

S-adenosylmethionin a játra

Halka Lotková, Zuzana Červinková, Otto Kučera

Ústav fyziologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové / Department of Physiology, Charles University in Praha, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Czech Republic

Lotková H, Červinková Z, Kučera O. S-adenosylmethionin a játra. *Folia Gastroenterol Hepatol* 2006; 4 (4): 150 – 156.

Souhrn. S-adenosylmethionin (SAME) je látka produkovaná v cytosolu prakticky všech lidských buněk, hlavním místem syntézy a degradace SAME jsou však játra. SAME se podílí na řadě reakcí, které vedou mimo jiné k udržování fluidity membrán a tvorbě významného buněčného antioxidantu glutathionu. Jaterní onemocnění jsou velmi často provázena poklesem SAME v buňkách, který má řadu příčin. Podávání SAME pak může různými mechanismy působit preventivně proti poškození jaterních buněk a rozvoji jaterního onemocnění.

Klíčová slova: S – adenosylmethionin, methioninadenosyltransferáza, játra, hepatocyty

Lotková H, Červinková Z, Kučera O. S-adenosylmethionine and the liver. *Folia Gastroenterol Hepatol* 2006; 4 (4): 150 – 156.

Abstract. Although S-adenosylmethionine (SAME) is a substance produced in cytosol in almost all human cells, SAME is mainly synthesized in the liver. SAME plays a role in numerous metabolic reactions including synthesis of glutathione, the main cellular antioxidant, and methylations whereby membrane stability is restored. Liver diseases are frequently accompanied with decrease in SAME content in the cells resulting from a variety of causes. Then treatment with SAME can prevent hepatocyte injury and progression of liver disease by different mechanisms.

Key words: S-adenosylmethionine, methioninadenosyltransferase, liver, hepatocytes

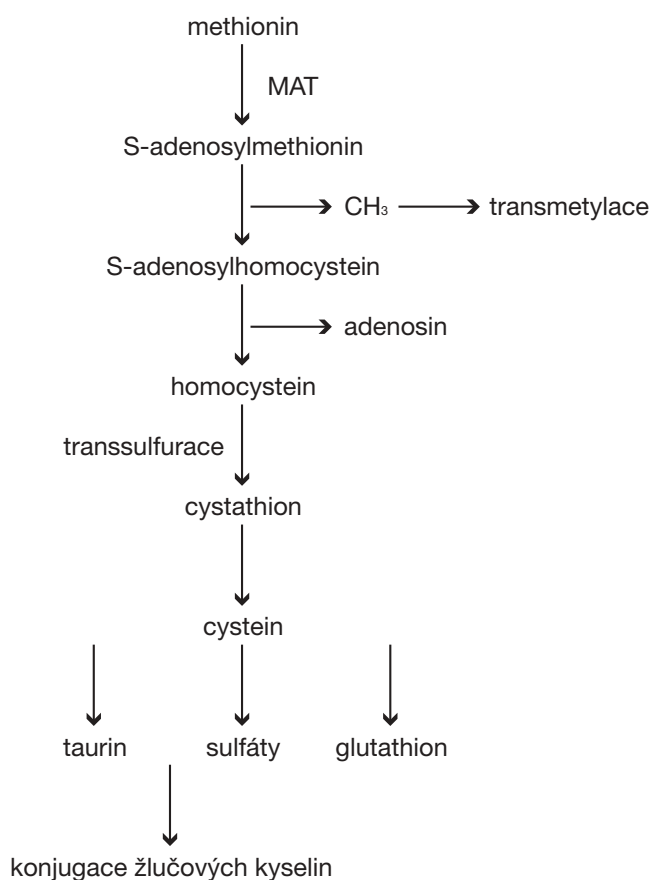
S-adenosylmethionin (ademethionin - SAME) je látka produkovaná z methioninu a ATP v cytosolu prakticky všech lidských buněk za přítomnosti methioninadenosyltransferázy - MAT (dříve S-adenosylmethioninsyntetáza nebo ademetioninsyntetáza), která se účastní řady biochemických reakcí nezbytných pro zajištění různých buněčných funkcí. Hlavním místem syntézy a degradace SAME jsou však játra, která se touto cestou podílejí z 50% na katabolismu methioninu (41). Řada studií, zejména experimentálního charakteru, navíc prokázala exogenní SAME jako účinnou hepatoprotektivní látku působící řadou mechanismů na chronické jaterní změny alkoholového i nealkoholového původu, akutní toxická poškození včetně polékových, jaterní onemocnění provázená cholestázou ap. I když klinická praxe tyto nálezy v takové míře nepotvrdila, v poslední době začíná opět zájem o SAME narůstat především v souvislosti s léčbou nealkoholové steatohepatitidy - NASH a toxického poškození jater acetaminofenem.

1. Metabolismus SAME

SAME sehrává především úlohu v transmetylačních reakcích, kde z 85 % slouží jako donor metylové skupiny (44). Významně se tak účastní metabolických procesů proteinů, fosfolipidů, nukleových kyselin, některých hormonů, neurotransmiterů a dalších látek. Metylace fosfolipidů buněčných membrán přispívá ke zvýšení jejich fluidity, a tím i aktivity Na⁺-K⁺-ATPázy v bazolaterální membráně hepatocytů, která udržuje chemický gradient a potenciálový rozdíl mezi hepatocytem a jeho okolím nezbytný pro vylučování žluči. Uvolněním metylové skupiny ze SAME vzniká S-adenosylhomocystein (15, 41). S-adenosylhomocystein je významným inhibitorem transmetylačních reakcí. Zvýšení S-adenosylhomocysteinu nebo snížení SAME, resp. poměru SAME a S-adenosylhomocysteinu inhibují transmetylační reakce, proto je velmi důležitá následná hydrolýza S-adenosylhomocysteinu na homocystein a adenosin. V játrech pak existují tři způsoby metabolismu homocysteinu. Při transsulfurační cestě je homocystein kondenzován

se serinem za vzniku cystathioninu a následně uvolněn cystein, prekurzor taurinu a glutathionu (38), hlavního buněčného antioxidantu. Zbývající dvě cesty resyntetizují methionin z homocysteinu za účasti kyseliny listové a vitamínu B₁₂. Syntéza polyaminů ze SAME probíhá za normálních okolností pouze přibližně v 5 % z celkového metabolismu SAME (41). Za stavů provázených buněčným růstem jako jaterní regenerace (44) nebo hepatokarcinogeneze se však podstatně zvyšuje (19).

Schéma metabolismu methioninu



2. Faktory ovlivňující aktivitu methioninadenosyltransferázy (MAT)

V savčích buňkách existují tři izoformy MAT - MAT I, II, III. MAT I a III (produkty genu *MAT1A*) jsou exprimovány pouze v dospělých játrech (24). Jejich exprese je provázena vysokými koncentracemi SAME v buňkách, vysokým poměrem SAME a S-adenosylhomocysteinu, metylacemi DNA. Isoforma MAT II (produkt genu *MAT2A*) byla izolována z většiny tkání těla, v játrech dospělých jedinců se však nachází pouze ve velmi nízkých koncentracích. Naopak ve fetálních játrech jde o hlavní izoformu a v dospělých

játrech se exprese výrazně zvyšuje při růstu nebo dediferenciaci jater (30, 33). Buňky s expresí MAT2A vykazují nízké koncentrace SAME a malý poměr SAME a S-adenosylhomocysteinu. Snížená úroveň metylací DNA zaznamenaná u těchto buněk by mohla hrát patogenetickou úlohu v rozvoji karcinomu. V této souvislosti bylo prokázáno přepnutí exprese MAT1A na MAT2A u hepatomů z resekované tkáně pacientů (8) a v experimentu na potkanovi po parciální hepatektomii (30). Zatímco indukce exprese MAT2A po parciální hepatektomii je dočasná, u hepatocelulárního karcinomu nadále přetrvává. Bezprostředně může aktivitu MAT ovlivňovat oxid dusnatý - NO a glutathion. Bylo prokázáno, že jaterní MAT existuje ve dvou formách - inaktivní nitrosylovaná a aktivní denitrosylovaná (13). Účinkem NO dochází k nitrosylaci thiolové skupiny MAT I a III, a tudíž ke vzniku inaktivní konformace enzymu (52). Tento mechanismus by mohl být vysvětlením, proč řada stavů provázená tvorbou NO (hypoxie, septický šok, jaterní regenerace) inaktivuje jaterní MAT I a III (2, 3). Glutathion naopak sehrává významnou roli v udržování aktivity MAT. Již fyziologické koncentrace glutathionu mohou vést k denitrosylaci MAT a zvrátit tak její inaktivní stav (3, 52). Rovněž samotný SAME se může podílet na regulaci exprese MAT. Byl prokázán inhibiční účinek SAME na MAT II a naopak stimulační na MAT III (57). Úbytek jaterní tkáně způsobený hepatotoxiny nebo parciální hepatektomií navozuje buněčnou odpověď provázenou zvýšenou produkcí NO a reaktivních kyslíkových derivátů - ROS (43, 50). Dochází i k inaktivaci MAT I/III, expresi MAT II a poklesu obsahu SAME, který vede k dalšímu poklesu aktivity MAT I/III, a tím syntézy SAME. Vliv SAME na expresi MAT byl také prokázán v kultuře hepatocytů. Kultivace způsobila progresivní snížení exprese MAT1A a indukci exprese MAT2A v hepatocytech. Toto přepnutí v genové expresi bylo možno inhibovat přidáním SAME do média a přispět tak k udržení diferencovaného stavu hepatocytů (22).

Nález nízké aktivity MAT u pacientů s cirhózou jater obdobně jako při experimentálním jaterním poškození navozeném etanolem a tetrachlórmetanem přispěl alespoň částečně k ozřejmění příčin poruchy metabolismu methioninu u pacientů s pokročilým jaterním poškozením. V časnějších fázích jaterního onemocnění bude, spíše než snížená produkce, svou roli v poklesu jaterního SAME hrát zvýšená utilizace SAME (35). U potkanů, kterým byl

podáván etanol, byl po dvou měsících zaznamenán pokles SAME spojený s úbytkem jaterního glutathionu a zvýšenou lipoperoxidací, avšak bez poklesu aktivity MAT (1). Zvýšená spotřeba SAME je v těchto případech dávana do souvislosti s oxidačním stresem, který se často podílí na patogenezi jaterních onemocnění. Typickým příkladem je právě alkoholové jaterní onemocnění, obdobně v rozvoji nealkoholové steatohepatitidy se potvrzuje klíčová úloha reaktivních kyslíkových derivátů a lipoperoxidací v patogenezi nemoci (49).

3. Hepatoprotektivní účinky SAME

Snížená dostupnost SAME následkem jaterního onemocnění může sama přispívat k jeho dalšímu rozvoji (39). Ke zmírnění tohoto postižení, resp. progresu je možno podávat exogenní SAME. V České republice je SAME (ademethionin) zaregistrován pro klinické použití jako preparát Transmetil® (Abbott).

3.1. Syntéza glutathionu

Jedním z významných mechanismů hepatoprotektivního účinku SAME je syntéza glutathionu. Jak již bylo zmíněno výše, SAME slouží jako prekurzor k syntéze glutathionu transsulfurační cestou. Podávání SAME tak může zmírnit úroveň toxického poškození navozeného acetaminofenem (7, 60), alkoholem (36, 61) nebo galaktosaminem, který se užívá jako modelová látka navozující difúzní jaterní poškození podobné virové hepatitidě (32, 62). Při několikátýdenním podávání SAME došlo k obnově obsahu glutathionu v játrech a zmírnění rozvoje fibrózy (23) na modelu poškození jater potkana tetrachlórmetanem imitujícím chronické jaterní onemocnění u lidí. Změny jako pokles sérových transamináz, zvýšení obsahu glutathionu v játrech a útlum exprese některých genů prozánětlivých cytokinů v játrech účinkem SAME byly prokázány i v pilotní studii na modelu nealkoholové steatohepatitidy navozené u potkanů dietou s deficitem methioninu a cholinu (47). Vzestup glutathionu po podání SAME bývá provázen poklesem lipoperoxidace (24, 60). Je otázkou, zda míra lipoperoxidace může být snížena účinkem SAME i bez zřetelného efektu na obsah glutathionu. Na modelu oxidačního stresu vyvolaného terciárním butylhydroperoxidem v primokultuře hepatocytů byl prokázán protektivní účinek SAME spojený s inhibicí lipoperoxidace, účinek na zvýšení obsahu glutathionu v hepatocytech však nebyl pozorován (37).

3.2. Metylace membránových fosfolipidů

Svůj význam v hepatoprotekci sehrává i metylace membránových fosfolipidů. Dostupnost SAME je limitujícím faktorem metylace membránových fosfolipidů především s ohledem na přeměnu fosfatidyletanolaminu na fosfatidylcholin. Deplecí SAME dochází k poruše transmetylací a alteraci membránové fluidity. Exogenní SAME upravuje transmetylační reakce, metylové skupiny jsou inkorporovány do membrán, normalizuje se obsah fosfatidylcholinu, poměr fosfatidylcholinu k fosfatidyletanolaminu a membránová fluidita (5, 20, 25). Fluidita membrán významně ovlivňuje tvorbu žluči a hepatobiliární transport. Podávání SAME vedlo k úpravě membránové fluidity jaterních buněk a ke zvýšení množství produkované žluči v potkaních játrech poškozených ethinylestradiolem (18, 56). U pacientů trpících cholestázou vyvolanou chronickým jaterním onemocněním došlo účinkem SAME ke zlepšení sérových markerů cholestázy (17). V mechanismu anticholestatického účinku SAME je však třeba vedle vlivu na membránovou fluiditu brát v úvahu i další mechanismy. Úprava aktivity MAT (12) a syntézy thiolů (glutathion, taurin, sulfáty), které umožňují konjugaci žlučových kyselin a zvýšení jejich rozpustnosti, zabraňuje akumulaci toxických žlučových kyselin v hepatocytech. Účinkem SAME by mohlo docházet i ke zvýšení transportu glutathionu přes kanalikulární membránu hepatocytů snížením aktivity jaterní gamaglutamyltransferázy - GMT, enzymu, který štěpí glutathion a jehož aktivita může být patologicky zvýšena např. účinkem cyklosporinu A (48). Zvýšené sérové koncentrace GMT provázejí cholestatické stavy a alkoholová jaterní poškození.

Methylace lipidů plazmatické membrány byla rovněž potvrzena u izolovaných hepatocytů po přidání SAME do média současně s kontroverzním nálezem, že SAME nevstupuje do izolovaných hepatocytů a je využíván pouze k metylaci fosfolipidů vnější plazmatické membrány (4), kde byla detekována metyltransferázová aktivita. Opačné tvrzení jiných autorů o vstupu SAME do hepatocytů (58) může být vysvětleno použitím vyšší dávky SAME. Nepřímé potvrzení vstupu SAME do hepatocytů v primokultuře vychází z nálezu, kdy v intaktní kultuře hepatocytů došlo k vzestupu obsahu glutathionu v závislosti na použité dávce SAME (37).

3.3. Protektivní účinek na mitochondrie

Stále roste počet prací, které nejenže potvrzují úlohu mitochondrií jako cíle oxidačního stresu, ale

také jako významného zdroje reaktivních kyslíkových derivátů v buňce (6, 59). Produkce reaktivních kyslíkových derivátů a zvýšená koncentrace Ca^{2+} v mitochondriích mají za následek nespecifické zvýšení permeability vnitřní mitochondriální membrány pro ionty a substráty, tzv. mitochondrial permeability transition – MPT, otevřením nespecifického póru, označovaného jako permeability transition pore - PTP (34, 46). Dochází ke kolapsu membránového potenciálu, rozštěpení oxidativní fosforylace, úniku mitochondriálních iontů, bobtnání mitochondrií a prasknutí vnější membrány (34, 54). Glutathion je významným antioxidantem i v mitochondriích a zabraňuje zvýšení permeability vnitřní mitochondriální membrány. Přirozený výskyt SAME byl popsán v cytosolu i v mitochondriích, kde tvoří asi 30 % z celkových zásob hepatocytu (14), i když se enzym MAT nepostradatelný pro syntézu SAME v mitochondriích nevyskytuje. Mitochondrie jsou však schopny vychytávat SAME bez ohledu na elektrický potenciál membrány specifickým pasivním přenašečovým mechanismem (27). Exogenní SAME zabraňuje zvýšení permeability vnitřní mitochondriální membrány (55) a poklesu mitochondriálního membránového potenciálu (21, 37). Tento protektivní účinek je možné vysvětlit více mechanismy. Podání SAME například omezilo pokles glutathionu v mitochondriích potkanů navozený etanolem či ischemicko-reperfučním poškozením a u myši acetaminofenem (21, 31, 55). Glutathion se v mitochondriích rovněž netvoří, ale přestupuje z cytosolu přes vnitřní mitochondriální membránu přenašečovým mechanismem (11). Protektivní účinek na mitochondriální membránu byl také potvrzen při toxickém poškození hepatocytární primokultury terciárním butylhydroperoxidem a galaktosaminem (32, 37), ale protože nebyl potvrzen účinek SAME na obsah glutathionu v hepatocytech, útlum lipoperoxidace se jeví jako pravděpodobnější mechanismus prevence poškození mitochondriální membrány. Uplatnění by mohla mít i transmetylace membránových fosfolipidů, která byla prokázána na izolovaných mitochondriích inkubovaných se SAME (27).

4. SAME a jaterní regenerace

Jak bylo již zmíněno, jaterní regenerace navozená parciální hepatektomií je provázána produkcí NO a dochází k přepnutí exprese MAT1A na MAT2A doprovázené nízkým obsahem SAME v hepatocytech. Žádné literární údaje však neřeší otázku, zda by podávání exogenního SAME mohlo vést k takovému

zvýšení intracelulárního SAME, které by ovlivnilo intenzitu proliferačního děje.

Podle našich dosud nepublikovaných výsledků SAME nezvyšuje a je důležité, že ani netlumí, intenzitu jaterního regeneračního děje navozeného dvoutřetinovou parciální hepatektomií. V regenerujících játrech 12 hodin po parciální hepatektomii dochází ke zdvojnásobení obsahu glutathionu (29). Nízký obsah glutathionu naopak vede k inhibici syntézy DNA (28). Význam zvýšeného obsahu glutathionu pro jaterní regeneraci je mimo jiné dáván do souvislosti s aktivitou enzymu limitujícího syntézu DNA - ribonukleotid-reduktázy (26). Částečným vysvětlením, proč podávání SAME nevedlo ke stimulaci regenerace, může být fakt, že použité dávky SAME běžné v klinické praxi nevedly k dalšímu zvýšení obsahu glutathionu v játrech. Navíc účinkem SAME nedošlo ke zvýšení obsahu triacylglycerolů v játrech, jinak typickému nálezu po PH, který byl jinými autory popsán jako nezbytný pro normální průběh regenerace (53).

5. SAME v klinické praxi

Účinky SAME byly sledovány i v klinických studiích. Mato a spol. (42) hodnotili podávání SAME v dlouhodobé studii u pacientů s alkoholickou cirhózou. Dvouleté perorální podávání SAME v dávce 1200 mg/den nevedlo u pacientů k významnému zlepšení hodnocených parametrů ve srovnání se skupinou pacientů, kterým bylo podáváno placebo, i když trend vedoucí ke zlepšení byl zaznamenán. Statisticky významné snížení mortality a nutnosti transplantačního řešení bylo v této studii dokumentováno teprve po vyřazení nemocných ve stádiu Child C. Léčba SAME byla hodnocena i u pacientů s intrahepatální cholestázou způsobenou akutní hepatitidou či chronickým jaterním onemocněním (40). Čtrnáctidenní léčba pacientů intravenózně podávaným SAME v dávce 800 mg/den prokázala významné zlepšení pruritu a biochemických parametrů intrahepatální cholestázy. Další fázi terapie (1 600 mg/den, perorálně) po dobu osmi týdnů pak podstoupili pouze nemocní s chronickým jaterním onemocněním, kteří byli v předchozí fázi označeni jako respondenti. Pokračování v terapii vedlo k dalšímu zlepšení. Zatímco v případě patnáctidenního intramuskulárního podávání SAME (1000 mg/den) pacientkám s těhotenskou intrahepatální cholestázou nebylo zjištěno úplné vymizení pruritu a nedošlo ke zlepšení biochemických parametrů cholestázy (17), při 10 až 30 denní léčbě SAME v dávce

800 mg/den intravenózní formou bylo zaznamenáno snížení nebo úplné vymizení pruritu a zlepšení biochemických parametrů intrahepatální cholestázy (10). Proti domněnce, že příčinou rozdílu ve výsledcích těchto dvou studií by mohla být rozdílná forma podání S-Adenosylmethioninu (SAMe), by mohl svědčit nález snížení pruritu a zlepšení biochemických parametrů intrahepatální cholestázy (16) bez ohledu na to, zda parenterální aplikace SAMe byla provedena cestou intramuskulární (500 mg/den) nebo intravenózní (800 mg/den). Práce Rambaldiho a Gluuda (51) provedla srovnání klinických studií, které se zabývaly účinky S-adenosylmethioninu u pacientů s alkoholickým jaterním onemocněním. Došli k závěru, že tyto studie nepodporují ani nespovídají proti léčbě SAMe u pacientů s alkoholickým jaterním onemocněním. Je třeba většího počtu dlouhodobých randomizovaných studií k tomu, aby SAMe mohl být doporučen ke klinickému užití.

Určitý příslib využití SAMe v klinické praxi je možno vidět v souvislosti s novými nálezy. V krvi pacientů s nealkoholickou steatohepatitidou byla diagnostikována porucha metabolismu glutathionu a aktivity anti-oxidačních enzymů (45) a experimentálně na modelu steatohepatitidy byl zjištěn protektivní účinek látek zvyšujících syntézu glutathionu (48). Zůstává tak nezodpovězená otázka, zda by SAMe, jehož podávání vede ke zvýšení syntézy glutathionu, mohl příznivě působit v případě nealkoholické steatohepatitidy. Rovněž použití SAMe v případě intoxikace acetaminofenem se zatím zdá podle dosavadních experimentů jako nadějně (7, 9, 55, 60).

LITERATURA

1. Aleynik SI, Leo MA, Aleynik MK, Liber CS. Polyenylphosphatidylcholine (PPC) corrects the alcohol-induced hepatic oxidative stress by restoring S-adenosylmethionine-L-methionine (SAMe). *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25 (Suppl): 131A.
2. Avila MA, Carretero MV, Rodríguez EN, Mato JM. Regulation by hypoxia of methionine adenosyltransferase activity and gene expression in rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1998; 114: 364 – 371.
3. Avila MA, Mingorance J, Martínez-Chantar ML, Fasádo M, Martín-Sanz P, Boscá L, Mato JM. Regulation of rat liver S-adenosylmethionine synthetase during septic shock: role of nitric oxide. *Hepatology* 1997; 25: 391 – 396.
4. Bontemps F, Van Den Berghe. Metabolism of exogenous S-adenosylmethionine in isolated rat hepatocyte suspensions: methylation of plasma-membrane phospholipids without intracellular uptake. *Biochem J* 1997; 327: 383 – 389.
5. Bontemps F, Van Den Berghe. Novel evidence for an ectophospholipid methyltransferase in isolated rat hepatocytes. *Biochem J* 1998; 330: 1 – 4.
6. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 1973; 134: 707 – 716.

6. Závěr

Závěrem bychom chtěli konstatovat, že především experimentální nálezy svědčí o exogenním SAMe jako o účinné hepatoprotektivní látce. V případě klinických studií nejsou nálezy jednotné a porovnáním výsledků studií v případě léčby alkoholického jaterního onemocnění došli autoři k závěru, že k doporučení použití SAMe v klinické praxi je třeba provést větší počet dlouhodobých randomizovaných studií.

Je zajímavé, proč se slibné experimentální výsledky nepotvrdily beze zbytku i v praxi. Jedním z důvodů by mohlo být, že v řadě experimentů je SAMe podáván již před nebo v průběhu vývoje jaterního poškození, zatímco pacient dostává SAMe obvykle až v pozdějším stádiu onemocnění.

Významnou a stále ne zcela dořešenou otázkou zůstává intracelulární koncentrace SAMe. V dávkách běžně užívaných v klinické praxi i v experimentu na celém zvířeti stěží dosáhneme tak vysokých koncentrací, jako je tomu v případě izolovaných buněk nebo dokonce buněk permeabilizovaných či u izolovaných organel.

Mohli bychom také spekulovat, že modelová poškození jater užívaná v experimentu sice simulují jaterní onemocnění v histologických, biochemických nebo dalších parametrech, ale je otázkou, zda za každých okolností dostatečně, abychom mohli předvídat úspěch látky v klinické praxi. I v případě nadějných hepatoprotektiv budou asi i nadále teprve výsledky klinického testování konečnou odpovědí na účinnost látky.

7. Bray GP, Tredger JM, Williams R. S-Adenosylmethionine protects against acetaminophen hepatotoxicity in two mouse models. *Hepatology* 1992; 151: 297 – 301.
8. Cai J, Sun W, Hwang J, Stain SC, Lu SC. Changes in S-adenosylmethionine synthetase in human liver cancer: molecular characterization and significance. *Hepatology* 1996; 24: 1090 – 1097.
9. Caro AA, Cederbaum AI. Inhibition of CYP2E1 catalytic activity in vitro by S-adenosyl-L-methionine. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 1081 – 1093.
10. Catalino F, Scarponi S, Cesa F, Loiacono G, Bortolini M. Efficacy and safety of intravenous S-adenosylmethionine therapy in the management of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Drug Invest* 1992; 4 (Suppl 4): 78 – 82.
11. Coll O, Colell A, García-Ruiz C, Kaplowitz N, Fernández-Checa JC. Sensitivity of the 2-oxoglutarate carrier to alcohol intake contributes to mitochondrial glutathione depletion. *Hepatology* 2003; 38: 692 – 702.
12. Corrales F, Alvarez L, Pajares MA, Ortiz P, Mato JM. Impairment of methionine metabolism in liver disease. *Drug Invest* 1992; 4 (Suppl. 4): 8 – 13.
13. Corrales FJ, Ruiz F, Mato JM. In vivo regulation by glutathione of methionine adenosyltransferase S-nitrosylation in rat liver. *J Hepatol* 1999; 31: 887 – 894.

14. Farooqui JZ, Lee HW, Kim S, Paik WK. Studies on compartmentation of S-adenosylmethionine in *Saccharomyces cerevisiae* and isolated rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 1983; 757: 342 – 351.
15. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1: 228 – 236.
16. Fiorelli G. S-adenosylmethionine in the treatment of intrahepatic cholestasis of chronic liver disease: a field trial. *Curr Ther Res* 1999; 60: 335 – 348.
17. Frezza M, Surrenti C, Manzillo G, Fiaccadori F, Bortolini M, DiPadova C. Oral S-adenosylmethionine in the symptomatic treatment of intrahepatic cholestasis. A double-blind, placebo-controlled study. *Gastroenterology* 1990; 99: 211 – 215.
18. Fricker G, Landmann L, Mejer PJ. Ethinyl-estradiol (EE) induced structural and functional alterations of rat liver plasma membrane and their reversal by S-adenosyl-L-methionine. *Hepatology* 1988; 8: 1224.
19. Garcea R, Pascale R, Daino L, Frassetto S, Cozzolina P, Ruggio ME, Vannini MG, Gaspa L, Feo F. Variations of ornithine decarboxylase activity and S-adenosyl-L-methionine and 5'-methylthioadenosine contents during the development of diethylnitrosamine-induced liver hyperplastic nodules and hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 1987; 8: 653 – 658.
20. Galán AI, Muñoz ME, Jiménez R. S-adenosylmethionine protects against cyclosporin A-induced alterations in rat liver plasma membrane fluidity and functions. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 774 – 781.
21. García-Ruiz C, Morales A, Colell A, Ballesta A, Rodés J, Kaplowitz N, Fernández-Checa JC. Feeding S-adenosyl-L-methionine attenuates both ethanol-induced depletion of mitochondrial glutathione and mitochondrial dysfunction in periportal and perivenous rat hepatocytes. *Hepatology* 1995; 21: 207 – 214.
22. García-Trevijano ER, Latasa MU, Carreter MV, Berasain C, Mato JM, Avila MA. S-adenosylmethionine regulates MAT1A and MAT2A gene expression in cultured rat hepatocytes: a new role for S-adenosylmethionine in the maintenance of the differentiated status of the liver. *FASEB J* 2000; 14: 2511 – 2518.
23. Gassó M, Ruio M, Varela G, Cabré M, Caballería J, Alonso E, Deulofem R, Camps J, Giménez A, Pajares M, Parés A, Mato JM, Rodés J. Effects of S-adenosylmethionine on lipid peroxidation and liver fibrogenesis in carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *J Hepatol* 1996; 25: 200 – 205.
24. Gil B, Casado M, Pajares MA, Bosca L, Mato JM, Martín-Sanz P, Alvarez L. Differential expression pattern of S-adenosylmethionine synthetase isoenzymes during rat liver development. *Hepatology* 1996; 24: 876 – 881.
25. Hirata F, Axerold J. Phospholipid methylation and biological signal transmission. *Science* 1980; 209: 1082 – 1090.
26. Holmgren A. Regulation of ribonucleotide reductase. *Curr Top Cell Regul* 1981; 19: 47 – 76.
27. Horne DW, Holloway RS, Wagner C. Transport of S-adenosylmethionine in isolated rat liver mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1997; 343: 201 – 206.
28. Huang ZZ, Chen Ch, Zeng Z, Yang H, Oh J, Chen L, Lu SC. Mechanism and significance of increased glutathione level in human hepatocellular carcinoma and liver regeneration. *FASEB J* 2001; 15: 19 – 21.
29. Huang ZZ, Li H, Cai J, Kuhlenkamp J, Kaplowitz N, Lu SC. Changes in glutathione homeostasis during liver regeneration in the rat. *Hepatology* 1998; 27: 147 – 153.
30. Huang ZZ, Mao Z, Cai J, Lu SC. Changes in methionine adenosyltransferase during liver regeneration in the rat. *Am J Physiol* 1998; 275: G14 – G21.
31. Jeon BR, Lee SM. S-adenosylmethionine protects post-ischemic mitochondrial injury in rat liver. *J Hepatol* 2001; 34: 395 – 401.
32. Kučera O, Červinková Z, Lotková H, Křiváková P, Roušar T, Mužáková V, Hěžová R, Kandár R, Rudolf E. Protective effect of S-adenosylmethionine against D-galactosamine-induced injury of rat hepatocytes in primary culture. *Physiol Res* 2006; 55: 551 – 560.
33. Latasa MU, Boukaba A, Garcia-Trevijano ER, Torres L, Rodríguez JL, Caballería J, Lu SC, Lopez-Rodas G, Franco L, Mato JM, Avila MA. Hepatocyte growth factor induces MAT2A expression and histone acetylation in rat hepatocytes: role in liver regeneration. *FASEB J* 2001; 15: 1248 – 1250.
34. Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, Trost LC, Elmore SP, Nishimura Y, Crowe RA, Cascio WE, Bradham CA, Brenner DA, Herman B. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 177 – 196.
35. Lieber ChS. S-adenosyl-L-methionine and alcoholic liver disease in animal models: implications for early intervention in human beings. *Alcohol* 2002; 27: 173 – 177.
36. Lieber ChS, Casini A, De Carli LM, Kim CI, Lowe N, Sasaki R, Leo MA. S-adenosyl-L-methionine attenuates alcohol-induced liver injury in the baboon. *Hepatology* 1990; 11: 165 – 172.
37. Lotková H, Červinková Z, Kučera O, Křiváková P, Kandár R. Protective effect of S-adenosylmethionine on cellular and mitochondrial membranes of rat hepatocytes against tert-butylhydroperoxide-induced injury in primary culture. *Chem Biol Interact* 2005; 156: 13 – 23.
38. Lu SC. Regulation of hepatic glutathione synthesis. *Sem Liv Dis* 1998; 18: 331 – 343.
39. Lu SC, Alvarez L, Juany ZZ, Chen L, An W, Corrales FJ, Avila MA, Kanel G, Mato JM. Methionine adenosyltransferase 1A knockout mouse are predisposed to liver injury and exhibit increased expression of genes involved in proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 5560 – 5565.
40. Manzillo G, Piccinino F, Surrenti C, Frezza M, Giudici GA, Le Grazie C. Multicentre double-blind placebo-controlled study of intravenous and oral S-adenosyl-L-methionine (SAME) in cholestatic patients with liver disease. *Drug Invest* 1992; 4 (Suppl 4): 90 – 100.
41. Mato JM, Alvarez L, Ortiz P, Pajares MA. S-Adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. *Pharmacol Ther* 1997; 73:265 – 280.
42. Mato JM, Cámara J, Fernández de Paz J, Caballería L, Coll S, Caballero A, García-Buey L, Beltrán J, Benita V, Caballería J, Solá R, Moreno-Otero R, Barrao F, Martín-Duce A, Correa JA, Parés A, Barrao E, García-Magaz I, Puerta JL, Moreno J, Bois-sard G, Ortiz P, Rodés J. S-adenosylmethionine in alcoholic liver cirrhosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter clinical trial. *J Hepatol* 1999; 30: 1081 – 1089.
43. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60 – 66.
44. Mudd SH, Poole JR. Labile methyl balances for normal humans on various dietary regiment. *Metabolism* 1975; 24: 721 – 735.
45. Nobili V, Pastore A, Gaeta LM, Tozzi G, Comparcola D, Sartorelli MR, Marcellini M, Bertini E, Piemonte F. Glutathione metabolism and antioxidant enzymes in patients affected by nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2005; 355: 105 – 111.
46. Orrenius S. Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. *Toxicol Lett* 2004; 149: 19 – 23.
47. Oz HS, Im HJ, Chen TS, de Villiers WJS, McClain CJ. Glutathione-enhancing agents protect against steatohepatitis in a dietary model. *J Biochem Mol Toxicol* 2006; 20: 39 – 47.
48. Palomero J, Galán AI, Muñoz ME, González-Gallego J, Tuñón MJ, Jiménez R. Effects of S-adenosylmethionine on intrabiliary glutathione degradation induced by long-term administration of cyclosporin A in the rat. *Toxicology* 2004; 200: 21 – 27.
49. Pessayre D, Bearson A, Fromenty B, Mansour A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 57 – 69.
50. Rai RM, Lee FYJ, Rosen A, Yang SQ, Lin HZ, Koteish A, Liew FY, Zaragoza C, Lowenstein C, Diehl AM. Impaired liver regeneration in inducible nitric oxide synthase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13829 – 13834.
51. Rambaldi A, Glud C. S-adenosyl-L-methionine for alcoholic liver diseases. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 19: CD002235.
52. Ruiz F, Courale FJ, Miqueo C, Mato JM. Nitric oxide inactivates rat hepatic methionine adenosyltransferase in vivo by S-nitrosylation. *Hepatology* 1998; 28: 1051 – 1057.

53. Shteyer E, Liao Y, Muglia LJ, Hruz PW, Rudnick DA. Disruption of hepatic adipogenesis is associated with impaired liver regeneration in mice. *Hepatology* 2004; 40: 1322 – 1332.
54. Skulachev VP. Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms. *Mol Aspects Med* 1999; 20: 139 – 184.
55. Song Z, McClain CJ, Chen T. S-adenosylmethionine protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Pharmacology* 2004; 71: 199 – 208.
56. Stramentinoli G, Di Padova C, Gualano M, Rovagnati P, Gallickie M. Ethinylestradiol-induced impairment of bile secretion in the rat: protective effects of S-adenosyl-L-methionine and its implication in estrogen metabolism. *Gastroenterology* 1981; 80: 154 – 158.
57. Sullivan DM, Hoffman J. Fractionation and kinetic properties of rat liver and kidney methionine transferase isoenzymes. *Biochemistry* 1983; 22: 1636 – 1641.
58. Traver J, Varela I, Mato JM. Effect of exogenous S-adenosyl-L-methionine on phosphatidylcholine synthesis by isolated rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 1562 – 1564.
59. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552 (Pt 2): 335 – 344.
60. Valentovic M, Terneus M, Hormon RCh, Carpenter AB. S-adenosylmethionine (SAME) attenuates acetaminophen hepatotoxicity in C57BL/6 mice. *Toxicol Lett* 2004; 154: 165 – 174.
61. Vendemiale V, Altomare E, Trizio T, Le Grazie C, Di Padova C, Salerno MT, Carrieri V, Albano O. Effects of oral S-adenosyl-L-methionine on hepatic glutathione in patients with liver disease. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 407 – 415.
62. Wu J, Söderbergh H, Karlsson K, Danielsson A. Protective effect of S-adenosyl-L-methionine on bromobenzene and D-galactosamine-induced toxicity to isolated rat hepatocytes. *Hepatology* 1996; 23: 359 – 365.

Adresa pro korespondenci / correspondence to:

MUDr. Halka Lotková, Ph.D., Univerzita Karlova v Praze,
Lékařská fakulta v Hradci Králové, Ústav fyziologie,
500 38 Hradec Králové, Česká republika / Czech Republic
E-mail: lotko@lfhk.cuni.cz