



## The effect of third-generation aromatase inhibitors on aromatase activity in visceral adipose tissue

D. V. Lytkin, A. L. Zagayko, T. O. Briukhanova

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

### Article info

Received 06.03.2018

Received in revised form  
29.03.2018

Accepted 04.04.2018

National University of  
Pharmacy, Pushkinska st.,  
53, Kharkiv, 61002,  
Ukraine.  
Tel.: +38-050-287-69-71.  
E-mail:  
d.v.lytkin@gmail.com

*Lytkin, D. V., Zagayko, A. L., & Briukhanova, T. O. (2018). The effect of third-generation aromatase inhibitors on aromatase activity in visceral adipose tissue. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 9(2), 209–215. doi:10.15421/021831*

Pathogenesis and clinical manifestations of metabolic syndrome (and other conditions characterized by the growth of fat mass and decreased adiponectin content) is associated with an imbalance of sex hormones, which develops under the influence of increased aromatase activity in adipose tissue. Drugs of the aromatase inhibitors therapeutic group are able to suppress the course of the aromatase reaction in the central and peripheral organs and tissues. The aim of our study was to establish the relationship between levels of serum adiponectin and adipose tissue aromatase activity in Syrian hamsters of different ages and gender with experimental metabolic syndrome and study the effect of aromatase inhibitors on these indicators. Experimental metabolic syndrome in animals was induced by a high-fat and fructose diet. The drugs were administered during the 21-st day in doses of 3.086 (exemestane), 0.309 (letrozole) and 0.126 mg/kg (anastrozole). The aromatase activity of the visceral adipose tissue was determined by the modified kinetic method based on the amount of the reaction product estradiol converted from testosterone. The content of estradiol in adipose tissue homogenate and serum adiponectin levels were measured by the immune enzyme method. The results showed a high inverse correlation between serum adiponectin and adipose tissue aromatase activity in hamsters. Aromatase inhibitors caused a decrease in the adipose tissue aromatase activity and increase in serum adiponectin levels. Letrozol demonstrated the greatest effect, it reduced aromatase activity in adipose tissue by 72–84% and increased serum adiponectin content by 1.6–1.8 times. At the same time, intra-group correlation of the studied parameters was significant. The results show the relationship between adiponectin level and adipose tissue aromatase activity and ability to change these rates by the way of aromatase inhibitors, which may be useful in clinical practice. Third-generation aromatase inhibitors are promising drugs for metabolic syndrome treatment and require further study in clinical trials.

*Keywords:* exemestane; letrozole; anastrozole; adiponectin; metabolic syndrome

## Вплив інгібіторів ароматази третього покоління на ароматазну активність вісцеральної жирової тканини

Д. В. Литкін, А. Л. Загайко, Т. О. Брюханова

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

Патогенез та клінічні прояви метаболічного синдрому (та інших станів, що характеризуються зростанням жирової маси та зниженням вмісту адипонектину) асоційовані з дисбалансом статевих гормонів, який розвивається за впливу зростання активності ароматази в жировій тканині. Препарати групи інгібіторів ароматази здатні пригнічувати перебіг ароматазної реакції в центральних і периферичних органах і тканинах. Мета цього дослідження – встановити взаємозв'язок між рівнем сироваткового адипонектину й ароматазною активністю жирової тканини на тлі експериментального метаболічного синдрому у сирійських хом'ячків різного віку та статі та вивчення впливу інгібіторів ароматази на ці показники. Експериментальний метаболічний синдром у тварин індукували дієтою з високим вмістом жирів та фруктози. Препарати застосовували впродовж 21 доби в дозах 3,086 (екземестан), 0,309 (летрозол) та 0,126 мг/кг (анастрозол). Ароматазну активність вісцеральної жирової тканини визначали модифікованим кінетичним методом за кількістю продукту реакції – естрадіолу, що утворився з тестостерону. Вміст естрадіолу в гомогенаті жирової тканини та рівень сироваткового адипонектину визначали імуноферментним методом. Результати дослідження показали високу зворотну кореляцію між рівнем сироваткового адипонектину та ароматазною активністю жирової тканини у хом'ячків. Застосування інгібіторів ароматази сприяло зменшенню ароматазної активності жирової тканини та зростанню рівня адипонектину в сироватці. Найбільший ефект продемонстрував препарат летрозол, що знижував активність ароматази в жировій тканині на 72–84% та збільшував вміст адипонектину в сироватці в 1,6–1,8 раза. При цьому внутрішньогрупова кореляція досліджуваних показників була значущою. Результати дослідження показують наявність взаємозв'язку між рівнем адипонектину й ароматазною активністю жирової тканини та можливість впливати на ці показники шляхом фармакокорекції, що може бути використано в клінічній практиці. Інгібітори ароматази третього покоління можуть стати перспективними препаратами для лікування метаболічного синдрому та потребують подальшого вивчення в клінічних дослідженнях.

*Ключові слова:* екземестан; летрозол; анастрозол; адипонектин; метаболічний синдром

## Вступ

Ароматазний ферментний комплекс – останній елемент ланки біосинтезу стероїдів, завдяки якому каталізуються реакції конверсії андрогенів в естрогени. В ході ароматизації стероїди андрогенового ряду C<sub>19</sub> реагують із NADPH і киснем у декілька етапів окисного гідроксилування, після чого відбувається ароматизація кільця А та втрата одного атома карбону у формі форміатної кислоти, таким чином утворюються продукти C<sub>18</sub>. Цей тип реакції потребує двох ензимів, що входять до комплексу: цитохрому P<sub>450arom</sub> та NADPH-цитохром P<sub>450</sub> редуктази. Головні ендогенні субстрати ароматазної реакції в організмі людини – тестостерон і андростендіон, а продукти – естрадіол і естрон, відповідно (Blakemore & Naftolin, 2016; Chan et al., 2016; Ghosh et al., 2016).

Цей ферментний комплекс міститься в ендоплазматичному ретикулумі різних клітин, присутніх в яєчниках, плаценті, молочних залозах, матці, яєчках, мозку, жировій тканині тощо. Таким чином, у цих органах може відбуватися утворення естрогенів *de novo* або із транспортованих до них з інших тканин і депонованих там андрогенів (Biegon, 2016; Chan et al., 2016). Особливий інтерес у медицині викликає інтрагуморальна ароматаза, зокрема, молочної залози. В атипових естрогензалежних клітинах пухлини молочної залози надмірно посилюється локальна ароматазна активність, при цьому експресується велика кількість естрогенових рецепторів. Локально утворені та циркулюючі естрогени через відповідні рецептори та сигнальні шляхи стимулюють експресію генів та синтез внутрішньоклітинних білків, що стимулюють проліферацію клітин та сприяють росту пухлини, секрецію сигнальних білків, які індукують механізми метастазування (Ozkaaya et al., 2016; Zhao et al., 2016).

Для зменшення цього негативного стимулювального ефекту в сучасній клінічній практиці використовують інгібітори ароматази, які суттєво зменшують активність цього ферментного комплексу в центральних і периферичних органах і, як наслідок – зменшують кількість потенційних лігандів до естрогенових рецепторів у пухлині. Молекули препаратів цієї групи мають стероїдну та триазольну структуру та здатні в ролі псевдосубстрату зворотно або незворотно блокувати активний центр ароматази, тим самим робити фермент неактивним і недоступним для субстрату. Крім того, препарати триазольного походження ще здатні інактивувати реакційну здатність атома феруму у складі гему цитохрому P<sub>450</sub>. Незважаючи на досить інваріативний механізм дії, інгібітори ароматази третього покоління відзначаються значущою клінічною ефективністю та успішно застосовуються в ад'ювантній терапії естроген-рецептор позитивного раку молочної залози (здебільшого у пацієнток постменопаузного віку), навіть у випадках відсутності відповіді на лікування антиестрогенними препаратами першої лінії терапії. Антиароматазні препарати третього покоління характеризуються високою селективністю до відповідного ензиму та володіють задовільним профілем безпеки (Mantas et al., 2016; Viciano & Martí, 2016; Mojaddami et al., 2017).

Низка клінічних досліджень із використання інгібіторів ароматази третього покоління вказує на часткове помірне зниження ефективності застосування препаратів саме у пацієнток із зайвою вагою та надмірним індексом маси тіла. При цьому в усіх пацієнток незалежно від конституції істотно зменшувався рівень естрогенів, що циркулюють у крові. На нашу думку, цей факт може вказувати на те, що більша кількість препарату розподілилася у вісцеральну жирову тканину, місцево зв'язалася з ароматазним комплексом із пригнічуванням його активності та не досягла органа-мішені молочної залози та тканин навколо, через що менше інгібувалася місцева продукція естрогенів в області пухлини. У більшості випадків висновком результатів досліджень виступала необхідність корекції доз у таких пацієнток (Pfeiler et al., 2013; Ioannides et al., 2014; Lønning et al., 2014). Проте ми вважаємо, що така особливість цих препаратів може бути застосована в терапії захворювань, у патогенезі яких має місце гіпер-

продукція естрогенів, викликана збільшенням ароматазної активності саме вісцеральної жирової тканини.

Слід зазначити, що вісцеральна жирова тканина продукує значну кількість естрогенів в організмі людини, частина з яких депонується у тканині, а частина – переходить до кровообігу. Близько третини циркулюючих естрогенів утворюється шляхом ароматизації андрогенів у жирових депо організму. У жінок після настання менопаузи жирова тканина практично переймає функцію продукування естрогенів. Хоча більш типовий продукт для жирової тканини – естрон, що володіє помірною естрогенною активністю, також за рахунок тестостерону вона може продукувати значну кількість більш функціонально активного естрадіолу. Обидва продукти зв'язуються з естрогеновими рецепторами всіх типів (проте з різною афінністю) та запускають у клітинах відповідний сигнал, у тому числі в ракових (Blakemore & Naftolin, 2016; Chan et al., 2016).

Серед усіх клітин жирової тканини значною мірою ароматазу експресують лише преадипоцити, що з диференціацією втрачають таку властивість. Таким чином, загальна ароматизація та продукція естрогенів у жировій тканині залежить від загальної кількості преадипоцитів, а значить від загального розміру жирових депо. Збільшення вмісту жирової тканини в організмі сприяє зростанню кількості продукованих нею естрогенів. У свою чергу естрогени викликають зростання жирової тканини через індукцію проліферації преадипоцитів (нетиповий механізм), які починають виробляти ще більше естрогенів, що лише посилює цей процес (Dos Santos et al., 2010; Bulun et al., 2012; Chan et al., 2016).

Одне з найпоширеніших захворювань, що характеризується патологічною зміною ароматазної активності жирової тканини, – метаболічний синдром. Дисбаланс статевих гормонів за метаболічного синдрому, асоційований зі зміною активності зазначеного ензиму, посідає одне з центральних місць у патогенезі вказаної патології та відповідно впливає на механізми розвитку всіх його патогенетичних компонентів і маніфестації клінічних проявів (ожиріння, дисліпідемія, підвищена глюкоза натщесерце, інсулінорезистентність) (Guamer-Lans et al., 2011; Kim & Halter, 2014).

Визначають високу кореляцію між вмістом естрогенів (особливо естрону – головного продукту периферійної ароматизації) в сироватці крові зі ступенем ожиріння та індексом маси тіла у пацієнтів як чоловічої, так і жіночої статі (Newbold et al., 2009; Cao et al., 2012; Jones et al., 2013; Voonchaya-anant et al., 2016). Посилення росту жирової тканини та збільшення ароматазної активності викликає ще більшу продукцію естрогенів, частина з яких мобілізується в системний кровообіг. Таким чином, у більшості хворих на метаболічний синдром реєструють збільшення вмісту естрогенів (здебільшого естрону) у плазмі крові (Kim & Halter, 2014). Дисбаланс статевих гормонів зі збільшенням плазматичного рівня естрогенів, асоційований із гіперглікемією та діабетом, негативно впливає на вуглеводний обмін, зменшує чутливість клітин до інсуліну через зниження експресії інсулінзалежного транспортера глюкози GLUT4, у зв'язку з чим у таких пацієнтів реєструють істотно збільшений індекс НОМА-IR (Xu et al., 2008). Надмірний рівень естрогенів провокує розвиток дисліпідемії не тільки опосередковано через збільшення обсягу жирової тканини, а і прямими механізмами дії на естрогенові рецептори печінки та підвищенням активності гормонзалежної ліпопротеїноліпази жирової тканини (Gao et al., 2008; Comitato et al., 2015).

Все зазначене вище дає змогу висловити гіпотезу, що за метаболічного синдрому істотно зростає ароматазна активність вісцеральної жирової тканини, а інгібітори ароматази, імовірно, можуть корегувати активність цього ензиму у преадипоцитах, що може впливати на перебіг метаболічного синдрому взагалі або на його окремі складові.

Нині одним із найінформативніших прогностичних маркерів перебігу метаболічного синдрому та низки інших станів, в основі яких має місце порушення обміну вуглеводів (інсулінорезистентність, підвищення глюкози натщесерце) та ліпідів (гіперліпідемія, ожиріння), є рівень адипонектину в крові. За цих захворювань рівень адипонектину знижується, на відміну від інших

адипокінів, і має чітку кореляцію з рівнем ліпідів, ліпопротеїдів та НОМА-IR (Von Frankenberg et al., 2014; Ding et al., 2015). Слід зазначити, що адипонектин має здатність впливати на проліферацію та диференціювання преадипоцитів, а також є дані, що його вміст зворотно корелює із щільністю кісткової тканини та масою вісцерального жиру (Körner et al., 2005; Richards et al., 2007; Matsushita et al., 2013). Ці факти можуть вказувати на імовірний взаємозв'язок між обміном естрогенів, ароматазною активністю жирової тканини та рівнем адипонектину в сироватці крові.

Мета цього дослідження – визначити ароматазну активність жирової тканини та її кореляції з вмістом сироваткового адипонектину на тлі експериментального метаболічного синдрому у тварин, а також визначення впливу застосування інгібіторів ароматази на досліджувані показники.

## Матеріал і методи досліджень

Досліджено 200 аутобредних сирійських хом'ячків (*Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1839) обох статей віком 1,0 і 2,5 місяця (на момент початку експерименту). Піддослідні тварини утримувалися у виварії ЦНДІ Національного фармацевтичного університету згідно зі стандартними санітарними нормами у рекомендованих для цього виду тварин умовах. Кожен етап дослідження проводили відповідно до біотичних норм, установлених директивою Ради ЄС 86/609 ЄС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов і адміністративних положень держав ЄС із питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети.

Перед початком експерименту тварин зважували та розподіляли на чотири рандомізовані за віком і статтю кластери по 50 тварин у кожному, що, у свою чергу, поділялися на 5 аналогічних груп по 10 тварин. Експозиції експериментальних груп сформована згідно зі встановленою метою дослідження:

- група 1 – інтактні тварини без модельної патології;
- група 2 – тварини з експериментальною контрольною патологією;
- група 3 – тварини з експериментальною патологією, які отримали препарат екземестан;
- група 4 – тварини з експериментальною патологією, які отримали препарат летрозол;
- група 5 – тварини з експериментальною патологією, які отримали препарат анастрозол.

Модельну патологію аліментарного метаболічного синдрому у тварин індукували модифікованою висококалорійною дієтою з високим вмістом жирів та вуглеводів (із високою часткою фруктози), наближеною до «дієти кафетерію», що викликало додаткове поглинання калорій шляхом добровільної гіперфагії (Dalbøge et al., 2015; Wong et al., 2016). У межах цієї моделі тварин утримували на такому раціоні протягом 6 тижнів. Тварин із групи інтактного контролю утримували на стандартному збалансованому раціоні для хом'ячків упродовж усього експерименту.

Як фармакокоректори ароматазної активності жирової тканини тварин застосовували інгібітори ароматази третього покоління, зареєстровані на території України: препарат із класу стероїдних інгібіторів ароматази екземестан (Екземестан-Віста<sup>®</sup>, табл. 25 мг, No 30, № UA/14554/01/01) та препарати з класу триазольних інгібіторів ароматази летрозол (Летромара<sup>®</sup>, табл. 2,5 мг, No 30, № UA/4698/01/01) та анастрозол (Анастрозол Сандоз<sup>®</sup>, табл. 1 мг, No 28, № UA/13575/01/01).

Добові дози препаратів, еквівалентні для тварин (AED), розраховані згідно з останніми рекомендаціями щодо проведення доклінічних досліджень з урахуванням середньотерапевтичних добових доз для людини та міжвидової різниці маси та площі поверхні тіла (Naig & Jacob, 2016). Таким чином, добові дози препаратів для хом'ячків склали: екземестану – 3,086 мг/кг, летрозолу – 0,309, анастрозолу – 0,126 мг/кг.

Після відтворення стійкого метаболічного синдрому у тварини починали застосовувати відповідні інгібітори ароматази. Необхідну індивідуальну для кожної тварини кількість препара-

ту зважували та диспергували в одному мілілітрі очищеної води та вводили внутрішньошлунково за допомогою спеціального зонда один раз на добу упродовж 21 доби. Для відтворення рівних умов експерименту тваринам із групи негативного та позитивного контролю вводили 1 мл очищеної води упродовж цього періоду. Уведення тваринам лікарських засобів і плацебо здійснювали щодоби о 9.00–9.30 натщесерце перед контрольним зважуванням. Необхідну для тварини кількість препарату корегували, враховуючи масу тіла на поточну добу. Протягом зазначеного періоду раціон тварин усіх груп залишався незмінним, що дозволяє оцінити вплив саме препаратів, а не зміни способу життя, на оцінювання показників і перебіг метаболічного синдрому.

Після курсового застосування препаратів упродовж 21 доби (або еквівалентного часу очікування в разі позитивного та негативного контролю) всіх тварин виводили з експерименту під хлоралозо-уретановим наркозом шляхом декапітації та відбирали біологічний матеріал. Заздалегідь перед евтаназією тварини були позбавлені вільного доступу до їжі. У декапітованих тварин збирали кров для отримання сироватки (де визначали вміст адипонектину) та хірургічно вилучали мезентеральну вісцеральну жирову тканину (для оцінювання ароматазної активності).

Слід зазначити, що наразі не існує однієї уніфікованої, ефективно та економічно доцільної методики визначення активності ароматази в жировій тканині, тому ми використовували модифіковану методику визначення цього показника на основі декількох праць і особито отриманих емпіричних даних – кінетичне визначення активності ароматази за кількістю продукту реакції імуноферментним методом (Sun et al., 2007; Tinwell et al., 2011).

Гомогенат отримували з 1 г жирової тканини в 3 мл 0,1 М калій фосфатного буфера (pH = 7,4) за низької температури, для кращої солюбілізації жирових клітин додавали 0,015 г лаурил сульфату, після чого отриманий гомогенат проходив два цикли заморожування/розморожування задля руйнування клітинних мембран. Вміст білка в гомогенаті визначали після осадження центрифугуванням із трихлороцтовою кислотою та перерозчищенням в 0,1 Н розчині натрію гідроксиду методом Лоурі в модифікації Хартрі (метод Міллера в модифікації Хартрі). Після реакції утворення біуретового мідного комплексу та взаємодії реактиву Фоліна з тирозином і цистеїном у пептидних ланцюгах інтенсивність забарвлення виміряли проти бланка за 650 нм (Redmile-Gordon et al., 2013).

Активність ароматази визначали за отриманням продукту естрадіолу з доданого до реакційної суміші надлишку тестостерону та NADPH. Оскільки тестостерон – не переважаючий субстрат для ароматази жирової тканини, а естрадіол – не переважаючий продукт цієї реакції, їх вміст у жировій тканині досить помірний, що дає змогу визначити зміну концентрації.

Для проведення реакції в пробірку додавали 1 мл отриманого гомогенату, 29 мкмоль тестостерону та 200 мкмоль NADPH. Додавання NADPH ініціювало ароматазну реакцію. Після чого пробу інкубували на термостатувальному шейкері Immuno Chem-2200 (НТІ, США) упродовж 30 хвилин за температури 37 °С. Із відповідного зразка гомогенату також готували нульову пробу, без додавання компонентів реакції та інкубування, де вимірювали вихідну кількість естрадіолу. Після інкубування реакцію призупиняли еквімолярним додаванням HCl до відмітки pH = 7,0. Проби центрифугували практично за 5 000 g і відбирали супернатант для імуноферментного аналізу.

Кількісне визначення естрадіолу в супернатанті та адипонектину в сироватці крові проводили імуноферментним методом ELISA за допомогою відповідних стандартних наборів реактивів Естрадіол ІФА (ТОВ «ХЕМА», Україна) та Hamster Adiponectin ELISA Kit (LifeSpan BioSciences Inc., США) згідно з інструкцією до застосування на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303 plus (Awareness Technology, США).

Отримані результати розраховані статистико-логістичним методом 4PI за допомогою інтернет-сервісу для вільного використання MyAssays<sup>®</sup> і додатково статистично оброблені із застосуванням непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U-Test)

за допомогою стандартного пакета комп'ютерної програми Statistica 7.0. Взаємозв'язки між ознаками визначали за показником коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона та оцінювали їх силу за шкалою Чеддока. Для кращого інтерпретування результатів і уникнення низки помилок під час тестування статистичних гіпотез застосовано інтервали вірогідності  $P < 0,05$  та  $0,01$ .

## Результати

За впливу тривалої висококалорійної дієти з високим вмістом жирів і фруктози в усіх тварин незалежно від статі та віку спостерігали збільшення ароматазної активності жирової тканини та зменшення вмісту адипонектину в сироватці крові, що узгоджується із загальними уявленнями щодо перебігу експериментального метаболічного синдрому. Також у піддослідних тварин визначали значну зворотну кореляцію між цими двома показниками, що може свідчити про високу ймовірність наявності взаємних регуляторних механізмів (табл. 1).

**Таблиця 1**

Кореляційний зв'язок між ароматазною активністю жирової тканини та рівнем адипонектину в сироватці крові

| Експериментальні тварини                                         | Тварини віком 2,5 місяця (на початок експерименту) |        | Тварини віком 1 місяць (на початок експерименту) |        |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------|--------------------------------------------------|--------|
|                                                                  | самці                                              | саміці | самці                                            | саміці |
| Тварини, які не отримували інгібітори ароматази                  | -0,898                                             | -0,859 | -0,839                                           | -0,701 |
| Тварини, які отримували екземестан (внутрішньогрупова кореляція) | -0,764                                             | -0,721 | -0,613                                           | -0,637 |
| Тварини, які отримували летрозол (внутрішньогрупова кореляція)   | -0,821                                             | -0,865 | -0,860                                           | -0,674 |
| Тварини, які отримували анастрозол (внутрішньогрупова кореляція) | -0,791                                             | -0,798 | -0,706                                           | -0,670 |

У самців хом'ячків віком 2,5 місяця на початок експерименту, на тлі модельної дієти вірогідно зростає рівень ароматазної активності втричі та зменшується вміст адипонектину в сироватці у 2,7 раза (табл. 2). Наявність досить високої, за шкалою Чеддока, зворотної кореляції цих показників та практично пропорційна їх зміна у зрілих самців свідчить про високу прогностичну значущість визначення показника ароматазної реакції в жировій тканині за експериментальних патологій, що характеризуються зменшенням рівня адипонектину та порушенням метаболізму в жировій тканині (метаболічний синдром, ожиріння тощо).

За впливу екземестану, що вводився дозою 3,086 мг/кг у самців даної групи з високою вірогідністю зменшувався ступінь ароматизації у вісцеральній жировій тканині на 75,5% порівняно з аналогічним показником тварин із групи контрольної патології ( $P < 0,01$ ). У свою чергу, рівень адипонектину в сироватці крові цих тварин вірогідно зростає практично удвічі. Внутрішньогруповий коефіцієнт кореляції між показниками в цій групі був зворотним високим ( $R = -0,764$ ).

Застосування у зрілих самців антиароматазних препаратів триазольної будови викликало вірогідне зменшення активності ароматази в жировій тканині на 84,2% у групі летрозолу та на 78,3% у групі анастрозолу ( $P < 0,01$ ). Слід зазначити, що цей показник ароматизації за дії препаратів із високим ступенем вірогідності був навіть меншим за інтактне значення. Летрозол і анастрозол сприяли зростанню рівня адипонектину у тварин із метаболічним синдромом майже в 2,4 та 2,3 раза відповідно, була зафіксована тенденція до нормалізації цього показника, але все ж таки були наявні статистичні відмінності від значень інтактної групи ( $P < 0,05$ ). Сила зворотного взаємозв'язку між показниками у цих групах за шкалою Чеддока була високою.

Ароматазна активність вісцеральної жирової тканини у самців віком 2,5 місяця на початок експерименту на тлі аліментарного метаболічного синдрому вірогідно зростала в 2,8 раза, а рі-

вень сироваткового адипонектину, навпаки, зменшувався майже удвічі. Крім того, простежувалася чітка зворотна залежність між двома досліджуваними показниками (табл. 3). Також висока кореляція між показниками в цій групі зберігалася всередині груп, де застосовували інгібітори ароматази.

**Таблиця 2**

Вплив інгібіторів ароматази на специфічні показники перебігу метаболічного синдрому в самців хом'ячків зрілого віку ( $x \pm SD$ ,  $n = 10$ )

| Експериментальна група | Ароматазна активність жирової тканини за естрадіолом, пмоль/мг білка $\times$ год. | Адипонектин у сироватці крові, нг/мл |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Інтактний контроль     | 0,251 $\pm$ 0,024                                                                  | 221,19 $\pm$ 10,34                   |
| Контрольна патологія   | 0,751 $\pm$ 0,064**                                                                | 81,59 $\pm$ 4,32**                   |
| Екземестан             | 0,184 $\pm$ 0,017***                                                               | 164,78 $\pm$ 7,85***                 |
| Летрозол               | 0,119 $\pm$ 0,013***                                                               | 192,33 $\pm$ 5,41***                 |
| Анастрозол             | 0,163 $\pm$ 0,022***                                                               | 186,94 $\pm$ 6,27***                 |

*Примітки:* \* – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю за рівня значущості  $P < 0,05$ , \*\* – за рівня значущості  $P < 0,01$ ; # – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології за рівня значущості  $P < 0,05$ , ## – за рівня значущості  $P < 0,01$ .

За впливу внутрішньошлункового введення екземестану впродовж 21 доби ароматазна активність жирової тканини зменшувалася та майже не відрізнялася від аналогічного показника в інтактній групі, а вміст адипонектину в сироватці крові зростає практично в 1,6 раза порівняно з контрольною патологією. Застосування летрозолу в дозі 0,309 мг/кг та анастрозолу в дозі 0,126 мг/кг зменшувало інтенсивність ароматизації в жировій тканині на 75,3% і 72,9% відповідно, що було вірогідно менше за показник інтактного контролю. Рівень адипонектину в сироватці тварин групи летрозолу достовірно зростає майже в 1,8 раза, а в групі анастрозолу – в 1,7 раза порівняно з контрольною патологією.

**Таблиця 3**

Вплив інгібіторів ароматази на специфічні показники перебігу метаболічного синдрому у самиць хом'ячків зрілого віку ( $x \pm SD$ ,  $n = 10$ )

| Експериментальна група | Ароматазна активність жирової тканини за естрадіолом, пмоль/мг білка $\times$ год. | Адипонектин у сироватці крові, нг/мл |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Інтактний контроль     | 0,360 $\pm$ 0,026                                                                  | 151,78 $\pm$ 7,39                    |
| Контрольна патологія   | 1,016 $\pm$ 0,080**                                                                | 75,90 $\pm$ 3,65**                   |
| Екземестан             | 0,307 $\pm$ 0,025##                                                                | 119,65 $\pm$ 4,32***                 |
| Летрозол               | 0,251 $\pm$ 0,024***                                                               | 134,66 $\pm$ 3,90***                 |
| Анастрозол             | 0,275 $\pm$ 0,018***                                                               | 126,09 $\pm$ 5,61***                 |

*Примітки:* \* – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю за рівня значущості  $P < 0,05$ , \*\* – за рівня значущості  $P < 0,01$ ; # – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології за рівня значущості  $P < 0,05$ , ## – за рівня значущості  $P < 0,01$ .

Імуноферментний аналіз супернатанта з гомогенату вісцеральної жирової тканини та сироватки крові самиць хом'ячків віком один місяць на початку експерименту показав збільшення активності ароматази практично в 4,9 раза та зменшення вмісту адипонектину удвічі за модельної висококалорійної дієти (табл. 4). Сила зворотного кореляційного зв'язку між цими показниками у тварин, що не отримували інгібітори ароматази, була високою.

Високи за шкалою Чеддока зворотні коефіцієнти кореляції також в інших групах, де застосовували препарати, крім групи екземестан, де сила зворотного зв'язку показників досить чітко простежувалася.

Усі досліджувані препарати зменшували ароматазну активність жирової тканини до рівнів, що статистично не відрізнялись від інтактних значень. Проте відновлення нормального рівня адипонектину відбувалося лише у тварин, що отримували летрозол. У групах екземестану та анастрозолу сироватковий вміст адипонектину зростає практично в 1,7 та 1,8 раза відповідно, проте зберігалася вірогідна відмінність від інтактних значень.

Слід зазначити, що в групі анастрозолу показник вмісту адипонектину у тварин мав тенденцію до нормалізації ( $P < 0,05$ ).

**Таблиця 4**

Вплив інгібіторів ароматази на специфічні показники перебігу метаболічного синдрому в самиць хом'ячків молодого віку ( $x \pm SD$ ,  $n = 10$ )

| Експериментальна група | Ароматозна активність жирової тканини за естрадіолом, пмоль/мг білка×год. | Адипонектин у сироватці крові, нг/мл |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Інтактний контроль     | 0,126 ± 0,016                                                             | 201,33 ± 6,46                        |
| Контрольна патологія   | 0,615 ± 0,058**                                                           | 102,45 ± 4,21**                      |
| Екземестан             | 0,174 ± 0,023###                                                          | 175,03 ± 5,16**###                   |
| Летрозол               | 0,168 ± 0,017###                                                          | 188,10 ± 4,27###                     |
| Анастрозол             | 0,159 ± 0,020###                                                          | 180,82 ± 3,66**###                   |

*Примітки:* \* – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю за рівня значущості  $P < 0,05$ , \*\* – за рівня значущості  $P < 0,01$ ; # – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології за рівня значущості  $P < 0,05$ , ### – за рівня значущості  $P < 0,01$ .

У молодих самиць хом'ячків на тлі експериментального метаболічного синдрому рівень ароматизаційної активності жирової тканини збільшувався в 2,1 раз, а рівень адипонектину зменшувався в 1,8 раз. Кореляція в цій групі найменша з усіх аналогічних груп за віком та статтю, займала проміжний рівень між високою та помітною кореляцією за шкалою Чеддока. В середині експериментальних груп тварин, які отримували препарат, кореляція також найнижча – помітна, серед усіх аналогічних груп. Проте така сила зв'язків теж свідчить про ймовірну наявність взаємозв'язку між показниками (табл. 5). У самиць хом'ячків віком один місяць на початок експерименту всі досліджувані препарати приводили до нормалізації показника ароматизаційної активності жирової тканини та значучо збільшували показники вмісту адипонектину в сироватці, що з невеликим ступенем вірогідності відрізнялися від інтактного значення ( $P < 0,05$ ).

**Таблиця 5**

Вплив інгібіторів ароматази на специфічні показники перебігу метаболічного синдрому самиць хом'ячків молодого віку ( $x \pm SD$ ,  $n = 10$ )

| Експериментальна група | Ароматозна активність жирової тканини за естрадіолом, пмоль/мг білка×год. | Адипонектин у сироватці крові, нг/мл |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Інтактний контроль     | 0,274 ± 0,025                                                             | 159,09 ± 7,19                        |
| Контрольна патологія   | 0,589 ± 0,060**                                                           | 88,78 ± 4,10**                       |
| Екземестан             | 0,304 ± 0,034###                                                          | 137,88 ± 6,12**###                   |
| Летрозол               | 0,270 ± 0,031###                                                          | 141,49 ± 4,62**###                   |
| Анастрозол             | 0,320 ± 0,020###                                                          | 134,09 ± 5,54**###                   |

*Примітки:* \* – відмінності вірогідні відносно тварин групи інтактного контролю за рівня значущості  $P < 0,05$ , \*\* – за рівня значущості  $P < 0,01$ ; # – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології за рівня значущості  $P < 0,05$ , ### – за рівня значущості  $P < 0,01$ .

## Обговорення

У цьому фрагменті нашого дослідження встановлено чітку зворотну кореляцію між ароматизаційною активністю висцеральної мезентеральної жирової тканини (за вмістом продукту) та вмістом сироваткового адипонектину у сирійських хом'ячків різної статі та віку. Отримані дані теоретично обґрунтовуються загальновідомими положеннями щодо метаболізму статевих гормонів та їх зв'язком із перебігом різних метаболічних захворювань, а також не суперечать даним інших дослідників, висвітленим у науковій літературі.

Низка досліджень опосередковано вказує на логічність сформованої нами гіпотези про взаємозв'язок ароматизаційної активності жирової тканини з рівнем адипонектину. У дослідженні Tworoger et al. (2007) показано, що рівень вільного естрадіолу в жінок із верхнім квартильним показником вмісту плазматичного адипонектину на 27,0% вищий відносно нижньоквартильних показників, до того ж ці дані асоційовані з масою жирової тканини

у пацієнок. Застосування замісної гормональної терапії пероральними препаратами естрадіолу у жінок постменопаузного віку вірогідно зменшувало плазматичний рівень адипонектину практично на 2 мг/л (Kunugi et al., 2008).

Низка публікацій демонструє імовірний механізм взаємозв'язку зниження рівня адипонектину зі збільшенням ризику розвитку естроген-рецепторпозитивного раку молочної залози у жінок із зайвою вагою та опосередковано торкається можливого впливу адипонектину на загальну ароматизацію в організмі цих пацієнок. У цих дослідженнях високий рівень адипонектину пов'язаний із погіршенням перебігу естрогензалежних форм раку молочної залози, що також може вказувати на залежність рівня естрогенів від вмісту адипонектину в крові. Також було продемонстровано можливий вплив лептину на ароматизацію та перебіг онкологічних захворювань у жінок (Nalabolu et al., 2014; Mauro et al., 2015).

Існують і протилежні дані, що вказують на позитивний вплив естрадіолу на експресію адипонектину, але ці дані показані лише на прикладі тканин скелетних м'язів у щурів та не пов'язані з цими процесами в жировій тканині (Caplanch-Amer et al., 2014). Слід зазначити, що у людей цей гормон, переважно, продукується та секретується в жировій тканині.

Нині вже проведені клінічні дослідження частково продемонстрували значущий вплив застосування інгібіторів ароматази на збільшення рівня адипонектину у жінок постменопаузного віку з раком молочної залози (Akyol et al., 2016), але існують також дані щодо відсутності вірогідного впливу (Pfeiler et al., 2013). У дослідженні, де ефект був відсутнім, проводили короткострокове лікування, а у пацієнтів, які проходили повний курс терапії тривалістю понад 6 місяців, спостерігали збільшення рівня адипонектину. Крім того, вплив препаратів на рівень адипонектину в умовах метаболічного синдрому ще не досліджували.

Застосування інгібіторів ароматази може позитивно впливати на низку окремих станів – компонентів метаболічного синдрому. Короткострокове (28 днів) дослідження застосування летрозолу на здорових чоловіках показало вірогідне зменшення глюкози натщесерце та інсуліну в плазмі крові на 7% і 37% відповідно порівняно з плацебо (Larauw et al., 2009).

Довгострокове клінічне дослідження щодо наявності взаємозв'язку між стратегією лікування раку молочної залози та конституцією тіла показало, що інгібітори ароматази викликають значне зменшення загальної маси жирової тканини порівняно з селективними модуляторами рецепторів естрогену. У цьому дослідженні значення ліпідів крові не вимірювали, але логічно припустити, що дисліпідемія (спровокована збільшенням жирової маси) теж істотно зменшувалася (Van Londen et al., 2011). Крім того низка клінічних і доклінічних досліджень вказує на певний позитивний вплив інгібіторів ароматази на рівень ліпідів у крові, зокрема на тригліцероли, вільні жирні кислоти, загальний холестерол і його різні фракції (Markopoulos et al., 2005; Nabholz, 2008; Zidan et al., 2010; Lytkin & Zagayko, 2017).

І хоча існують протилежні дані, варто враховувати той факт, що інгібітори ароматази нині показані до застосування лише в онкології та переважна кількість клінічних досліджень проводили на пацієнтках постменопаузного віку з естрогензалежним раком молочної залози, у яких метаболічні процеси можуть певним чином змінюватися та відрізнятися від фізіологічних через вплив онкопатології. Враховуючи експериментальні результати та дані літературних джерел зазначимо, що інгібітори ароматази потребують детальних клінічних досліджень як фармакокоректори інших патологічних станів, зокрема тих, що характеризуються зменшенням адипонектину та дисбалансом статевих гормонів. Подальші детальні дослідження цієї групи препаратів можуть допомогти розширити перелік їх показань до застосування та вирішити низку клінічних проблем, у тому числі і в ендокринології.

## Висновки

За експериментального метаболічного синдрому відбувається посилення активності ароматази жирової тканини та спостеріга-

ється наявність високої зворотної кореляції між показниками ароматазної активності вісцеральної мезентеральної жирової тканини та рівнем сироваткового адипонектину в хом'ячків різної статі та віку. Отримані результати зумовлюють перспективність подальших поглиблених досліджень на предмет пошуку та встановлення специфічних механізмів взаєморегуляції досліджуваних показників.

Препарати з групи інгібіторів ароматази здатні впливати на перебіг експериментального метаболічного синдрому шляхом вірогідного зменшення ароматазної активності в жировій тканині та відповідного збільшення вмісту сироваткового адипонектину у сирійських хом'ячків різної статі та віку. Встановлення значної внутрішньогрупової кореляції між досліджуваними показниками у групах, де тварини отримували препарати, також підтверджує наявність специфічного зв'язку між ароматазною активністю вісцерального жиру та рівнем адипонектину, а теж показує, що на співвідношення цих показників можна впливати, змінюючи один із них (в даному випадку ароматазну активність), у тому числі за допомогою фармакокоректорів, що може бути застосовано у клінічній практиці для терапії метаболічних порушень. Слід зазначити, що найбільшою активністю відносно зменшення ароматазації у жировій тканині та збільшення сироваткового адипонектину в усіх експериментальних групах володів препарат летрозол, внутрішньогрупова сила кореляційних зв'язків між показниками теж була найбільшою.

Отримані дані показують, що інгібітори ароматази можуть стати перспективними засобами для використання у схемах терапії метаболічного синдрому, а подальші клінічні дослідження можуть розширити перелік показань до застосування цих препаратів.

## References

Akyol, M., Demir, L., Alacacioglu, A., Ellidokuz, H., Kucukzeybek, Y., Yildiz, Y., Gumus, Z., Bayoglu, V., Yildiz, I., Salman, T., Varol, U., Kucukzeybek, B., Demir, L., Dirican, A., Sutcu, R., & Tarhan, M. O. (2016). The effects of adjuvant endocrine treatment on serum leptin, serum adiponectin and body composition in patients with breast cancer: The Izmir Oncology Group (IZOG) study. *Chemotherapy*, 61(2), 57–64.

Biegon, A. (2016). *In vivo* visualization of aromatase in animals and humans. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 40, 42–51.

Blakemore, J., & Naftolin, F. (2016). Aromatase: Contributions to physiology and disease in women and men. *Physiology*, 31(4), 258–269.

Boonchaya-anant, P., Laichuthai, N., Suwannasrisuk, P., Hounngam, N., Udomsawaengsup, S., & Snaboon, T. (2016). Changes in testosterone levels and sex hormone-binding globulin levels in extremely obese men after bariatric surgery. *International Journal of Endocrinology*, 2016, 1416503.

Bulun, S. E., Chen, D., Moy, I., Brooks, D. C., & Zhao, H. (2012). Aromatase, breast cancer and obesity: A complex interaction. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 23(2), 83–89.

Cao, J., Chen, T. M., Hao, W. J., Li, J., Liu, L., Zhu, B. P., & Li, X. Y. (2012). Correlation between sex hormone levels and obesity in the elderly male. *The Aging Male*, 15(2), 85–89.

Caplonch-Amer, G., Sbert-Roig, M., Galmés-Pascual, B. M., Proenza, A. M., Lladó, I., Gianotti, M., & García-Palmer, F. J. (2014). Estradiol stimulates mitochondrial biogenesis and adiponectin expression in skeletal muscle. *The Journal of Endocrinology*, 221(3), 391–403.

Chan, H. J., Petrossian, K., & Chen, S. (2016). Structural and functional characterization of aromatase, estrogen receptor, and their genes in endocrine-responsive and –resistant breast cancer cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 161, 73–83.

Comitato, R., Saba, A., Turini, A., Arganini, C., & Virgili, F. (2015). Sex hormones and macronutrient metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(2), 227–241.

Dalbøge, L. S., Pedersen, P. J., Hansen, G., Fabricius, K., Hansen, H. B., Jelsing, J., & Vrang, N. (2015). A hamster model of diet-induced obesity for preclinical evaluation of anti-obesity, anti-diabetic and lipid modulating agents. *Public Library of Science One*, 10(8), e0135634.

Ding, Y. S., Guo, S. X., Ma, R. L., Li, S. G., Guo, H., Zhang, J. Y., Zhang, M., Liu, J. M., He, J., Yan, Y. Z., Zhang, W. J., & Liu, L. G. (2015). Association of metabolic syndrome with the adiponectin to homeostasis model assessment of insulin resistance ratio. *Mediators of Inflammation*, 2015, 607364.

Dos Santos, E., Dieudonné, M. N., Leneveu, M. C., Sérazin, V., Rincheval, V., Mignotte, B., Chouillard, E., De Mazancourt, P., Giudicelli, Y., & Pecque-

ry, R. (2010). Effects of <sup>17</sup>beta-estradiol on preadipocyte proliferation in human adipose tissue: Involvement of IGF1-R signaling. *Hormone and Metabolic Research*, 42(7), 514–520.

Gao, H., Fält, S., Sandelin, A., Gustafsson, J.-Å., & Dahlman-Wright, K. (2008). Genome-wide identification of estrogen receptor  $\alpha$ -binding sites in mouse liver. *Molecular Endocrinology*, 22(1), 10–22.

Ghosh, D., Lo, J., & Egbuta, C. (2016). Recent progress in the discovery of next generation inhibitors of aromatase from the structure-function perspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(11), 5131–5148.

Guamer-Lans, V., Rubio-Ruiz, M. E., Pérez-Torres, I., & Baños de MacCarthy, G. (2011). Relation of aging and sex hormones to metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Experimental Gerontology*, 46(7), 517–523.

Ioannides, S. J., Barlow, P. L., Elwood, J. M., & Porter, D. (2014). Effect of obesity on aromatase inhibitor efficacy in postmenopausal, hormone receptor-positive breast cancer: A systematic review. *Breast Cancer Research and Treatment*, 147(2), 237–248.

Jones, M. E., Schoemaker, M., Rae, M., Folkerd, E. J., Dowsett, M., Ashworth, A., & Swerdlow, A. J. (2013). Changes in estradiol and testosterone levels in postmenopausal women after changes in body mass index. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(7), 2967–2974.

Kim, C., & Halter, J. B. (2014). Endogenous sex hormones, metabolic syndrome, and diabetes in men and women. *Current Cardiology Reports*, 16(4), 467.

Körner, A., Wabitsch, M., Seidel, B., Fischer-Posovszky, P., Berthold, A., Stumvoll, M., Blüher, M., Kratzsch, J., & Kiess, W. (2005). Adiponectin expression in humans is dependent on differentiation of adipocytes and down-regulated by humoral serum components of high molecular weight. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 337(2), 540–550.

Kunnari, A., Santaniemi, M., Jokela, M., Karjalainen, A. H., Heikkinen, J., Ukkola, O., & Kesäniemi, Y. A. (2008). Estrogen replacement therapy decreases plasma adiponectin but not resistin in postmenopausal women. *Metabolism*, 57(11), 1509–1515.

Lapauw, B., T'Sjoen, G., Mahmoud, A., Kaufman, J. M., & Ruige, J. B. (2009). Short-term aromatase inhibition: Effects on glucose metabolism and serum leptin levels in young and elderly men. *European Journal of Endocrinology*, 160(3), 397–402.

Lønning, P. E., Haynes, B. P., & Dowsett, M. (2014). Relationship of body mass index with aromatization and plasma and tissue oestrogen levels in postmenopausal breast cancer patients treated with aromatase inhibitors. *European Journal of Cancer*, 50(6), 1055–1064.

Lytkin, D. V., & Zagayko, A. L. (2017). The effect of third-generation aromatase inhibitors on lipid metabolism in hamsters under experimental diet-induced metabolic syndrome. *World Science*, 29(2), 23–27.

Mantas, D., Kostakis, J. D., & Markopoulos, C. (2016). Aromatase inhibitors: A comprehensive review in mechanisms of action, side effects and treatment in postmenopausal early breast cancer patients. *Hellenic Journal of Surgery*, 88, 245.

Markopoulos, C., Polychronis, A., Zobolas, V., Xepapadakis, G., Papadiamantis, J., Koukouras, D., Lappas, H., & Gogas, H. (2005). The effect of exemestane on the lipidemic profile of postmenopausal early breast cancer patients: Preliminary results of the TEAM Greek sub-study. *Breast Cancer Research and Treatment*, 93(1), 61–66.

Matsushita, Y., Nakagawa, T., Yamamoto, S., Kato, T., Ouchi, T., Kikuchi, N., Takahashi, Y., Yokoyama, T., Mizoue, T., & Noda, M. (2013). Adiponectin and visceral fat associate with cardiovascular risk factors. *Obesity (Silver Spring)*, 22(1), 287–291.

Mauro, L., Pellegrino, M., Giordano, F., Ricchio, E., Rizza, P., De Amicis, F., Catalano, S., Bonfigliolo, D., Panno, M. L., & Andò, S. (2015). Estrogen receptor- $\alpha$  drives adiponectin effects on cyclin D1 expression in breast cancer cells. *The FASEB Journal*, 29(5), 2150–2160.

Mojaddami, A., Sakhteman, A., Fereidoonzhad, M., Faghhi, Z., Najdian, A., Khabnadideh, S., & Rezaei, Z. (2017). Binding mode of triazole derivatives as aromatase inhibitors based on docking, protein ligand interaction fingerprinting, and molecular dynamics simulation studies. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(1), 21–30.

Nabholtz, J.-M. A. (2008). Long-term safety of aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 4(1), 189–204.

Nair, A. B., & Jacob, S. (2016). A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7(2), 27–31.

Nalabolu, M. R., Palasamudram, K., & Jamil, K. (2014). Adiponectin and leptin molecular actions and clinical significance in breast cancer. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*, 8(1), 31–40.

Newbold, R. R., Padilla-Banks, E., & Jefferson, W. N. (2009). Environmental estrogens and obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 304(1–2), 84–89.

Ozkaya, H. M., Comunoglu, N., Keskin, F. E., Oz, B., Haliloglu, O. A., Tanriover, N., Gazioglu, N., & Kadioglu, P. (2016). Locally produced estrogen through aromatization might enhance tissue expression of pituitary tumor

- transforming gene and fibroblast growth factor 2 in growth hormone-secreting adenomas. *Endocrine*, 52(3), 632–640.
- Pfeiler, G., Königsberg, R., Hadji, P., Fitzal, F., Maroske, M., Dressel-Ban, G., Zellinger, J., Exner, R., Seifert, M., Singer, C., Gnant, M., & Dubsy, P. (2013). Impact of body mass index on estradiol depletion by aromatase inhibitors in postmenopausal women with early breast cancer. *British Journal of Cancer*, 109(6), 1522–1527.
- Pfeiler, G., Königsberg, R., Hadji, P., Fitzal, F., Tea, M.-K. M., Vogl, S., Berger, A., Exner, R., Seifert, M., Singer, F. C., Gnant, M., & Dubsy, P. C. (2013). The impact of estrogen depletion by aromatase inhibitors on adiponectin serum levels in postmenopausal patients with breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 31(15), in print.
- Redmile-Gordon, M. A., Armenise, E., White, R. P., Hirsch, P. R., & Goulding, K. W. T. (2013). A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, 67(100), 166–173.
- Richards, J. B., Valdes, A. M., Burling, K., Perks, U. C., & Spector, T. D. (2007). Serum adiponectin and bone mineral density in women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(4), 1517–1523.
- Sun, H., Ehlhardt, W. J., Kulanthaivel, P., Lanza, D. L., Reilly, C. A., & Yost, G. S. (2007). Dehydrogenation of indoline by cytochrome P<sub>450</sub> enzymes: A novel “Aromatase” process. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 322(2), 843–851.
- Tinwell, H., Rasclé, J. B., Colombel, S., Al Khansa, I., Freyberger, A., & Bars, R. (2011). A novel method for measuring aromatase activity in tissue samples by determining estradiol concentrations. *Journal of Applied Toxicology*, 31, 446–454.
- Twoogor, S. S., Mantzoros, C., & Hankinson, S. E. (2007). Relationship of plasma adiponectin with sex hormone and Insulin-like Growth Factor levels. *Obesity*, 15, 2217–2224.
- Van Londen, G. J., Perera, S., Vujevich, K., Rastogi, P., Lembersky, B., Brufsky, A., Vogel, V., & Greenspan, S. L. (2011). The impact of an aromatase inhibitor on body composition and gonadal hormone levels in women with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 125(2), 441–446.
- Viciano, I., & Martí, S. (2016). Theoretical study of the mechanism of exemestane hydroxylation catalyzed by human aromatase enzyme. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(13), 3331–3343.
- Von Frankenberg, A. D., do Nascimento, F. V., Gatelli, L. E., Nedel, B. L., Garcia, S. P., de Oliveira, C. S., Saddi-Rosa, P., Reis, A. F., Canani, L. H., & Gerchman, F. (2014). Major components of metabolic syndrome and adiponectin levels: A cross-sectional study. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 6, 26.
- Wong, S. K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F. H., Fairus, A., & Ima-Nirwana, S. (2016). Animal models of metabolic syndrome: A review. *Nutrition and Metabolism*, 13, 65.
- Xu, Q., Wells, C. C., Garman, J. H., Asico, L., Escano, C. S., & Maric, C. (2008). Imbalance in sex hormone levels Exacerbates Diabetic Renal Disease. *Hypertension*, 51(4), 1218–1224.
- Zhao, H., Zhou, L., Shangguan, A. J., & Bulun, S. E. (2016). Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. *Journal of Molecular Endocrinology*, 57(1), 19–33.
- Zidan, J., Chetver, L., Hussein, O., & Zucker, M. (2010). Effect of letrozole on plasma lipids, triglycerides, and estradiol in postmenopausal women with metastatic breast cancer. *The Oncologist*, 15(11), 1159–1163.