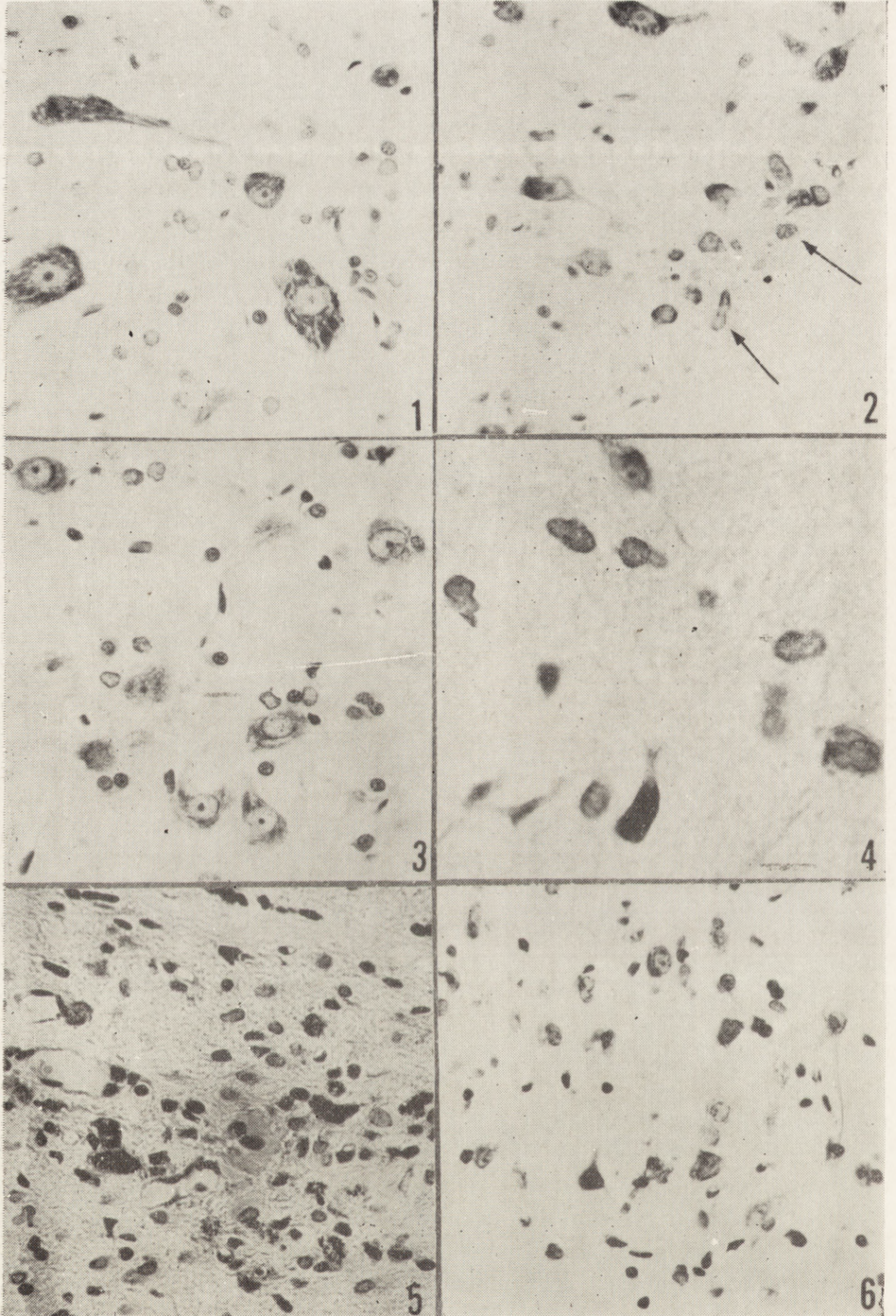
Utrwalone drogą perfuzji mózgi krojono na bloki, obejmujące korę mózgu, istotę białą podkorową oraz różne poziomy jąder podstawy, a ponadto rdzeń przedłużony i mózdzek. Parafinowe skrawki tkankowe barwiono hematoksyliną-eozyną i fioletem krezyłu oraz na osłonki mielino-we metodą Heidenhaina.

#### WYNIKI

Stężenie amoniaku we krwi u szczurów nie poddanych zabiegowi operacyjnemu wynosiło poniżej 100  $\mu\text{g}/100$  ml surowicy. Obraz morfologiczny mózgu nie wykazywał żadnych nieprawidłowości.

Stężenie amoniaku we krwi zwierząt z wykonaną przetoką żylną, które przez okres 7 tygodni otrzymywały dootrzewnowe iniekcje wody destylowanej wynosiło średnio 325,5  $\mu\text{g}/100$  ml surowicy, a u zwierząt z 10-tygodniowym przeżyciem zamykało się w granicach od 113,5—155,0  $\mu\text{g}/100$  ml surowicy.

W obrazie histopatologicznym mózgu zwracało uwagę nieznaczne zwiększenie liczby jąder komórek glejowych, które w oparciu o ich strukturę morfologiczną identyfikowano jako jądra astrocytów. Liczne spośród nich, zwłaszcza w prążkowie, wzgórzu, jądrze zębatym mózdzku oraz w jądrach ruchowych opuszki były znacznie powiększone i całkowicie lub prawie całkowicie pozbawione ziarnistości chromatynowych (ryc. 1). Swoją strukturą odpowiadały one obrazowi komórek Alzheimer'a typu II. Znaczna część patologicznych jąder glejowych miała nieregularny kształt i obrysy (ryc. 2), do rzadkości jednak należało pofałdowanie błony jądrowej, uznane przez Cavanagha i Kyu (1971) za zjawisko charakterystyczne dla doświadczalnej encefalopatii wątrobowej uzyskanej przez zespolenie żyły wrotnej z żyłą główną dolną. Mniej nasilone zmiany w obrazie jąder astrocytów stwierdzono ponadto w korze mózgu i w zwoju hipokampa. Nieprawidłowościom w obrazie jąder astrocytarnych towarzyszyły delikatne, rozsiane zmiany zwyrodnieniowe komórek nerwowych, wyrażające się chromatolizą cytoplazmy dużych neuronów prążkowie i wzgórza, oraz komórek piramidowych kory mózgu. Osłonki



mielinowe i jądra oligodendrogleju nie wykazywały nieprawidłowości strukturalnych.

W mózgach zwierząt usypianych po upływie 10 tygodni od zabiegu operacyjnego, zmiany morfologiczne miały identyczny charakter, były jednak bardziej nasilone. Nieprawidłowe jądra astrocytarne (ryc. 3) występowały obficie nie tylko w prążkowi, wzgórzu, jądrze zębatym i jądrach ruchowych opuszki, lecz także w głębokich warstwach kory, a nawet w podkorowej istocie białej. W przybliżeniu ponad połowę populacji komórek glejowych w wymienionych strukturach mózgu stanowiły ich nieprawidłowe postaci, o obrazie komórek Alzheimera typu II lub form do nich zbliżonych, podczas gdy u zwierząt z 7-tygodniowym przeżyciem pooperacyjnym dochodziły one jedynie do około 30%. Jądra astrocytarne z charakterystycznym pofałdowaniem błony jądrowej, aczkolwiek liczniejsze niż w grupie zwierząt z 7-tygodniowym przeżyciem (ryc. 4) nie stanowiły zjawiska dominującego w obrazie neuropatologicznym.

W jednym przypadku, w otoczeniu ogniskowego uszkodzenia mózgu pochodzenia prawdopodobnie urazowego, stwierdzono pojedyncze ko-

*Ryc. 1.* Liczne komórki Alzheimera typu II w jądrze ruchowym opuszki. Szczur z 7-tygodniowym przeżyciem po zespoleniu wrotno-układowym. Fiolet krezyłu. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 1.* Numerous type II Alzheimer cells in bulbar motor nucleus. Rat's survival 7 weeks after porto-systemic anastomosis. Cresyl violet.  $\times$  400.

*Ryc. 2.* Pofałdowanie jąder gleju Alzheimera typu II (strzałki). Szczur z 7-tygodniowym przeżyciem po zespoleniu wrotno-układowym. Fiolet krezyłu. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 2.* Foldings of nuclear membranes in Alzheimer type II cells (arrows). Rat's survival 7 weeks after porto-systemic anastomosis. Cresyl violet.  $\times$  400.

*Ryc. 3.* Liczne nagie jądra we wzgórzu. Szczur z 10-tygodniowym przeżyciem po zespoleniu wrotno-układowym. Fiolet krezyłu. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 3.* Numerous naked nuclei in thalamus. Rat's survival 10 weeks after porto-systemic anastomosis. Cresyl violet.  $\times$  400.

*Ryc. 4.* Znaczne pofałdowanie błon jądrowych komórek Alzheimera typu II w jądrze zębatym mózdzku. Szczur z 10-tygodniowym przeżyciem po zespoleniu wrotno-układowym. Fiolet krezyłu. Pow. 1200  $\times$ .

*Fig. 4.* Marked foldings of nuclear membranes in Alzheimer type II cells in the dentate nucleus. Rat's survival 10 weeks after porto-systemic anastomosis. Cresyl violet.  $\times$  1200.

*Ryc. 5.* Komórka Alzheimera typu I w bliznie glejowej. Szczur z 10-tygodniowym przeżyciem po zespoleniu wrotno-układowym. Fiolet krezyłu. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 5.* Alzheimer cell type I in glial scar. Survival of rat 10 weeks after porto-systemic anastomosis. Cresyl violet.  $\times$  400.

*Ryc. 6.* Pojedyncze komórki Alzheimera typu II w jądrze zębatym mózdzku. Szczur z 7-tygodniowym podawaniem  $\alpha$ -oksooglutaranu. Fiolet krezyłu. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 6.* A few Alzheimer type II cells in dentate nucleus. Administration of  $\alpha$ -oxoglutarate for 7 weeks. Cresyl violet.  $\times$  400.

mórki o dużej, jasnej, homogennej, nieregularnej cytoplazmie z obwodowo położonym, pojedynczym jądrem, przypominające komórki Alzheimera typu I (ryc. 5).

Stężenie amoniaku we krwi zwierząt z zespoleniem żylnym, które przez okres 7 tygodni otrzymywały dootrzewnowe iniekcje  $\alpha$ -oksoglutaranu wahało się w granicach od 327,0  $\mu\text{g}\%$  do 199,0  $\mu\text{g}\%$ . U jednego szczura wynosiło 119,0  $\mu\text{g}/100$  ml surowicy.

W obrazie morfologicznym ośrodkowego układu nerwowego stwierdzono również występowanie nieprawidłowości w strukturze jąder astrogleju. Były one jednak ograniczone wyłącznie do prążkowania, wzgórze, jąder ruchowych opuszki i jądra zębatego mózdzku. Ilość typowych komórek Alzheimera typu II była znacznie mniejsza (ryc. 6). Na ogół występowały one w pojedynczych egzemplarzach. Przy największym nawet nasileniu zmian nie przekraczały około 5 — 7% populacji glejowej zajętych formacji ośrodkowego układu nerwowego. Pozostałe elementy strukturalne tkanki nerwowej były niezmienione.

#### DYSKUSJA

Przedstawione wyniki badań, ze względu na szczupłość materiału doświadczalnego, ograniczenie obserwacji do jednej wyłącznie grupy czasowej i brak dokładnej analizy ilościowej nie pozwalają na wyciąganie jednoznacznych wniosków co do hamującego wpływu  $\alpha$ -oksoglutaranu na rozwój gliopatii wątrobowej w warunkach *in situ*. Mogą one być jedynie traktowane jako spostrzeżenia wstępne, określające kierunek dalszych badań.

Wskazują one jednakże w sposób niewątpliwy, że operacyjne wytworzenie przetoki między żyłą wrotną i główną dolną prowadzi do rozwoju zespołu encefalopatii wątrobowej, w której obrazie morfologicznym dominuje uszkodzenie gleju astrocytarnego. Potwierdza to poprzednie spostrzeżenia uzyskane zarówno na materiale klinicznym jak i w modelach doświadczalnych (Mossakowski 1966 a, 1966b, Mossakowski i wsp. 1970b), wskazujące że u podłoża zespołu encefalopatii pochodzenia wątrobowego leży pierwotne uszkodzenie astrocytów, a zmiany patologiczne innych elementów strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego mają charakter wtórny.

Uzyskany obraz morfologiczny nieprawidłowości strukturalnych jąder astrocytarnych stanowi potwierdzenie spostrzeżeń Cavanagha i Kyu (1971a) mimo pewnych odrębności dotyczących, zarówno charakteru zmian jak i ich rozmieszczenia w ośrodkowym układzie nerwowym. Cavanagh i Kyu (1971a) w oparciu o bardzo dokładne badania planime-

tryczne podkreślają, że najistotniejszym wykładnikiem nieprawidłowości jąder astrocytarnych obok powiększenia ich rozmiarów są zmiany kształtu, wyrażające się policyklicznymi zarysami błony jądrowej i ich płatowatością. Obrazy te występujące również w naszym materiale nie stanowiły elementu dominującego. Przeważało natomiast powiększenie jąder, ich różnokształtność oraz zanik chromatyny jądrowej. Źródło tych różnic jest niejasne, nie wydaje się jednak, że należy je odnieść wyłącznie do odmienności gatunkowej użytych w doświadczeniu zwierząt. Stwierdzany u zwierząt doświadczalnych wzrost zawartości amoniaku we krwi osiągał w naszym materiale wartości tego samego rzędu co w doświadczeniach Cavanagha i Kyu (1971a), ograniczony był natomiast czas przeżycia zwierząt po zabiegu operacyjnym. Nie można więc wykluczyć, że skrócenie czasu obserwacji, wynikające z założenia pracy, może być odpowiedzialne za niewykształcenie się zmian o nasileniu i charakterze, opisanym przez Cavanagha i Kyu (1971a). W materiale naszym nie potwierdziła się bezpośrednia zależność między nasileniem zmian morfologicznych gleju, a stężeniem amoniaku we krwi. U zwierząt z 10-tygodniowym przeżyciem po zabiegu operacyjnym mimo niższego poziomu amoniaku niż u zwierząt z 7-tygodniowym przeżyciem nasilenie nieprawidłowości strukturalnych astrogleju było większe. Na podkreślenie zasługuje natomiast zbieżność naszych obserwacji z innymi spostrzeżeniami Cavanagha i Kyu (1971b), dotyczącymi powstawania komórek glejowych przypominających glej Alzheimera typu I. Zjawiska tego nie obserwowano w żadnym innym doświadczalnym modelu encefalopatii wątrobowej (Mossakowski 1966b, Mossakowski i wsp. 1970b). Należało ono również do rzadkości w doświadczeniach *in vitro* (Mossakowski i wsp. 1970a).

Mimo wyrażonych na wstępie zastrzeżeń co do wyciągania jednoznacznych wniosków z przedstawionych spostrzeżeń, wydaje się, że wskazują one na fakt, że  $\alpha$ -oksoglutaran stosowany w doświadczeniu *in vivo*, może podobnie jak w warunkach *in vitro*, wywierać działanie hamujące na rozwój gliopatii wątrobowej. Przemawiają za tym różnice obrazu morfologicznego zwierząt grupy I i II. Brak pełnego efektu osłaniającego być może należy odnieść do zbyt niskiej dawki substancji. Zagadnienie to rozstrzygną doświadczenia ze zróżnicowanym dawkowaniem  $\alpha$ -oksoglutaranu. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że przy stosowaniu  $\alpha$ -oksoglutaranu, zmiany patologiczne gleju były wyraźnie mniejsze niż w grupie zwierząt kontrolnych, przy jednakowym zasadniczo poziomie amoniaku we krwi. Sugeruje to, że osłaniający wpływ  $\alpha$ -oksoglutaranu może wynikać z jego uczestnictwa w metabolizmie amoniaku w tkance nerwowej. W tym też zakresie przedstawione obserwacje mogą potwierdzać wysuniętą poprzednio hipotezę o mechanizmie uszkodzeń tkankowych w encefalopatiach pochodzenia wątrobowego.

М. Я. Моссаковский, А. Пронашко-Курчиньска, Я. Рuzга, Р. Палюшкевич

## ВЛИЯНИЕ $\alpha$ -ОКСОГЛУТАРАТА НА РАЗВИТИЕ ГЕПАТОГЕННОЙ ГЛИОПАТИИ У КРЫС С ВОРОТНО-СИСТЕМНЫМ АНАСТОМОЗОМ

### Резюме

Проведена предварительная оценка влияния  $\alpha$ -оксоглутарата на развитие гепатогенной глиопатии у крыс с фистулой между воротной и нижней поллой венами.

Установлено, что экспериментальное образование воротно-системной фистулы приводит в течение 7—10 недель к развитию гепатогенной энцефалопатии, выраженной в морфологической картине мозга наличием многочисленных клеток Альцгеймера типа II, появляющихся в полосатом теле, зрительном бугре, зубчатом ядре мозжечка и в двигательных ядрах луковицы, а в меньшей степени — в коре мозга и подкорковом белом веществе. Уровень аммиака в крови достигал в среднем 325 мкг%. При 7-недельной даче  $\alpha$ -оксоглутарата в дозе 14,1 мг на 100 г веса тела изменения в мозгу были значительно менее сильными и ограничивались полосатым телом, зрительным бугром и двигательными ядрами луковицы. Уровень аммиака в крови находился в границах 199,0—327,0 мкг%. Снижение интенсивности патологических изменений астроцитарной глии при использовании  $\alpha$ -оксоглутарата указывает на то, что он может оказывать защитное действие при развитии гепатогенной энцефалопатии в условиях *in vivo*. Отсутствие влияния на уровень аммиака в крови позволяет предположить, что защитное действие  $\alpha$ -оксоглутарата может быть следствием его участия в метаболизме аммиака в нервной ткани.

M. J. Mossakowski, A. Pronaszko-Kurczyńska, J. Różga, R. Paluszkiwicz

## EFFECT OF $\alpha$ -OXOGLUTARATE ON THE DEVELOPMENT OF HEPATOGENIC GLIOPATHY IN RATS WITH PORTO-CAVAL SHUNT

### Preliminary report

### Summary

Preliminary estimation of the effect of  $\alpha$ -oxoglutarate on the development of hepatogenic gliopathy in rats with porto-caval shunt was performed.

It was found that experimentally produced porto-systemic anastomosis of 7—10 weeks duration results in the development of hepatogenic encephalopathy expressed morphologically in the brain by the appearance of numerous, type II Alzheimer cells in striatum, thalamus, cerebellar dentate nucleus and in the bulbar motor nuclei, and to a lesser degree in cerebral cortex and in subcortical white matter. Ammonia level in the blood reached mean values 325  $\mu$ g%. When  $\alpha$ -oxoglutarate was administered for 7 weeks in a dose 14.1 mg/100 g of body weight, the cerebral changes were less marked and were limited to striatum, thalamus, bulbar motor nuclei and dentate nucleus. In blood — ammonia level was 327.0  $\mu$ g% — 199.0  $\mu$ g%. Reduced intensity of pathological changes in astroglia after  $\alpha$ -oxoglutarate application points to the possible protective action of the compound against the development of hepatogenic encephalopathy in *in vivo* conditions. Lack of the effects of the drug on the ammonia level in the blood may suggest that the protective effect of  $\alpha$ -oxoglutarate can result from its participation in ammonia metabolism in the nerve tissue.



## PISMIENICTWO

1. Caughey W. S., Smiley D., Hellerman L.:  $\alpha$ -glutamic acid dehydrogenase: structural requirements for substrate competition: effect of thyroxine. *J. Biol. Chem.* 1957, 224, 591 — 607.
2. Cavanagh J. B., Kyu M. H.: Type II Alzheimer changes experimentally produced in astrocytes in the rat. *J. neurol. Sci.* 1971a, 12, 63 — 75.
3. Cavanagh J. B., Kyu M. H.: On the mechanism of type I Alzheimer abnormality in the nuclei of astrocytes. *J. neurol. Sci.* 1971b, 12, 241 — 261.
4. Kyu M. H., Cavanagh J. B.: Some effects of porto-caval anastomosis in the male rat. *Brit. exp. Path.* 1970, 51, 217 — 227.
5. Mondzac A., Ehrlich G. E., Seegmiller J. E.: An enzymatic determination of ammonia in biological fluids. *J. Lab. Clin. Med.* 1965, 66, 526.
6. McDermotte W. Y., Adams R. D.: Episodic stupor associated with Eck fistula in the human with particular reference to the metabolism of ammonia. *J. clin. Invest.* 1954, 88, 1 — 9.
7. Mossakowski M. J.: Some aspects of the morphology and histochemistry of the cerebral changes in hepatic coma. *Proc. V. Intern. Congres Neuropath., Zürich 1965*, Elsevier, Amsterdam 1966a, 981 — 986.
8. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. *Neuropat. Pol.* 1966b, 4, 231 — 304.
9. Mossakowski M. J.: Badania nad patogenezą uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego w chorobach wątroby. Referat na Sesji Plenarnej Wydziału Nauk Medycznych PAN, 1974 (maszynopis).
10. Mossakowski M. J., Renkawek K., Kraśnicka Z., Śmiałek M., Pronaszko A.: Morphology and histochemistry of Wilsonian and hepatogenic gliopathy in tissue culture. *Acta neuropath. (Berl.)* 1970a, 16, 1 — 16.
11. Mossakowski M. J., Śmiałek M., Pronaszko A.: Zaburzenia przepuszczalności naczyń krwionośnych w mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1970b, 8, 365 — 374.
12. Mossakowski M. J., Kraśnicka Z., Renkawek K.: Effect of sodium glutamate on the morphology and histochemistry of the experimental gliopathy induced in vitro by ammonia and sodium malonate. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 1 — 9.
13. Mossakowski M. J., Kraśnicka Z., Gajkowska B.: Wpływ penicylaminy na obraz gliopatii wątrobowej w hodowli tkankowej. *Neuropat. Pol.* 1977, 15, 57 — 74.
14. Renkawek K., Kraśnicka Z., Majdecki T., Mossakowski M. J.: Glial changes induced in vitro by the inhibition of succinic dehydrogenase. *Acta neuropath. (Berl.)* 1973, 26, 107 — 114.
15. Rózga J., Paluszkievicz R.: Technika operacyjna zespolenia żyły wrotnej i żyły głównej dolnej u szczurów. Praca w przygotowaniu — 1977.
16. Shorey J., McCandless D., Schenker S.: Cerebral  $\alpha$ -ketoglutarate in ammonia intoxication. *Gastroenterology* 1967, 53, 706 — 711.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.