

# EFEKTI L-METIONINA NA METABOLIZAM POLIAMINA U MOŽDANOM TKIVU PACOVA SA HOLESTAZOM

Dušan Sokolović<sup>1</sup>, Gordana Bjelaković<sup>2</sup>, Saša Zajić<sup>3</sup>, Zoran Damjanović<sup>4</sup>, Jelenka Nikolić<sup>1</sup>, Gordana Kocić<sup>1</sup>, Dušica Pavlović<sup>1</sup>, Ivana Stojanović<sup>1</sup> i Tatjana Cvetković<sup>1</sup>

Patogeneza encefalopatije u holestazi proizvod je akumulacije nekonjugovanog bilirubina (UCB) i hidrofobnih žučnih kiselina (BA) u moždanom tkivu. Toksične BA i UCB izazivaju neurotoksičnost, transportom kroz krvno-moždanu barijeru i nagomilavanjem u ciljnim neuronima. Putrescin, spermidin i spermin su endogeni poliamini, neophodni za rast, proliferaciju, regeneraciju i diferencijaciju ćelija. L-metionin (L-met) je amino-kiselina neophodna za biosintezu poliamina.

Cilj ove studije je proučavanje dejstva L-met na metabolizam poliamina u holestazno oštećenom mozgu pacova.

Wister pacovi su bili podjeljeni u 5 grupa: I-kontrola, II-lažno operisane životinje, III-životinje tretirane samo L-met, IV-pacovi sa podvezanim ductus-om choledochus-om, V-holestazni pacovi tretirani sa L-met (50 mg/kg TM). Životinje su nakon 9 dana eksperimenta žrtvovane.

U plazmi BDL pacova dolazi do povećanja nivoa bilirubina i žučnih kiselina, markera holestaze, dok oralno davanje L-met životinjama sa holestazom smanjuje koncentraciju pomenutih supstrata ( $p < 0.001$ ).

Holestaza u mozgu pacova dovodi do povećanja nivoa putrescina ( $110 \pm 13.2$  vs.  $65 \pm 6.8$  nmol/g tkiva;  $p < 0.001$ ), i smanjenja koncentracije spermidina ( $298 \pm 19.2$  vs.  $318 \pm 19.5$  nmol/g tkiva;  $p < 0.05$ ) i spermina ( $203 \pm 16.2$  vs.  $225 \pm 12.7$  nmol/g tkiva;  $p < 0.05$ ), u odnosu na lažno operisane životinje. Povećanje nivoa putrescina u oštećenom CNS-u je adaptivni neuroprotektivni odgovor. Administracija L-met BDL pacovima sprečava poremećaj biosinteze poliamina u moždanom tkivu u toku holestaze.

L-met reguliše metabolizam poliamina i ispoljava neuro-protektivno dejstvo u mozgu, u ekstrahepatičnoj holestazi. *Acta Medica Medianae 2006;45(1):21-26.*

**Ključne reči:** poliamini, holestaza, L-metionin, mozak

Department of biochemistry Faculty of Medicine of Nis<sup>1</sup>  
Department of Pathofiziologija Faculty of Medicine of Nis<sup>2</sup>  
Hospital of Krusevac<sup>3</sup>  
Sanofi Aventis<sup>4</sup>

Kontakt: Dušan Sokolović  
Katedra za biohemiju Medicinskog fakulteta  
Bulevar dr Zorana Đinđića 81  
18000 Niš, Srbija i Crna Gora  
Tel.: 018/ 226-644, lok. 131  
E-mail: soko@medfak.ni.ac.yu

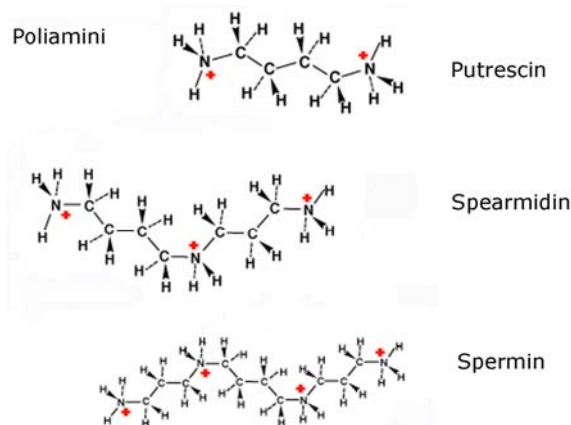
## Uvod

U holestazi, usled poremećaja toka žuči, dolazi do hepatocelularnog nakupljanja bilijarnih sastojaka, a u sledu događaja i do oštećenja hepatocita i neurona (delovanjem zadržanih hidrofobnih žučnih kiselina i nekonjugovanog bilirubina) (1). Takođe, usled deterdžentskog dejstva toksičnih žučnih kiselina, narušava se permeabilitet ćelijske membrane (2). Dokazana je pojava oksidativnog stresa u moždanom tkivu i jetri u uslovima holestaze (3). Poliamini (spermin, sper-

midin i putrescin) predstavljaju neproteinske azotne baze male molekulske mase, prisutne u svim živim sistemima (Slika 1) (4). Oni su rasprostranjeni u skoro svim tkivima i organima životinja i čoveka i zato možemo da kažemo da su esencijalni za život. Na ogromnu važnost poliamina ukazuju njihove nezamenjive uloge u vitalnim procesima rasta, deobe i diferencijacije ćelija, kao i njihova regulacija permeabilnosti i stabilnosti ćelijske membrane (5). Dokazano je da poliamini inhibiraju proces lipidne peroksidacije i sprečavaju proces apoptoze (6).

Poliamini se nalaze u velikim količinama u nervnom tkivu. Još 1885. godine izolovano je iz tkiva mozga jedinjenje pod nazivom neuridin, a ono je kasnije identifikovano kao spermin. Utvrđeno je da su u tkivu mozga, koncentracije spermidina i spermina veće od koncentracije putrescina. Nivo spermidina je najveći u beloj masi, dok je koncentracija putrescina najveća u kori velikog mozga, hipotalamusu, cerebelumu i kičmenoj moždini. Sadržaj poliamina u likvoru je zanemarljiv (7).

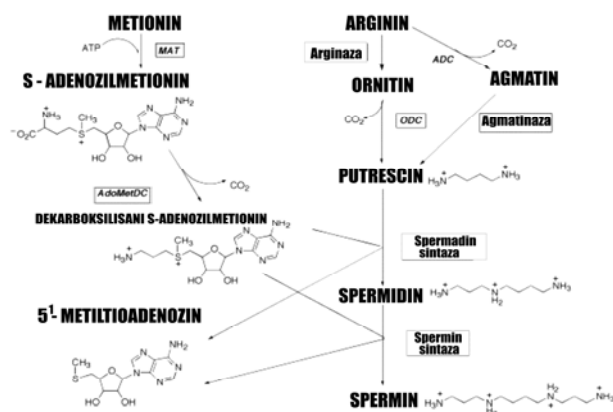
Glavni put biosinteze poliamina u mozgu ne razlikuje se od onog u perifernim tkivima. Spermidin se sintetizira iz putrescina (nastalog iz ornitina pomoću ornitin dekarboksilaze-ODC) i dekarboksilisanog S-adenozilmetionina (dcSAM), dok spermin nastaje iz spermidina i dcSAM-a.



Slika 1. Hemijska struktura

Dokazano je da su ćelije mozga izuzetno osetljive na smanjenje nivoa poliamina, sposobne da prepoznaju pad njihove koncentracije i da pokrenu regulatorne mehanizme, čiji je krajnji cilj održavanje normalnog nivoa ovih jedinjenja (8).

Dokazano je da poliamini imaju ulogu u moduliranju ili čak posredovanju u centralnoj sinaptičkoj transmisiji u tkivu mozga. U koncentracijama od nekoliko mikrograma, spermidin dovodi do sedacije i hipotermije kod miševa, dok veće koncentracije spermina izazivaju konvulzije (9).



Slika 2. Metionin i biosinteza poliamina

L-metionin je esencijalna tio-aminokiselina. Svoju ulogu L-metionin ostvaruje u svom aktivnom obliku, (S-adenozilmetionin-SAM) (Slika 2). Za sintezu poliamina potreban je dekarboksilisani SAM.

Metionin, kao glavni donator metil grupe, učestvuje u mnogim transmetilacionim reakcijama. Značajan je za sintezu nukleinskih kiselina i proteina, a učestvuje i u metilaciji fosfolipida i time povećava stabilnost membranskih struktura.

Svojim tiol grupama učestvuju u transsulfuracionim reakcijama. On služi za sintezu cisteina, a preko njega i u sintezi tripeptida glutationa (GSH)–glavnog prirodnog endogenog hepatoprotektnog agensa (10).

Cilj ovog istraživanja bio je da se u uslovima ekstrahepatične holestaze kod pacova ustanovi: nivo poliamina (spermina, spermidina i putrescina) u moždanom tkivu, kao i efekti L-metionina na metabolizam poliamina u mozgu.

## Materijal i metode

### Materijal

Eksperiment je izveden na belim pacovima Wister soja, muškog pola, starosti 5 meseci, težine od 250 do 300 grama. Eksperimentalna holestaza izazvana je postupkom podvezivanja ductus choledochusa, hirurškim koncem, u Ketamin anesteziji (aplikovan je intraperitonealno u dozi od 2 ml/kg TM), uz mere dezinfekcije i sterilizacije.

Eksperimentalne životinje bile su podeljene u 5 eksperimentalnih grupa:

I grupa (kontrola) – Pacovima je intraperitonealno (i.p.) aplikovan fiziološki rastvor, svakodnevno u toku 9 dana.

II grupa (lažno operisane životinje) – Životinjama je u Ketamin anesteziji, bila otvarana i zatvarana abdominalna duplja, bez izvođenja operacije podvezivanja ductusa choledochusa, da bi se eliminisali efekti same operacije na ispitivane parametre. Takođe, i njima je svakodnevno bio aplikovan fiziološki rastvor.

III grupa (L-metionin)– Životinje su dobijale L-metionin ("Sigma"), oralno u dozi od 50 mg/kg TM, svakodnevno–9 dana.

IV grupa (holestaza) – U prvih 2 dana eksperimenta, pacovima je aplikovan fiziološki rastvor (i.p.), a zatim je izvršena operacija podvezivanja ductusa choledochus-a (Slika 3) uz nastavak davanja 0,9% NaCl narednih 7 dana, svakodnevno.

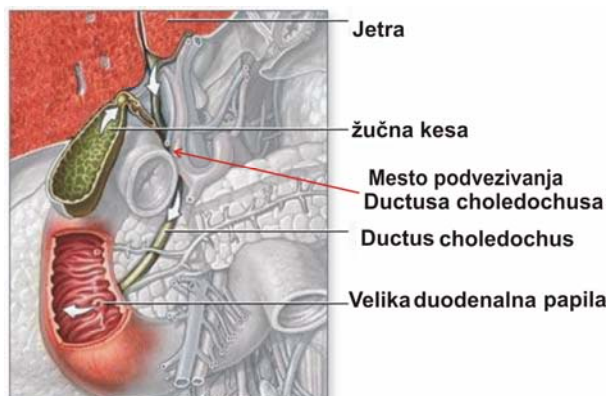
V grupa (holestaza+L-metionin) – Prvih 2 dana eksperimenta životinjama je oralno aplikovan L-metionin (50 mg/kg TM), a zatim je izvršeno podvezivanje ductusa choledochus-a uz nastavak aplikacije L-metionina, narednih 7 dana (u istoj dozi).

Životinje su žrtvovane nakon 9 dana eksperimenta u Ketamin anesteziji, posle gladovanja od 15 sati. Krv je uzimana punkcijom iz aorte abdominalis, nakon medijalne laparatomije. Heparinizirana krv je centrifugirana na 3000 ob/min, a izdvojena plazma je do analiza čuvana na –20°C.

Za biohemijska ispitivanja uziman je mozak, koji je višestruko ispiran u hladnom izotoničnom rastvoru NaCl, odmah zamrzavan na –20°C i tako čuvan do homogenizovanja. Zatim je pripreman 25%-ni homogenat mozga u destilovanoj vodi na 0°C. Homogenizovanje tkiva je vršeno Potter-ovim homogenizatorom sa teflonskim tučkom.

### Metode

Određivanje koncentracije ukupnog, direktnog i indirektnog bilirubina. Nivo ukupnog, direktnog i indirektnog bilirubina u plazmi određivan je gotovim testom firme Ellitech.



Slika 3. Mesto podvezivanja ductus choledochus-a kod pacova u eksperimentalno izazvanoj holestazi

Ukupne žučne kiseline u plazmi, određivane su enzimskom kolorimetričkom metodom po Mashige-u (11).

Poliainini (spermin, spermidin i putrescin), određivani su elektroforetskom tehnikom na Whitman-ovom papiru N° 3 pri 8 V/cm<sup>2</sup> u trajanju od 60 min. Metoda je zasnovana na ekstrakciji poliamina iz tkiva mozga u alkalnoj sredini pomoću n-butanola i kolorimetričkom merenju nakon separacije poliamina tehnikom elektroforeze i bojenjem ninhidrinom (12,13). Količina ukupnih proteina u moždanom tkivu, određivana je metodom po Lowry-u (14).

### Statistička obrada podataka

Rezultati su obrađeni korišćenjem Student-ovog T-test-a, a sve merne veličine su izražavane kao srednja vrednost (X) ± standardna devijacija (SD). Obrada dobijenih podataka izvršena je korišćenjem statističkog programskog paketa - Statistical Package for Social Science (SPSS) softverom, verzija 11,0 u Windows 2000 okruženju, pri čemu su rezultati prikazani tabelarno i grafički.

### Rezultati

U cilju procene efekta podvezivanja ductusa choledochusa određivana je količina bilirubina (ukupnog, direktnog i indirektnog) i ukupnih žučnih kiselina. Koncentracija pomenutih supstrata značajno je povećana u krvnoj plazmi holestaznih pacova u odnosu na lažno operisane životinje, dok davanje L-metionina sprečava njihovo povećanje (Tabela 1 i 2). Nivo spermina i spermidina u tkivu mozga kod pacova sa holestazom snižen je (spm - 203±16.2 vs. 225±12.7 nmol/g tkiva, p < 0.05 i spd - 298±19.2 vs. 329±19.5 nmol/g tkiva, p < 0.001), dok je količina putrescina značajno povećana u odnosu na lažno operisane životinje (110±13.2 vs. 65±6.8 nmol/g tkiva; p < 0.001) (Grafikon 1).

Aplikovanje L-metionina pacovima sa podvezanim ductusom choledochus-om dovodi do pada nivoa putrescina (101±7.8 vs. 110±13.2 nmol/g tkiva; p < 0.05), kao i porasta količine spermidina (326±18.2 vs. 298±19.2 nmol/g tkiva; p < 0.05) u tkivu mozga pacova u odnosu na životinje sa holestazom kojima nije aplikovan L-metionin (Grafikon1).

Tabela 1. Koncentracija bilirubina (ukupnog, direktnog i indirektnog) u krvnoj plazmi pacova

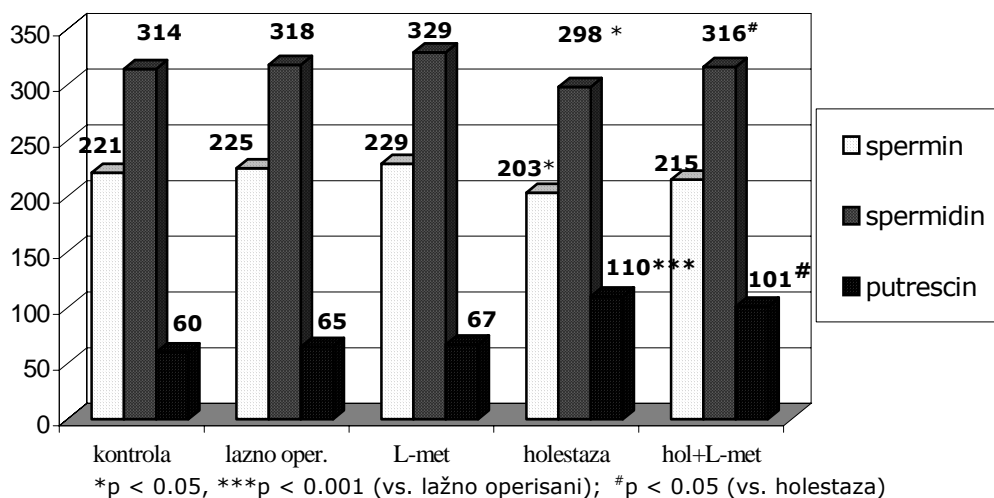
bilirubin (µmol/l)	kontrola	lažno operisani	L-met	holestaza	hol + L-met
ukupni	2.0±0.4	3.5±0.3	6.3±0.2	112.7±13.2*	83.1±5.8 <sup>#</sup>
direktni	1.2±0.2	0.9±0.2	3.7±0.5	69.1±7.1*	50.4±6.9 <sup>#</sup>
indirektni	0.8±0.3	2.6±0.4	2.6±0.4	43.6±5.9*	32.7±3.2 <sup>#</sup>

\*p < 0.001 (vs. lažno operisani), <sup>#</sup>p < 0.001 (vs. holestaza - BDL)

Tabela 2. Nivo ukupnih žučnih kiselina u plazmi eksperimentalnih životinja

ukupne žučne kiseline	kontrola	lažno operisani	L-met	holestaza	hol + L-met
žučne kiseline (µmol/l)	3.9±0.7	3.0±0.5	3.4±0.5	22.8±2.6*	15.8±0.8 <sup>#</sup>

\*p < 0.001 (vs. sham operisani), <sup>#</sup>p < 0.001 (vs. holestaza - BDL)



Grafikon 1. Nivo poliamina u moždanom tkivu eksperimentalnih životinja

## Diskusija

Postoje oprečni stavovi o efektima poliamina u oštećenom moždanom tkivu. Mogući neuroprotektivni efekti poliamina se pripisuju: 1) anti-apoptotičkim i anti-oksidativnim efektima, 2) promenom neuronalne ekscitabilnosti delovanjem putrescina, 3) stabilizacijom hromatina i 4) izmenjenom „poliaminskom reakcijom“ (15). Eventualni mehanizmi oštećenja CNS-a delovanjem poliamina su: 1) aktivacija fluksa  $Ca^{2+}$  i oslobađanje neurotransmitera u oblastima sa povećanom produkcijom putrescina, 2) povećana stimulacija NMDA receptorskog kompleksa, izazvana oslobađanjem poliamina u ekstracelularni prostor, tokom i nakon oštećenja CNS-a, 3) ispravljanje unutrašnjosti kalijumovih kanala i 4) spermin može da pokrene apoptozu ćelija mozga, stimulišući oslobađanje citohroma c iz mitohondrija i aktivirajući kaspazu 3 (16). Cerebralni ODC/poliaminski sistem je veoma osetljiv na fiziološke i patološke stimuluse u moždanom tkivu (uključujući i oštećenje CNS-a u uslovima holestaze). Dokazano je da se posle oštećenja CNS-a javlja značajan porast aktivnosti ODC-a i akumulacija putrescina, ali ne i spermidina i spermina u mozgu (15). Utvrđeno je da su promene u metabolizmu poliamina povezane sa stepenom oštećenja CNS-a i značajno su uključene u degeneraciji neurona (17).

U mozgu holestaznih pacova u ovom eksperimentalnom modelu, utvrđen je značajan porast nivoa putrescina. Postoje dva kontradiktorna gledišta o značaju visokih koncentracija putrescina u mozgu. Prvo gledište se sastoji u tome da porast nivoa putrescina u mozgu (zbog povećane aktivnosti ODC) predstavlja glavni uzrok neuronalnog oštećenja. Uloga putrescina u izazivanju neuronalne nekroze može se objasniti: 1) zavisnošću između akumulacije putrescina i stepena nekroze, 2) aktivnošću putrescina u stimulaciji NMDA receptora, 3) da se u post-ishemijskoj neuronalnoj nekrozi stvara povećana količina putrescina (16). Drugo gledište je suprotno i sastoji se u tome da povećanje sadržaja

putrescina predstavlja najvažniju neuroprotektivnu meru CNS-a, pre nego uzrok oštećenja. Istraživanja, poslednjih godina, ukazala su na to da dugotrajna povećana ekspresija ODC-a kod miševa, nije dovela do degeneracije neurona, i da čak putrescin podstiče regeneraciju oštećenih aksona i neurona (15). Ovi rezultati su kontradiktorni sa ranijim istraživanjima, po kojima direktna infuzija putrescina u mozak, stvara neuropatološke lezije, koje se ne mogu razlikovati od ishemičkih lezija. U najnovijim eksperimentima, intrakortikalne aplikacije mikro doza putrescina, nisu bile neurotoksične, što može da nam sugeriše da efekti egzogenih poliamina na mozak nisu toksični.

U mozgu holestaznih pacova, u ovom eksperimentu, zapaženo je i blago smanjenje nivoa spermina i spermidina u odnosu na lažno operisane životinje. Može se pretpostaviti da nemogućnost povećanja nivoa spermidina/spermina kod ovih životinja pokazuje da putrescin, verovatno kroz sekvestracije u vakuole ili putem nekog drugog nepoznatog mehanizma, postaje nedostupan za dalju konverziju u spermidin i spermin (16). Henley i sar. (1997) dokazali su da nakon oštećenja CNS-a dolazi do povećane potrošnje SAM-a i smanjenja aktivnosti enzima SAM-dekarboksilaze (koji obezbeđuje aminopropilne grupe neophodne za konverziju putrescina u spermidin i spermin) (18). Studija Pashena (1992) dokazala je da se smanjenje količine spermina i spermidina, u uslovima moždanog oštećenja, javlja zbog njihovog povećanog izlaska u krv iz teško oštećenih neurona (19).

Dokazano je da poliamini imaju anti-oksidativna svojstva koja se ogledaju u uklanjanju slobodnih radikala. Poznato je da spermin deluje kao jak antioksidans tako što ili eliminiše slobodne radikale kiseonika ili vrši "helaciju"  $Fe^{2+}$  i  $Cu^{2+}$  (20). Pošto je u našem eksperimentalnom modelu, u tkivu mozga holestaznih pacova, došlo do smanjenja nivoa spermina i spermidina, može se pretpostaviti da je ukupni anti-oksidativni i anti-apoptotički kapacitet moždanog tkiva smanjen i time se, verovatno, toksično oštećenje mozga po-

jačava i produbljuje. Aplikovanje L-metionina pacovima sa holestazom dovodi do blagog sniženja nivoa putrescina, blagog porasta količine spermina (statistički beznačajnog) i značajnog porasta nivoa spermidina u tkivu mozga pacova u odnosu na životinje sa holestazom kojima nije aplikovan L-metionin. Dobijeni rezultati mogu se tumačiti tako da egzogeno aplikovanje L-metionina holestaznim pacovima najverovatnije dovodi do povećanja koncentracije ove amino-kiseline u cirkulaciji i njenog posledičnog prodora u moždano tkivo (specifičnim transporterima). Povećanje nivoa L-metionina u mozgu holestaznih pacova (tj. njena aktivna forma-SAM) može uticati na povećanu biosintezu spermidina i spermina.

### Zaključci

Na osnovu rezultata iznetih u ovom radu može se zaključiti sledeće:

1. U toku eksperimentalno izazvane holestaze, podvezivanjem ductusa choledochu-a, dolazi do značajnog porasta nivoa bilirubina (ukupnog, direktnog i indirektnog) i ukupnih žučnih kiselina u krvnoj plazmi eksperimentalnih životinja. Protektivno dejstvo L-metionina ogleda se u sprečavanju porasta nivoa ovih supstrata u plazmi životinja sa holestazom.

2. U mozgu holestaznih pacova javlja se skoro dvostruko povećanje nivoa putrescina, i blago sniženje koncentracije spermina i spermidina.

3. Davanje L-metionina holestaznim pacovima dovodi do povišenja nivoa spermidina i sniženja koncentracije putrescina u moždanom tkivu, u odnosu na životinje sa holestazom kojima nije davana ova amino-kiselina.

4. L-metionin, kao dokazani neuroprotektor, može se preporučiti u kliničkoj praksi za terapiju bolesnika sa holestazom.

### Literatura

- Kullak-Ublick G, Maier P. Mechanisms of cholestasis. *Clin Liver Dis* 2000; 4(2): 357-85.
- Schmucker DL, Ohta M, Kanai S. Hepatic injury induced by bile salts: correlation between biochemical and morphological events. *Hepatology* 1990; 12(5): 1216-21.
- Tsai LY, Lee KT, Liu TZ. Evidence for Accelerated Generation of Hydroxyl Radicals in Experimental Obstructive Jaundice of Rats. *Free Radical Biology and Medicine* 1998; 24(5): 732-7.
- Tabor H, Tabor CW. Spermidine, spermine and related amines. *Pharmacol Rev* 1964; 16: 245-300.
- Thomas T, Thomas TJ. Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 244-58.
- Tadolini B. Polyamine inhibition of lipid peroxidation. *Biochem J* 1988; 249: 830-3.
- Shaw GG, Pateman AJ. The regional distribution of the polyamines spermidine and spermine in brain. *J Neurochem* 1973; 20: 1225-30.
- Slotkin TA, Bartolome J, Persons D, Whitmore WL. Polyamines in brain and heart of the neonatal rat: effects of inhibitors of ornithine decarboxylase and spermidine synthase. *Life Sciences* 1984; 35: 1125-31.
- Andersson DJ, Crossland J, Shaw GG. The actions of spermidine and spermine on the central nervous system. *Neuropharmacology* 1975; 14: 571-7.
- Lieber C. Role of S-adenosyl-L-methionine in the treatment of liver diseases. *J Hepatol* 1999; 30: 1155-9.
- Mashige F, Tanaka N, Maki A, Kamei S, Yamanaka M. Direct Spectrophotometry of Total Bile Acids in Serum. *Clin Chem* 1981; 27(8): 1352-6.
- Russell HD, Medina JV, Syder HS. The dynamics of synthesis and degradation of polyamines in normal and regenerating liver and brain. *J Biol Chem* 1970; 245: 6732-3.
- Inoue H, Mizutani A. A new method for isolation of Polyamines from animal tissues. *Anal Biochem* 1973; 56: 408-16.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-73.
- Adibhatla RA, Hatcher JF, Sailor K, Dempsey J. Polyamines and central nervous system injury: spermine and spermidine decrease following transient focal cerebral ischemia in spontaneously hypertensive rats. *Brain Research* 2002; 1: 30-8.
- Muralikrishna Rao A, Hatcher J, Dempsey R. Polyamine response to CNS injury: for better or for worse? *Recent Research Developments in Neurochemistry* 1999; 2: 517-32.
- Gilad GM, Gilad VH. Polyamines in neurotrauma. Ubiquitous molecules in search of function. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 401-7.
- Henley CM, Wey K, Takashima A, Mills C, Granmayeh E, Krishnappa I et al. S-adenosylmethionine decarboxylase activity is decreased in the rat cortex after traumatic brain injury. *J Neurochem* 1997; 69: 259-65.
- Paschen W. Polyamine metabolism in different pathological states of the brain. *Mol Chem Neuropharmacol* 1992; 16: 241-71.
- Lee Y, Sayre LM. Reaffirmation that metabolism of polyamines by bovine plasma amine oxidase occurs strictly at primary amino termini. *J Biol Chem* 1998; 273: 19490-4.

## EFFECT OF L-METHIONINE ON POLYAMINE METABOLISM IN RATS' BRAIN WITH CHOLESTASIS

Dušan Sokolović, Gordana Bjelaković, Saša Zajić, Zoran Damnjanović, Jelenka Nikolić, Gordana Kocić, Dušica Pavlović, Ivana Stojanović and Tatjana Cvetković

The pathogenesis of encephalopathy in cholestasis results from the accumulation of unconjugated bilirubin (UCB) and hydrophobic bile acids (BA) in the brain. Toxic BA and UCB induce neurotoxicity, and being transported across the blood-brain barrier they are accumulated in the target neurons. Putrescine, spermidine and spermine are endogenous polyamines essential for cellular growth, proliferation, regeneration and differentiation. Amino-acid L-methionine (L-met) is required for biosynthesis of polyamines.

The aim of the study was to examine the effect of L-met in polyamine metabolism on cholestatic brain of injured rats.

Wistar rats were divided into 5 groups: I-control, II-sham operated rats, III-treated only with L-met, IV-bile duct ligated (BDL) rats, V-BDL rats treated with L-met (50 mg/kg BW). The animals were sacrificed after 9 days of treatment.

Increased concentration of plasma cholestatic markers (bilirubin and BA) in BDL rats was decreased by oral administration of L-met ( $p < 0.001$ ).

Cholestasis in rats' brain increases the putrescine level ( $110 \pm 13.2$  vs.  $65 \pm 6.8$  nmol/g;  $p < 0.001$ ) and decreases spermidine ( $298 \pm 19.2$  vs.  $318 \pm 19.5$  nmol/g;  $p < 0.05$ ) and spermine concentration ( $203 \pm 16.2$  vs.  $225 \pm 12.7$  nmol/g;  $p < 0.05$ ) in relation to sham operated rats. The increase of putrescine level after CNS trauma is adaptive neuroprotective responses. Administration of L-met in BDL rats prevents disorder of polyamines' biosynthesis and in the brain during cholestasis.

L-met is important for the regulation of polyamines' metabolism and demonstration of neuroprotective role in cholestasis. *Acta Medica Medianae* 2006; 45(1):21-26.

**Key words:** polyamines, cholestasis, L-methionine, brain