

*Dorota Skrajnowska, Barbara Bobrowska-Korczak, Małgorzata Jankowska,  
Agata Jagielska, Andrzej Tokarz*

## WPŁYW DIETY NA ZMIANY W ZAWARTOŚCI WYBRANYCH PIERWIĄSTKÓW W MÓZGACH SZCZURÓW Z RAKIEM SUTKA

Zakład Bromatologii  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego  
Kierownik: dr hab. *A. Tokarz*

*Celem pracy było zbadanie wpływu suplementacji diety szczurów jonami cynku oraz związkami polifenolowymi na zmiany w masie mózgu oraz zawartość w nim pierwiastków (Zn, Fe, Mg, Cu, Ca i P) u szczurów z rakiem sutka. Przewlekły proces nowotworowy i zastosowana suplementacja diety wywołały istotne zmiany w masie mózgu i ilości wapnia w badanej tkance.*

Hasła kluczowe: cynk, resweratrol, genisteina, mózg, szczury  
Key words: zinc, resveratrol, genistein, brain, rats

W Polsce rak gruczołu sutkowego jest pierwszą przyczyną zgonów spowodowanych nowotworami. Pacjentki chorujące na raka piersi często zgłaszają problemy z pamięcią, koncentracją i innymi poznawczymi zdolnościami (1, 2). Dzięki m.in. jonom cynku możemy odbierać i przetwarzać wrażenia zmysłowe oraz różne emocje. Pełni on szczególnie rolę w prawidłowym funkcjonowaniu OUN (3–5). Zawartość jonów  $Zn^{2+}$  w mózgu jest zaskakująco wysoka w porównaniu z innymi tkankami, szczególnie w rejonie hipokampa i kory nowej (150–200  $\mu M$ ) (5–7). Podobnie, korzystne działania pobudzające aktywność mózgu, poprzez zwiększenie przepływu krwi przez mózg i jego dotlenienie, przypisuje się flawonoidom. Wykazano, że resweratrol podawany w połączeniu z cynkiem może powodować zwiększenie transportu cynku do komórek tkanki gruczołu krokowego, za pomocą modulacji białek transportowych dla Zn, zwiększając w ten sposób skuteczność terapeutyczną cynku (8, 9).

Prezentowana praca obejmuje analizę zmian w zawartości Zn, Fe, Mg, Cu, Ca i P w mózgu szczurów z wyindukowanym chemicznie za pomocą 7,12-dimetylobenzo[*a*]antracenu (DMBA) rakiem gruczołu sutkowego, w stosunku do szczurów kontrolnych. Ponadto, podjęto również próbę analizy oddziaływania suplementacji diety szczurów samymi jonami cynku oraz w połączeniu ze związkami polifenolowymi – resweratrolem i genisteiną, na zmiany w masie mózgu i stężeniu wybranych pierwiastków.

## MATERIAŁ I METODY

W badaniach użyto samice szczurów szczepu Sprague – Dawley o początkowej masie ciała  $100 \pm 20$  g. Szczury miały zapewniony stały dostęp do wody i paszy, przetrzymywane były w pomieszczeniu o stałej temperaturze ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) i kontrolowanym 12-godzinnym rytmie dziennie-nocnym. Suplementacja cynkiem (w postaci  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) w dawce 231 mg Zn/kg paszy oraz cynk razem z resweratrolem lub genisteiną (w dawkach po 0,2 mg polifenoli/kg m.c.) podawano w postaci wodnego roztworu, w ilości 0,4 mL, za pomocą zgłębnika dożołądkowo, od 40 dnia do 20 tygodnia życia. Dietę standardową (Labofeed H) (77 mg Zn /g paszy; 21,3 mg Cu/kg paszy) – podawano zwierzętom bez ograniczeń. W celu wywołania nowotworu gruczołu sutkowego, szczurom z grup badanych podano w 50. i 80. dniu życia 7,12-dimetylobenzo[a]antracen (DMBA) w ilości 80 mg/kg m.c. Po dekapitacji zwierząt, pobierano mózgi, ważono je, następnie mineralizowano i oznaczano stężenia Zn, Fe, Mg, Cu, Ca i P przy użyciu płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (PU-9100). Stężenie fosforu oznaczano metodą spektrofotometryczną *Scheelego* (10). Wartości odzysku określono dla certyfikowanego materiału referencyjnego: NCS ZC 71001, Beef Liver i były one następujące Zn – 106%; Fe – 110%; Mg – 96%; Cu – 94%; Ca – 90% i P – 108%. Do oceny istotności statystycznej różnic między badanymi grupami zastosowano test t – Studenta, dla  $p < 0,05$ . Przeprowadzone badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Etycznej ds. Badań na zwierzętach WUM.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Uzyskane wyniki wskazują, że wyindukowany chemicznie nowotwór gruczołu sutkowego u szczurów skarmianych dietą wzbogaconą w cynk oraz w cynk i resweratrol powoduje istotny przyrost masy mózgowej w grupach badanych z rakiem sutka w porównaniu do grup kontrolnych (odpowiednio o 25% i 11%) (tab. I). Warto podkreślić, że masa ciała szczurów pomiędzy poszczególnymi grupami badanymi i kontrolnymi na analogicznych dietach nie różniła się istotnie statystycznie (tab. I). Zaobserwowane różnice w grupach skarmianych cynkiem i cynkiem w połączeniu z resweratrolem nie wynikały z zasady, że masa mózgu ssaków rośnie wraz z masą ciała. W późniejszym okresie życia, masa mózgu jest niezależna od masy ciała i nie jest istotna liczba komórek, ale ilość połączeń nerwowych pomiędzy poszczególnymi komórkami. W prezentowanej pracy zaobserwowany wzrost masy mózgu, dotyczy szczurów w pełnej dojrzałości płciowej (5 miesiąc życia szczura), skarmianych dietą z dodatkiem silnych, znanych antyoksydantów: cynku i resweratrolu. Z danych już publikowanych, wynika że zastosowana suplementacja nie wpłynęła korzystnie (hamująco) na ilość tworzących się guzów nowotworowych, a nawet istotnie przyspieszyła szybkość ich pojawiania się (11).

Niezależnie od zastosowanej suplementacji nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości pierwiastków w mózgu szczurów badanych i kontrolnych, będących na analogicznych dietach. Jedynie w przypadku diety suplementowanej cynkiem zaobserwowano zmianę stężenia wapnia w mózgu szczurów z wyindukowanym nowotworem sutka. Odnotowano 46% spadek zawartości wapnia w grupie badanej, w porównaniu do grupy kontrolnej (tab. II).

Tabela I. Porównanie mas mózgow i masy ciała szczurów

Tabela I. A comparison of the mass of brain and body weight of rats

Diety	Masa mózgu (g)		Masa ciała (g)	
	Grupa kontrolna (n=6) (X ± SD)	Grupa badana (n=7) (X ± SD)	Grupa kontrolna (n=6) (X ± SD)	Grupa badana (n=7) (X ± SD)
Standard	1,373 ± 0,208	1,418 ± 0,226	248,3 ± 10,8	230,0 ± 7,7
Zn	1,322 ± 0,215*	1,657 ± 0,097*	220,4 ± 21,3	232,0 ± 12,0
Zn + Resweratrol	1,498 ± 0,109*	1,668 ± 0,054*	224,8 ± 9,0	231,2 ± 18,5
Zn + Genisteina	1,432 ± 0,325	1,498 ± 0,146	235,5 ± 20,9*	205,8 ± 16,9*

\* – różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a badaną na takiej samej diecie ( $p < 0,05$ ); X- średnia arytmetyczna, SD – odchylenie standardowe, n -liczba szczurów

\* – statistically significant results of the comparison between study and control group on the same diet ( $p < 0,05$ ); X- mean value; SD – standard deviation, n – number of rats

Tabela II. Porównanie zawartości pierwiastków w mózgu szczurów z grup kontrolnych i badanych otrzymujących analogiczne diety

Tabela II. A comparison of the bioelements levels in the brain of the rats from the study groups and the control groups on the same diet

Rodzaj diety	Ca (mg/g tkanki)		P (mg/g tkanki)		Mg (mg/g tkanki)	
	kontrola (n=6) (X ± SD)	badana (n=7) (X ± SD)	kontrola (n=6) (X ± SD)	badana (n=7) (X ± SD)	kontrola (n=6) (X ± SD)	badana (n=7) (X ± SD)
Standard	0,111 ± 0,03	0,077 ± 0,04	3,524 ± 0,17	3,623 ± 0,13	0,142 ± 0,01	0,132 ± 0,01
Zn	0,391 ± 0,09	0,213 ± 0,10*	3,554 ± 0,19	3,521 ± 0,17	0,140 ± 0,01	0,139 ± 0,01
Zn + Resweratrol	0,134 ± 0,05	0,159 ± 0,05	3,347 ± 0,48	3,494 ± 0,19	0,145 ± 0,01	0,138 ± 0,01
Zn + Genisteina	0,295 ± 0,09	0,259 ± 0,08	3,954 ± 0,34	3,740 ± 0,44	0,162 ± 0,02	0,149 ± 0,01
	Zn (μg/g tkanki)		Fe (μg/g tkanki)		Cu (μg/g tkanki)	
Standard	9,022 ± 0,34	8,781 ± 0,54	13,12 ± 1,86	13,33 ± 1,77	2,632 ± 0,36	2,535 ± 0,09
Zn	9,076 ± 0,74	9,144 ± 0,41	16,28 ± 3,63	13,61 ± 1,72	2,661 ± 0,16	2,428 ± 0,16
Zn + Resweratrol	9,481 ± 0,42	9,028 ± 0,63	14,66 ± 1,94	14,51 ± 2,69	2,459 ± 0,19	2,557 ± 0,23
Zn + Genisteina	9,197 ± 0,68	9,247 ± 0,79	14,64 ± 2,12	13,73 ± 1,92	2,771 ± 0,21	2,925 ± 0,54

\* – różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą kontrolną a badaną na takiej samej diecie; X – średnia arytmetyczna, SD – odchylenie standardowe, n – liczba szczurów

\* – statistically significant results of the comparison between study and control group on the same diet ( $p < 0,05$ ); X- mean value; SD – standard deviation, n- number of rats

Wapń odgrywa niezwykle istotną rolę w procesach zachodzących w obrębie neuronów i największych komórek glejowych czyli astrocytów (12). Jony wapnia pełnią rolę przekaźników pierwszego i drugiego rzędu, przesyłając sygnały do wnętrza komórki (13, 14). Jony wapnia są również zaangażowane w modyfikację ekspresji genów w odpowiedzi na sygnał odebrany przez synapsy glutaminergiczne występujące we wszystkich neuronach w mózgowiu (14). W dostępnym piśmiennictwie brak jest publikacji odnośnie zmian w stężeniu wapnia w mózgu w trakcie prze-

biegu choroby nowotworowej. W badaniu *Yang* i wsp. (15) oraz *Szewczyka* i wsp. (16) zwrócono uwagę, że zawartość cynku w całym mózgu, może być inna niż w poszczególnych jego strukturach – w hipokampie i korze mózgowej. Wydaje się więc, że nie tylko zastosowana dawka i czas ekspozycji, ale również obszar mózgu może mieć bardzo istotny wpływ na zawartość cynku i prawdopodobnie innych pierwiastków w mózgu.

## WNIOSKI

1. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości pierwiastków w mózgu szczurów badanych i kontrolnych. Zawężenie obszaru badań zmian zawartości pierwiastków do poszczególnych części funkcjonalnych mózgu, może stworzyć możliwości bardziej precyzyjnego określenia zależności funkcjonowania mózgu od zmian w metabolizmie i dystrybucji różnych pierwiastków.

D. Skrajnowska, B. Bobrowska-Korczak, M. Jankowska,  
A. Jagielska, A. Tokarz

### THE EFFECT OF APPLIED DIETS ON CHANGES IN CHOSEN MINERAL LEVELS IN THE BRAINS OF RATS WITH BREAST CANCER

#### Summary

The aim of the study was to investigate the effect of dietary zinc ions, and zinc in combination with resveratrol or genistein on the level of some minerals (zinc, magnesium, copper, calcium, iron and phosphorus) in the brain, in the conditions of the ongoing process of cancer induced by 7,12 – dimethylbenz[a]anthracene (DMBA).

Depending of dietary supplementation the chemical induction of breast cancer with DMBA resulted in statistically significant brain weight gain relative to the control. During the process of neoplastic changes the concentrations of elements wasn't modified.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Wefel J.S.I., Kesler S.R., Noll K.R., Schagen S.B.*: Clinical characteristics, pathophysiology, and management of noncentral nervous system cancer-related cognitive impairment in adults CA Cancer J Clin., 2015; 65(2): 123-38. – 2. *Reuter-Lorenz P.A., Cimprich B.*: Cognitive function and breast cancer: promise and potential insights from functional brain imaging. Breast Cancer Res. Treat., 2013; 137(1): 33-43. – 3. *Gapys B., Raszeja-Specht A, Bielarczyk H.*: Rola cynku w procesach fizjologicznych i patologicznych organizmu. Diagn. Lab., 2014; 50(1): 45-52. – 4. *Takeda A.*: Zinc homeostasis and functions of zinc in the brain. BioMetals, 2001; 14: 343-351. – 5. *Grabrucker A.M., Rowan M., Garner C.C.*: Brain-Delivery of Zinc-Ions as Potential Treatment for Neurological Diseases: Mini Review. Drug Deliv. Lett., 2011; 1(1): 13-23. – 6. *Sliwinski T., Czechowska A., Kolodziejczak M., Jajte J., Wiśniewska-Jarosińska M., Błasiak J.*: Zinc salts differentially modulate DNA damage in normal and cancer cells. Cell Biology International., 2009; 33(4): 542-547. – 7. *John E., Laskow C.T., Buchser JW, Pitt RB, Basse HP, Butterfield HL, Kalinski P, Lotze TM.*: Zinc in innate and adaptive tumor immunity. J. Transl. Med., 2010; 8: 118. – 8. *Singh C.K., Ndiave M.A., Ahmad N.*: Resveratrol and cancer: Challenges for clinical translation. Biochim. Biophys. Acta, 2015; 1852(6): 1178-1185. – 9. *Pałgan K.*: Znaczenie genisteiny w rozwoju niektórych nowotworów. Czynniki ryzyka, 2000; 2-3: 53-57. – 10. *Oleđzka R., Woźniak J.*: Analiza Bromatologiczna. Jakość zdrowotna żywności. WUM, Warszawa, 2010; 67-70.

11. *Bobrowska-Korczak B., Skrajnowska D., Tokarz A.*: The effect of dietary zinc – and polyphenols intake on DMBA-induced mammary tumorigenesis in rats. *J. Biomed. Sci.*, 2012; 19(1): 43–12. *Haydon P.G.*: Glia: Listening and talking to the synapse. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001; 2: 185-193. – 13. *Rodriguez M.J., Adroer R., de Yebra L., Ramonet D., Mahy N.*: Calcium homeostasis in the central nervous system: adaptation to neurodegeneration. *Contributions to Science*, 2001; 2(1): 43-61. – 14. *Szulc M., Michalak S., Figas A, Nowak P, Rybarczyk A.*: Fale jonów wapniowych, jako modulator oddziaływania pomiędzy neuronami a glejem. *Neuroskop*, 2008; 10: 110-114. – 15. *Yang Y., Jing XP, Zhang S.P., Gu R.X., Tang F.X., Wang X.L., Xiong Y., Qiu M., Sun X.Y., Ke D., Wang J.Z., Liu R.*: High dose zinc supplementation induces hippocampal zinc deficiency and memory impairment with inhibition of BDNF signaling. *PLoS One*, 2013; 8(1): 1-9. – 16. *Szewczyk B., Sowa M., Czupryn A., Wierońska J., Brański P., Sadlik K., Opolka W., Piekoszewski W., Smiałowska M., Skangiel-Kramaska J., Pilc A., Nowak G.*: Increase in synaptic hippocampal zinc concentration following chronic but not acute zinc treatment in rats. *Brain Res.*, 2006; 23, 1090(1): 69-75.

Adres: ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa