

RAQUEL SALDANHA CAMPELLO

17 β -ESTRADIOL AUMENTA A EXPRESSÃO DE *Slc2a4*/GLUT4
EM ADIPÓCITOS 3T3-L1 VIA ESR1

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Ubiratan Fabres Machado

Versão original

São Paulo
2012

RESUMO

CAMPELLO, R. S. **17 β -estradiol aumenta a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 em adipócitos 3T3-L1 via ESR1.** 2012. 75 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A resistência à insulina (RI) manifesta-se como uma reduzida capacidade dos tecidos sensíveis à insulina responderem a níveis normais do hormônio. Nestes tecidos, o transportador de glicose GLUT4 (gene *Slc2a4*) é responsável pela captação de glicose estimulada pela insulina, e alterações na expressão deste transportador estão relacionadas à RI. Sabe-se que o estradiol (E2) está envolvido na regulação de genes, sendo que seu mecanismo de ação envolve a sua ligação aos seus receptores (ESR1 e ESR2), modulando a expressão de genes através de sua ligação direta ao DNA ou através da interação com fatores transcricionais, dentre eles o NF- κ B (Nuclear Factor- κ B), sugerido como um regulador negativo do *Slc2a4*. A literatura demonstra que variações na concentração de E2 estão relacionadas a RI e diminuição na expressão de *Slc2a4*/GLUT4, entretanto, o papel de cada um dos receptores neste mecanismo ainda não está completamente elucidado. Com isso, avaliou-se em células adiposas da linhagem 3T3-L1 a regulação da expressão de *Slc2a4*/GLUT4 e da captação de glicose pelo E2, o papel de cada um dos receptores nesta regulação, bem como a participação de NF- κ B neste mecanismo. Para tanto, adipócitos 3T3-L1 foram tratados por 1 dia com diferentes concentrações de 17 β -estradiol e avaliou-se a localização subcelular de ESR1 e ESR2 por imunofluorescência. Também se verificou a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 (real time PCR e Western blotting, respectivamente) e a atividade de ligação de NF- κ B na região promotora do gene *Slc2a4* (EMSA). Adicionalmente, avaliou-se a captação de glicose pelas células. A participação de cada receptor nos mecanismos acima descritos foi avaliada a partir da exposição dos adipócitos à agonistas seletivos de ESR1 (PPT: 1,3,5-tris(4-hydroxyphenyl)-4-propyl-1Hpyrazole) e ESR2 (DPN: 2,3-bis(4-Hydroxyphenyl)-propionitrile) e antagonistas seletivos de ESR1 (MPP: 1,3-Bis(4-hydroxyphenyl)-4-methyl-5-[4-(2-piperidinylethoxy)phenol]-1H-pyrazole dihydrochloride) e ESR2 (PHTPP: 4-[2-Phenyl-5,7-bis(trifluoromethyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]phenol) na ausência ou presença de E2. Na presença de 0,1 e 10 nM de E2 houve um aumento na expressão de *Slc2a4*/GLUT4 (20-50%) e na captação de glicose pelas células (~30%). Observou-se que ambos os receptores estão co-localizados em núcleo, com predominância de ESR1 e, após tratamento com 10 nM de E2, houve translocação deste receptor para a membrana plasmática. A atividade de ligação de NF- κ B foi reduzida (~25%) na presença de 0,1 nM de hormônio. O tratamento com PPT aumentou a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 (~30%) na ausência ou presença de E2 e diminuiu a atividade de ligação de NF- κ B (~50%), enquanto o MPP, na presença de E2, diminuiu a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 (~20-40%) e aumentou a atividade de ligação de NF- κ B (~30%). Além disso, o PHTPP aumentou a expressão de *Slc2a4* (~40%) e diminuiu a atividade de ligação de NF- κ B (~70%) na ausência ou presença de E2. Todas as alterações do GLUT4 foram acompanhadas por variações paralelas na captação de glicose. Os resultados apresentados demonstram que o ESR1 aumenta enquanto que o ESR2 diminui a expressão de *Slc2a4*/GLUT4, efeitos estes pelo menos parcialmente mediados por NF- κ B e resultam em alteração na captação de glicose.

Palavras-chave: Adipócito. 17 β -estradiol. *Slc2a4*. GLUT4. ESR1. ESR2. NF- κ B.

ABSTRACT

CAMPELLO, R. S. **17 β -estradiol increase *Slc2a4*/GLUT4 expression in adipocytes 3T3-L1 via ESR1.** 2012. 75 p. Ph. D. (Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Insulin resistance (IR) is the reduced ability of insulin sensitive tissues to respond to regular levels of the hormone. In these tissues, the glucose transporter GLUT4 (*Slc2a4* gene) is in charge of the insulin stimulated glucose uptake, and altered expression of this transporter is related to IR. It is known that estradiol (E2) regulates gene expression and its mechanism of action involves binding to ESR1 and ESR2 receptors to modulate the expression of target genes, either directly binding to DNA or interacting with transcriptional factors such as NF- κ B (Nuclear Factor- κ B), which has been suggested as a negative regulator of *Slc2a4* gene. It has been demonstrated that altered E2 concentrations are related to IR and decreased *Slc2a4*/GLUT4 expression. However, the role of each E2 receptor in this effect is not completely clarified. Considering all the above, the *Slc2a4*/GLUT4 expression and glucose uptake were studied in E2 treated 3T3-L1 adipose cells. The participation of each receptor in the regulation of these responses as well as the involvement of NF- κ B in these mechanisms was also investigated. For this purpose, 3T3-L1 adipocytes were treated for 1 day with different concentrations of 17 β -estradiol. Then, subcellular localization of ESR1 and ESR2 (immunofluorescence), *Slc2a4*/GLUT4 expression (real time PCR and Western blotting, respectively) and the NF- κ B binding to the *Slc2a4* promoter sequence (EMSA) were evaluated. Glucose uptake was also evaluated. The contribution of each receptor was investigated by means of exposing the adipocytes to selective ESR1 agonist (PPT: 1,3,5-tris(4-hydroxyphenyl)-4-propyl-1Hpyrazole) and selective ESR2 agonist (DPN: 2,3-bis(4-Hydroxyphenyl)-propionitrile) as well as selective ESR1 antagonist (MPP: 1,3-Bis(4-hydroxyphenyl)-4-methyl-5-[4-(2-piperidinylethoxy)phenol]-1H-pyrazole dihydrochloride) and selective ESR2 antagonist (PHTPP: 4-[2-Phenyl-5,7-bis(trifluoromethyl)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]phenol) in the absence or presence of E2. There was an increase in *Slc2a4*/GLUT4 expression (20-50%) and glucose uptake (~30%) in the presence of 0.1 e 10 nM E2. Both receptors co-localized inside the nucleus although ER1 predominated over ER2. After 10nM E2, ESR1 translocated to plasma membrane. NF- κ B binding activity was reduced (~25%) by 0.1 nM E2. PPT increased *Slc2a4*/GLUT4 expression (~30%) either in the absence or presence of E2 and decreased NF- κ B binding (~50%), while MPP decreased *Slc2a4*/GLUT4 expression (~20-40%) and increased NF- κ B binding (~30%) in the presence of E2. PHTPP increased *Slc2a4* expression (~40%) and decreased NF- κ B binding (~70%) in the absence or presence of E2. All changes in GLUT4 expression were accompanied by parallel variations in glucose uptake. Our results show ESR1 increases while ESR2 decreases *Slc2a4*/GLUT4 expression, and such effects which are at least in part mediated by NF- κ B.

Key words: 17 β -estradiol, *Slc2a4*/GLUT4, ESR1, ESR2, NF- κ B.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com estimativas e projeções internacionais, o número de pessoas acometidas pelo diabetes mellitus (DM) será de aproximadamente 366 milhões até o ano 2030 (WILD et al., 2004). Tendo em vista esta perspectiva, são necessárias estratégias para monitorar, prevenir e controlar o DM, principalmente o diabetes tipo 2 (DM2). O DM2 é uma síndrome de etiologia múltipla, com o envolvimento de fatores ambientais e genéticos, e acredita-se que a resistência à insulina seja o principal fator fisiopatológico que altera a homeostasia glicêmica (BJORNHOLM; ZIERATH, 2005).

A resistência à insulina (RI) manifesta-se como uma reduzida capacidade dos tecidos sensíveis à insulina, no que diz respeito à captação de glicose, responderem a níveis normais do hormônio (SAVAGE et al., 2007). Tais tecidos (muscular e adiposo) expressam duas isoformas de proteínas transportadoras de glicose, o GLUT1, responsável pelo transporte deste substrato no estado basal, e o GLUT4 (MACHADO, 1998; RYDER et al., 2001), responsável pela captação de glicose estimulada pela insulina, bem como pela contração muscular (SILVA et al., 2005; ZHAO; KEATING, 2007; ZORZANO et al., 2005; WATSON; PESSIN, 2001).

Em adipócitos não estimulados pela insulina, a maior proporção do GLUT4 encontra-se no compartimento intracelular, todavia, após a ligação do hormônio ao seu receptor, com consequentes fosforilações intracelulares (CARVALHEIRA et al., 2002; SALTIEL; KANH, 2001), ocorre a translocação de vesículas contendo o GLUT4 em direção à membrana plasmática, aumentando agudamente a captação de glicose. Com a redução nos níveis circulantes de insulina, o transportador é rapidamente internalizado, retornando ao *pool* intracelular (ISHIKI; KLIP, 2006; MACHADO; SCHAAN; SERAPHIM, 2006). Sabe-se que redução na expressão gênica, e consequente redução na densidade do GLUT4 translocável para a membrana plasmática, reduz a captação de glicose, o que se relaciona com diminuição na sensibilidade à insulina (THORENS et al., 1990).

Conforme mencionado, inúmeros fatores podem levar ao desenvolvimento de RI, sendo proposto que o estradiol (E2), um importante hormônio envolvido na fisiologia e reprodução feminina, também esteja envolvido na modulação da sensibilidade à insulina e, consequentemente, no controle da homeostasia glicêmica (NILSSON et al., 2001). Estudos demonstrando que variações na concentração de E2 (fase do ciclo, gestação, síndrome dos

ovários policísticos, menopausa) podem se acompanhar por resistência à insulina reforçam as evidências do envolvimento do E2 no controle da homeostasia glicêmica (CASE; REID, 2001; DUNAIF et al., 1989; KAAJA; GREER, 2005; SOLOMON et al., 2001; SPENCER et al., 1997). Esta relação entre E2 e sensibilidade à insulina também foi demonstrada em camundongos *knockout* para a enzima aromatase (ArKO), que não produzem E2, e que apresentam aumento de adiposidade, intolerância à sobrecarga glicídica e resistência à insulina, podendo evoluir para DM (FISHER et al., 1998; JONES et al., 2000; TAKEDA et al., 2003).

Observa-se acima que tanto condições de hiperestrogenismo, como de ausência de estrógeno induzem RI podendo evoluir para DM (diabetes gestacional e diabetes do ArKO), evidenciando a complexidade da participação do estrógeno na regulação da sensibilidade à insulina.

Buscando entender a interação entre E2 e resistência à insulina, pesquisadores avaliaram a expressão da proteína GLUT4 em condições de alteração de níveis de estrógeno. Em tecido adiposo, observou-se redução no conteúdo de GLUT4 em gestantes, sendo que tal redução foi mais pronunciada nas gestantes com diabetes mellitus gestacional (OKUNO et al., 1995). Além disso, outro estudo relatou que não apenas a expressão, mas também a distribuição subcelular do GLUT4 foi alterada em pacientes com diabetes mellitus gestacional (GARVEY et al., 1993). Pesquisa realizada em nosso laboratório demonstrou que em ratas castradas o GLUT4 aumenta em músculo esquelético, e que o tratamento destas ratas com E2, induzindo níveis circulantes semelhantes aos observados durante a gestação, diminui a expressão do gene *Slc2a4*, o que pode ser um fator importante para a resistência à insulina induzida pela gestação (BARROS et al., 2008).

Tais resultados confirmam a relação entre E2 e sensibilidade à insulina, evidenciada por alterações na proteína GLUT4 nos tecidos sensíveis à insulina. Entretanto, o exato mecanismo pelo qual o E2 exerce tal regulação ainda não está claro.

Sabe-se que o mecanismo clássico de ação do estradiol envolve a ligação aos seus receptores (ERs), os quais podem ser responsáveis por diferentes efeitos biológicos ou, ainda, por efeitos opostos sobre um mesmo fenômeno (HELGUERO et al., 2005). Atualmente são conhecidas duas isoformas de receptor (ESR1 e ESR2), primeiramente conhecidos como ER α e ER β , respectivamente. Essas proteínas são codificadas pelos genes *ESR1* e *ESR2*, os quais estão incluídos na subfamília de receptores nucleares (NRS) 3 grupo A, sendo então também referidos

como genes *NRS3A1* e *NRS3A2*, de acordo com HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee).

Na década de 60, Jensen e colaboradores reportaram a presença de uma proteína de ligação ao estradiol, sugerindo então que os efeitos do E2 eram mediados por este receptor que, posteriormente, foi clonado e denominado ER (GREEN et al., 1986; GREENE et al., 1986). Entretanto, após três décadas, um segundo receptor de estrógeno foi clonado a partir de próstata de rato, sendo este novo receptor denominado ER β e conseqüentemente o receptor inicialmente clonado, ER α (KUIPER et al., 1996).

Os ERs pertencem a uma família de receptores hormonais que, após a ligação ao hormônio sofrem uma alteração conformacional, dissociação das proteínas de choque térmico, resultando em homo ou heterodimerização e subsequente ativação (DeMAYO et al., 2002). Os receptores ativados passam então a agir como fatores transcricionais, ligando-se diretamente a regiões específicas do DNA, denominadas elementos de resposta ao estrógeno (ERE), presentes em regiões promotoras de genes-alvo. Após a ligação aos EREs, os receptores atuam modulando a transcrição de vários genes-alvo (COWLEY et al., 1997; KOEHLER et al., 2005).

Este mecanismo de ação, conhecido por sinalização genômica, ou ação genômica, é considerado o mecanismo clássico de ação dos ERs. Além disso, tais receptores podem modular a expressão gênica através de outro mecanismo, no qual eles interagem com fatores de transcrição, por um processo referido como transativação de fator de transcrição. Assim, os receptores são capazes de alterar a expressão de genes que não possuem ERE (GIELEN et al., 2007; KALAITZIDIS; GILMORE, 2005), o que também é uma ação genômica.

Por outro lado, a regulação da transcrição de genes não explica os efeitos induzidos pelo estradiol após segundos ou minutos de exposição ao hormônio (abertura de canais de Ca⁺², ativação de proteínas citoplasmáticas). Estes efeitos rápidos, que ocorrem fora do núcleo, têm início na membrana plasmática, ou próximo dela, ocorrem após a interação do E2 com seus receptores clássicos (ESR1 e ESR2) ou com o GPER (G-protein coupled estrogen receptor), e são propostos como efeitos não genômicos ou de sinalização intracelular (SONG et al., 2005; SONG; SANTEN, 2006). Vale ressaltar que o GPER, um receptor acoplado à proteína G, cuja nomenclatura anterior era GPR-30, foi detectado em vários tecidos (placenta, mama, fígado, ovário, próstata), mas foi classificado como receptor órfão, pois não se conhecia o seu ligante. (CARMECI et al., 1997; O'DOWD et al., 1998). Entretanto, pesquisadores demonstraram a

ativação desse receptor pelo E2 e, além disso, que tal ativação independe da presença de ESR1 ou ESR2 (FILARDO et al., 2000).

Os receptores de estradiol são constituídos por domínios funcionais distintos: o domínio amino-terminal A/B, onde se encontra a função de ativação da transcrição AF-1; o domínio de ligação ao DNA (DBD); o domínio D (região de dobradiça), que contém o sinal para a localização nuclear; e o domínio de ligação ao ligante (LBD) ou carboxi-terminal, que contém a função de ativação da transcrição AF-2 (HALL; COUSE; KORACH, 2001; HELDRING et al., 2007; NILSSON; GUSTAFSSON, 2011). Vale ressaltar que os receptores são altamente homólogos em seu DBD (97% de identidade entre os aminoácidos), entretanto essa homologia cai para 56% no seu domínio de ligação ao ligante (LBD), conferindo certa diferença entre os dois receptores no que diz respeito a sua seletividade a determinados ligantes (KRAICHELY et al., 2000; MALAMAS et al., 2004; STAUFFER et al., 2000).

Em humanos, ESR1 e ESR2 exibem características distintas quanto a sua distribuição, sendo a isoforma 1 expressa predominantemente em útero, fígado e osso, enquanto que o ESR2 tem sua expressão mais pronunciada na próstata, glândula salivar, testículo, endotélio vascular e trato urinário. Alguns tecidos, tais como glândula mamária, tecido esquelético, ovário e sistema cardiovascular, expressam ambos ERs, com predominância de uma ou outra isoforma (BARROS; MACHADO; GUSTAFSSON, 2006a; KOEHLER et al., 2005).

Com relação aos tecidos sensíveis à insulina, já foi demonstrada a expressão das duas isoformas do receptor em adipócitos, tanto em humanos quanto em roedores, sendo evidente a predominância de ESR1 (DIEUDONNÉ et al., 2004; RODRIGUEZ-CUENCA et al., 2005). Além disso, a co-localização das duas isoformas em núcleo também foi demonstrada (BARROS et al., 2009). Em músculo gastrocnêmio de ratos, Barros et al. (2006b) relataram não só a presença de ESR1 e ESR2, como também a co-localização desses receptores no núcleo, o que foi posteriormente observado também em célula muscular L6 (BARROS et al., 2008).

Além dos diferentes padrões de distribuição dos ERs, sabe-se que estes receptores também exercem diferentes funções biológicas e, quando co-expressos no mesmo tecido, pode ocorrer uma inter-relação entre as isoformas. Através de estudos *in vitro* e *in vivo*, pesquisadores verificaram que, em algumas ocasiões, as duas isoformas do receptor podem desencadear respostas opostas na presença de E2 (LINDBERG et al., 2003; PETTERSSON et al., 2000).

O melhor entendimento das diferentes funções de cada um dos ERs ocorreu a partir do desenvolvimento de camundongos *knockouts*, nos quais uma das isoformas do receptor não é expressa (*Esr1*^{-/-} e *Esr2*^{-/-}) (KREGE et al., 1998; LUBAHN et al., 1993). Com relação ao controle glicêmico, estudos constataram que os animais que não expressavam a isoforma 1 (*Esr1*^{-/-}) desenvolveram obesidade, intolerância à glicose e resistência à insulina (BARROS et al., 2009; COOKE et al., 2001). Por outro lado, fêmeas *Esr1*^{-/-} ovariectomizadas (praticamente sem a ação de E2 sobre ESR2), apresentaram redução de peso e melhora na sensibilidade à insulina, indicando que as alterações observadas nos animais *Esr1*^{-/-} decorriam de um efeito do E2 sobre a isoforma 2 do receptor (NAAZ et al., 2002).

No que diz respeito à modulação da expressão do GLUT4 pelas diferentes isoformas de ER nosso grupo fez importantes contribuições. Em músculo esquelético, demonstrou-se que animais *Esr1*^{-/-} praticamente não expressam GLUT4, sugerindo um efeito repressor de ESR2 sobre a expressão do transportador (BARROS et al., 2006b). Adicionalmente, em animais ArKO (com ambos os receptores, mas sem estrógeno), observou-se um aumento da expressão do GLUT4, indicando que o estrógeno, quando presente, desempenha um efeito basal de repressão sobre a expressão do gene do GLUT4 (BARROS et al., 2006b). Compatível com essas interpretações foram os resultados observados em miotubos L6 em cultura, nos quais se verificou diminuição da expressão do mRNA *Slc2a4* e da proteína GLUT4 na presença de estradiol (BARROS et al., 2008). Resultados interessantes também foram observados em tecido adiposo, no qual animais *Esr2*^{-/-}, quando tratados com tamoxifeno (antagonista competitivo do E2), apresentaram redução da proteína GLUT4, fato este que revela a importância de ESR1 como indutor da expressão do *Slc2a4* também neste tecido (BARROS et al., 2009).

Uma questão importante que precisa ser esclarecida concerne ao mecanismo de ação desses ERs sobre a modulação do gene *Slc2a4*. Conforme mencionado anteriormente, além do modelo clássico de alteração da expressão gênica por E2, no qual os receptores se ligam diretamente a EREs, sabe-se que o estradiol pode também regular a expressão de genes que não apresentam EREs (MATTHEWS et al., 2006), através da interação dos ERs com outros fatores transcricionais, aumentando ou diminuindo a transcrição gênica (NILSSON et al., 2001). Dentre estes fatores destaca-se o Fator Nuclear-κB (NF-κB) (BISWAS et al., 2005; GALIEN; GARCIA, 1997).

O NF- κ B é uma família, composta por 5 membros: Rel A (p65), NF- κ B1 (p50/p105), NF- κ B2 (p52/p100), c-Rel e RelB. Na sua forma inativa, localiza-se no citoplasma como um heterodímero, associado a um fator inibidor, o I κ B que, quando fosforilado pelo complexo I κ B cinase (I κ K), torna-se susceptível à ação da ubiquitina, sendo então degradado e desligado do complexo com NF- κ B. Em geral, a forma ativa do NF- κ B é um heterodímero composto pela subunidade p65 associada à p50 ou p52 que, após a dissociação de seu fator inibidor (I κ B) transloca para o núcleo atuando então no controle da expressão de genes (WANG T et al., 2002; WELLEN et al., 2005).

A região promotora do gene *Slc2a4* possui sítios para a ligação ao NF- κ B, e alguns estudos já propuseram que este fator transcricional seja um importante inibidor da expressão deste gene (FURUYA et al., 2010; RUAN et al., 2002; SILVA et al., 2005). Sabendo-se que os ERs podem interagir com o NF- κ B, impedindo a sua ligação à região promotora de genes alvos (GUZELOGLU-KAYISLI et al., 2008), no caso do *Slc2a4* isto levaria a uma diminuição do efeito inibitório do NF- κ B, resultando em aumento da expressão gênica do transportador. Esta hipótese já foi discutida por nosso grupo (BARROS; MACHADO; GUSTAFSSON, 2006a), no entanto ainda carece de experimentos comprobatórios.

Além disso, não se pode descartar a possibilidade de o estrógeno agir de forma clássica, por meio da ligação dos ERs diretamente no DNA de seus genes-alvo. Uma análise da região promotora do GLUT4 nos evidencia a presença de um sítio com alta homologia com os domínios de ligação já descritos para o ER. No entanto, a possibilidade do ER ligar-se no promotor do GLUT4 nunca foi investigada.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados demonstram que o 17β -estradiol regula a expressão de *Slc2a4*/GLUT4 em adipócitos 3T3-L1, sendo que o ESR1 atua como estimulador e o ESR2, repressor de tal expressão. Além disso, estes efeitos são parcialmente mediados por NF- κ B e resultam em alteração na captação de glicose.

REFERÊNCIAS*

- ANWAR, A.; MCTERNAN, P. G.; ANDERSON, L. A.; ASKAA, J.; MOODY, C. G.; BARNETT, A. H.; EGGO, M. C.; KUMAR, S. Site-specific regulation of oestrogen receptor- α and - β by oestradiol in human adipose tissue. *Diabetes Obes. Metab.*, v. 3, p. 338-349, 2001.
- BARROS, R. P.; MACHADO, U. F.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptors: new players in diabetes mellitus. *TRENDS Mol. Med.*, v. 12, n. 9, p. 425-431, 2006a.
- BARROS, R. P.; MACHADO, U. F.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J. A. Muscle GLUT4 regulation by estrogen receptors ER β and ER α . *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 103, p. 1605-1608, 2006b.
- BARROS, R. P.; MORANI, A.; MORISCOT, A.; MACHADO, U. F. Insulin resistance of pregnancy involves estrogen-induced repression of muscle GLUT4. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 295, p. 24-31, 2008.
- BARROS, R. P.; GABBI, C.; MORANI, A.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J. A. Participation of ER α and ER β in glucose homeostasis in skeletal muscle and white adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 297, p. 124-133, 2009.
- BARROS, R. P.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell. Metab.*, v. 14, n. 3, p. 289-299, 2011.
- BEN-JONATHAN, N.; CHEN, S.; DUNCKLEY, J. A.; LAPENSEE, C.; KANSRA, S. Estrogen Receptor- α Mediates the Epidermal Growth Factor-Stimulated Prolactin Expression and Release in Lactotrophs. *Neuroendocrinology*, v. 150, p. 795-802, 2009.
- BISWAS, D. K.; SINGH, S.; SHI, Q.; PARDEE, A. B.; DIRK IGLEHART, J. Crossroads of estrogen receptor and NF- κ B signaling. *Sci. STKE.*, v. 14, n. 288, p. 1-4, 2005.
- BJORNHOLM, M.; ZIERATH, J. R. Insulin signal transduction in human skeletal muscle: identifying the defects in Type II diabetes. *Biochem. Soc. Trans.*, v. 33, n. 2, p. 354-357, 2005.
- CARMECI, C.; THOMPSON, D. A.; RING, H. Z.; FRANCKE, U.; WEIGEL, R. J. Identification of a gene (GPR30) with homology to the G-protein-coupled receptor superfamily associated with estrogen receptor expression in breast cancer. *Genomics*, v. 45, p. 607-617, 1997.
- CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. Vias de sinalização da insulina. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v. 46, p. 419-425, 2002.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

- CASE, A. M.; REID, R. L. Menstrual cycle effects on common medical conditions. *Compr. Ther.*, v. 27, n. 1, p. 65-71, 2001.
- CHANG, E. C.; CHARN, T. H.; PARK, S. H.; HELFERICH, W. G.; KOMM, B.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; KATZENELLENBOGEN, B. S. Estrogen Receptors alpha and beta as determinants of gene expression: influence of ligand, dose, and chromatin binding. *Mol. Endocrinol.*, v. 22, n. 5, p. 1032-1043, 2008.
- CHEN, Y. H.; LEE, M. J.; CHANG, H. H.; HUNG, P. F.; KAO, Y. H. 17 beta-estradiol stimulates resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes via the estrogen receptor, extracellularly regulated kinase, and CCAAT/enhancer binding protein-alpha pathways. *Endocrinology*, v. 147, p. 4496-4504, 2006.
- COOKE, P. S.; HEINE, P. A.; TAYLOR, J. A.; LUBAHN, D. B. The role of estrogen and estrogen receptor- α in male adipose tissue. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 178, p. 147-154, 2001.
- COWLEY, S. M.; HOARE, S.; MOSSELMAN, S.; PARKER, M. G. Estrogen receptors alpha and beta form heterodimers on DNA. *J. Biol. Chem.*, v. 272, p. 19858-19862, 1997.
- DAUVOIS, S.; WHITE, R.; PARKER, M. G. The antiestrogen ICI 182780 disrupts estrogen receptor nucleocytoplasmic shuttling. *J. Cell. Sci.*, v. 106, p. 1377-1388, 1993.
- DEFRANCO, D. B. Nuclear export: DNA-binding domains find a surprising partner. *Curr. Biol.*, v. 11, p. 1036-1037, 2001.
- DEMAYO, F. J.; ZHAO, B.; TAKAMOTO, N.; TSAI, S. Y. Mechanisms of action of estrogen and progesterone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 955, p. 48-59, 2002.
- DIEUDONNÉ, M. N.; LENEVEU, M. C.; GIUDICELLI, Y.; PECQUERY, R. Evidence for functional estrogen receptors α and β in human adipose cells: regional specificities and regulation by estrogens. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, v. 286, p. 655-661, 2004.
- DUNAIF, A.; SEGAL, K. R.; FUTTERWEIT, W.; DOBRJANSKY, A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*, v. 38, n. 9, p. 1165-1174, 1989.
- DOS SANTOS, E. G.; DIEUDONNE, M. N.; PECQUERY, R.; LE MOAL, V.; GIUDICELLI, Y.; LACASA, D. Rapid nongenomic E2 effects on p42/p44 MAPK, activator protein-1, and cAMP response element binding protein in rat white adipocytes. *Endocrinology*, v. 43, p. 930-940, 2002.
- FAN, P.; WANG, J.; SANTEN, R. J.; YUE, W. Long-term treatment with tamoxifen facilitates translocation of estrogen receptor α out of the nucleus and enhances its interaction with EGFR in MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Res.*, v. 67, p. 1352-1360, 2007.

FILARDO, E. J.; QUINN, J. A.; BLAND, K. I.; FRACKELTON JR, A. R. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. *Mol. Endocrinol.*, v. 14, p. 1649-1660, 2000.

FISHER, C. R.; GRAVES, K. H.; PARLOW, A. F.; SIMPSON, E. R. Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the *cyp19* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 95, p. 6965-6970, 1998.

FURUYA, D. T.; POLLETO, A. C.; FAVARO, R.; MARTINS, J. O.; ZORN, T. M.; MACHADO, U. F. Anti-inflammatory effect of atorvastatin ameliorates insulin resistance in monosodium glutamate-treated obese mice. *Metabolism*, v. 59, n. 3, p. 395-399, 2010.

FURUYA, D. T.; POLETO, A. C.; FREITAS, H. S.; MACHADO, U. F. Inhibition of cannabinoid CB1 receptor upregulates Slc2a4 expression via nuclear factor- κ B and sterol regulatory element-binding protein-1 in adipocytes. *J. Mol. Endocrinol.*, v. 49, n. 2, p. 97-106, 2012.

GALIEN, R.; GARCIA, T. Estrogen receptor impairs interleukin-6 expression by preventing protein binding on the NF-kappaB site. *Nucleic Acids Res.*, v. 25, n. 12, p. 2424-2429, 1997.

GARFIN, D. E. One-dimensional gel electrophoresis. *Methods Enzymol.*, v. 182, p. 425-441, 1990.

GARVEY, W. T.; MAIANU, L.; ZHU, J. H.; HANCOCK, J. A.; GOLICHOWSKI, A. M. Multiple defects in the adipocyte glucose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes. Heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular localization of GLUT4 glucose transporters. *Diabetes*, v. 42, p. 1773-1785, 1993.

GIELEN, S. C.; SANTEGOETS, L. A.; KÜHNE, L. C.; VAN IJCKEN, W. F.; BOERS-SIJMONS, B.; HANIFI-MOGHADDAM, P.; HELMERHORST, T. J.; BLOK, L. J.; BURGER, C. W. Genomic and nongenomic effects of estrogen signaling in human endometrial cells: involvement of the growth factor receptor signaling downstream AKT pathway. *Reprod. Sci.*, v. 14, p. 646-654, 2007.

GREEN, S.; WALTER, P.; KUMAR, V.; KRUST, A.; BORNERT, J. M.; ARGOS, P.; CHAMBON, P. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature*, v. 320, p. 134-139, 1986.

GREENE, G. L.; GILNA, P.; WATERFIELD, M.; BAKER, A.; HORT, Y.; SHINE, J. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science*, v. 231, p. 1150-1154, 1986.

GUZELOGLU-KAYISLI, O.; HALIS, G.; TASKIRAN, S.; KAYISLI, U.A.; ARICI, A. DNA-binding ability of NF-kappaB is affected differently by ERalpha and ERbeta and its activation results in inhibition of estrogen responsiveness. *Reprod. Sci.* v. 15, p. 493-505, 2008.

HALL, J. M.; McDONNELL, D. P. The estrogen receptor beta-isoform (ERbeta) of the human estrogen receptor modulates ERalpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology*, v. 140, p. 5566-5578, 1999.

HALL, J. M.; COUSE, J. F.; KORACH, K. S. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J. Biol. Chem.*, v. 276, p. 36869-36872, 2001.

HARRIS, H. A.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; KATZENELLENBOGEN, B. S. Characterization of the biological roles of the estrogen receptors, ERalpha and ERbeta, in estrogen target tissues in vivo through the use of an ERalpha-selective ligand. *Endocrinology*, v. 143, n. 11, p. 4172-4177, 2002.

HELDRING, N.; PIKE, A.; ANDERSSON, S.; MATTHEWS, J.; CHENG, G.; HARTMAN, J.; TUJAGUE, M.; STRÖM, A.; TREUTER, E.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen Receptors: How do they signal and what are their targets. *Physiol. Rev.*, v. 87, p. 905-931, 2007.

HELGUERO, L. A.; FAULDS, M. H.; GUSTAFSSON, J. A.; HALDOSÉN, L. A. Estrogen receptors alfa (ER α) and beta (ER β) differentially regulate proliferation and apoptosis of the normal murine mammary epithelial cell line HC11. *Oncogene*, v. 24, p. 6605-6616, 2005.

ISHIKI, M.; KLIP, A. Minireview: Recent Developments in the regulation of glucose transporter-4 traffic: New signals, locations, and partners. *Endocrinology*. v. 146, n. 12, p. 5071-5078, 2006.

JENSEN, E. V.; JACOBSON, H. I. Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Progress Horm. Res.*, v. 18, p. 387-414, 1962.

JONES, M. E.; THORBURN, A. W.; BRITT, K. L.; HEWITT, K. N.; WREFORD, N. G.; PROIETTO, J.; OZ, O. K.; LEURYI, B. J.; ROBERTSON, K. M.; YAO, S.; SIMPSON, E. R. Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 97, n. 23, p. 12735-12740, 2000.

KAAJA, R. J.; GREER, I. A. Manifestation of chronic disease during pregnancy. *Jama*, v. 294, n. 21, p. 2751-2757, 2005.

KALAITZIDIS, D.; GILMORE, T. D. Transcription factor cross-talk: the estrogen receptor and NF-kappaB. *Trends. Endocrinol. Metab.*, v. 16, p. 46-52, 2005.

KIM, J. Y.; JO, K. J.; KIM, B. J.; BAIK, H. W.; LEE, S. K. 17 β -estradiol induces an interaction between adenosine monophosphate-activated protein kinase and the insulin signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Int. J. Mol. Med.*, v. 18, 2012 [Epub ahead of print].

KOEHLER, K. F.; HELGUERO, L. A.; HALDOSÉN, L. A.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J. A. Reflections on the discovery and significance of estrogen receptor β . *Endocr. Rev.*, v. 26, n. 3, p. 465-478, 2005.

KONIGAME, V. C.; SIU, E. R.; ROYER, C.; LUCAS, T. F.; PORTO, C. S.; ABDALLA, F. M. Estrogen receptors mediate rapid activation of phospholipase C pathway in the rat endometrium. *Steroids*, v. 20, p. 1582-1589, 2011.

KRAICHELY, D.M.; SUN, J.; KATZENELLENBOGEN, J. A.; KATZENELLENBOGEN, B. S. Conformational changes and coactivator recruitment by novel ligands for estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta: correlations with biological character and distinct differences among SRC coactivator family members. *Endocrinology*, v. 141, n. 10, p. 3534–3545, 2000.

KREGE, J. H.; HODGIN, J. B.; COUSE, J. F.; ENMARK, E.; WARNER, M.; MAHLER, J. F.; SAR, M.; KORACH, K. S.; GUSTAFSSON, J. A.; SMITHIES, O. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor β . *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 95, p. 15677–15682, 1998.

KUIPER, G. G.; ENMARK, E.; PELTO-HUIKKO, M.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J. A. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 93, p. 5925–5930, 1996.

LAHM, T.; CRISOSTOMO, P. R.; MARKEL, T. A.; WANG, M.; WANG, Y.; TAN, J.; MELDRUM, D. R. Selective estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta agonists rapidly decrease pulmonary artery vasoconstriction by a nitric oxide-dependent mechanism. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, v. 295, n. 5, p. 1486-1493, 2008.

LEE, Y. R.; PARK, J.; YU, H. N.; KIM, J. S.; YOUN, H. J.; JUNG, S. H. Up-regulation of PI3K/Akt signaling by 17beta-estradiol through activation of estrogen receptor-alpha, but not estrogen receptor-beta, and stimulates cell growth in breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 336, n. 4, p. 1221-1226, 2005.

LI, X.; HUANG, J.; YI, P.; BAMBARA, R. A.; HILF, R.; MUYAN, M. Single-chain estrogen receptors (ERs) reveal that the ERalpha/beta heterodimer emulates functions of the ERalpha dimer in genomic estrogen signaling pathways. *Mol. Cell. Biol.*, v. 24, p. 7681-7694, 2004.

LINDBERG, M. K.; MOVÉRARE, S.; SKRTIC, S.; GAO, H.; DAHLMAN-WRIGHT, K.; GUSTAFSSON, J. A.; OHLSSON, C. Estrogen receptor (ER)- β reduces ER- α regulated gene transcription, supporting a “Ying Yang” relationship between ER α and ER β in mice. *Mol. Endocrinol.*, v. 17, n. 2, p. 203–208, 2003.

LOUET, J. F.; LEMAY, C.; MAUVAIS-JARVIS, F. Antidiabetic actions of estrogen: insight from human and genetic mouse models. *Curr. Atheroscler. Rep.*, v. 6, n. 3, p. 180-185, 2004.

LUBAHN, D. B.; MOYER, J. S.; GOLDING, T. S.; COUSE, J. F.; KORACH, K. S.; SMITHIES, O. Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 90, n. 23, p. 11162-11166, 1993.

LUCAS, T. F.; SIU, E. R.; ESTEVES, C. A.; MONTEIRO, H. P.; OLIVEIRA, C. A.; PORTO, C. S.; LAZARI, M. F. 17beta-estradiol induces the translocation of the estrogen receptors ESR1 and ESR2 to the cell membrane, MAPK3/1 phosphorylation and proliferation of cultured immature rat Sertoli cells. *Biol. Reprod.*, v. 78, p. 101-114, 2008.

MACHADO, U. F. Transportadores de glicose. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v. 42, n. 6, p. 413-421, 1998.

MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D.; SERAPHIM, P. M. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v. 50, n. 2, p. 177-189, 2006.

MALAMAS, M. S.; MANAS, E. S.; MCDEVITT, R. E.; GUNAWAN, I.; XU, Z. B.; COLLINI, M. D.; MILLER, C. P.; DINH, T.; HENDERSON, R. A.; KEITH, J. C. JR.; HARRIS, H. A. Design and synthesis of aryl diphenolic azoles as potent and selective estrogen receptor-beta ligands. *J. Med. Chem.*, v. 47, n. 21, p. 5021-5040, 2004.

MANAVATHI, B.; KUMAR, R. Steering estrogen signals from the plasma membrane to the nucleus: two sides of the coin. *J. Cell. Physiol.*, v. 207, n. 3, p. 594-604, 2006.

MATTHEWS, J.; WIHLÉN, B.; TUJAGUE, M.; WAN, J.; STRÖM, A.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptor (ER) β modulates ER α -mediated transcriptional activation by altering the recruitment of c-Fos and c-Jun to estrogen-responsive promoters. *Mol. Endocrinol.*, v. 20, n. 3, p. 534-543, 2006.

MCKAY, L. I.; CIDLOWSKI, J. A. Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor kappa B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocr. Rev.*, v. 20, p. 435-459, 1999.

MEYERS, M. J.; SUN, J.; CARLSON, K. E.; MARRINER, G. A.; ATZENELLENBOGEN, B. S.; KATZENELLENBOGEN, J. A. Estrogen receptor- β potency-selective ligands: structure-activity relationship studies of diarylpropionitriles and their acetylene and polar analogues. *J. Med. Chem.*, v. 44, p. 4230-4251, 2001.

MURAKI, K.; OKUYA, S.; TANIZAWA, Y. Estrogen receptor α regulates insulin sensitivity through IRS-1 tyrosine phosphorylation in mature 3T3-L1 adipocytes. *Endocr. J.*, v. 53, n. 6, p. 841-851, 2006.

NAAZ, A.; ZAKROCZYMSKI, M.; HEINE, P.; TAYLOR, J.; SAUNDERS, P.; LUBAHN, D.; COOKE, P. S. Effect of ovariectomy on adipose tissue of mice in the absence of estrogen receptor alpha (ERalpha): a potential role for estrogen receptor beta (ERbeta). *Horm. Metab. Res.*, v. 34, p. 758-763, 2002.

NAKSHATRI, H.; BHAT-NAKSHATRI, P.; MARTIN, D. A.; GOULET, R. J. JR.; SLEDGE, G. W. JR. Constitutive Activation of NF- κ B during Progression of Breast Cancer to Hormone-Independent Growth. *Mol. Cell. Biol.*, v. 17, p. 3629-3639, 1997.

NILSSON, S.; MÄKELÄ, S.; TREUTER, E.; TUJAGUE, M.; THOMSEN, J.; ANDERSSON, G.; ENMARK, E.; PETTERSSON, K.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J. A. Mechanisms of estrogen action. *Physiol. Rev.*, v. 81, n. 4, p. 1535-1565, 2001.

NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptors: Therapies targeted to receptor subtypes. *Clin. Pharmacol. Ther.*, v. 89, p. 44-55, 2011.

O'DOWD, B. F.; NGUYEN, T.; MARCHESE, A.; CHENG, R.; LYNCH, K. R.; HENG, H. H.; KOLAKOWSKI JR, L. F.; GEORGE, S. R. Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes. *Genomics*, v. 47, p. 310-313, 1998.

OKUNO, S.; AKAZAWA, S.; YASUHI, I.; KAWASAKI, E.; MATSUMOTO, K.; YAMASAKI, H.; MATSUO, H.; YAMAGUCHI, Y.; NAGATAKI, S. Decreased expression of the GLUT4 glucose transporter protein in adipose tissue during pregnancy. *Horm. Metab. Res.*, v. 27, p. 231-234, 1995.

PEDRAM, A.; RAZANDI, M.; LEVIN, E. R. Nature of functional estrogen receptors at the plasma membrane. *Mol. Endocrinol.*, v. 20, n. 9, p. 1996-2009, 2006.

PETTERSSON, K.; DELAUNAY, F.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptor beta acts as a dominant regulator of estrogen signaling. *Oncogene*, v. 19, n. 43, p. 4970-4980, 2000.

RAZANDI, M.; PEDRAM, A.; GREENE, G.; LEVIN, E. R. Cell membrane and nuclear estrogen receptors (ERs) originate from a single transcript: studies of ERalpha and ERbeta expressed in Chinese hamster ovary cells. *Mol. Endocrinol.*, v. 13, n. 2, p. 307-319, 1999.

RAZANDI, M.; OH, P.; PEDRAM, A.; SCHNITZER, J.; LEVIN, E. R. ERs associate with and regulate the production of caveolin: implications for signaling and cellular actions. *Mol. Endocrinol.*, v. 16, p. 100-115, 2002

RYDER, J. W.; CHIBALIN, A. V.; ZIERATH, J. R. Intracellular mechanisms underlying increases in glucose uptake in response to insulin or exercise in skeletal muscle. *Acta. Physiol. Scand.*, v. 171, p. 249-257, 2001.

RODRIGUEZ-CUENCA, S.; MONJO, M.; PROENZA, A. M.; ROCA, P. Depot differences in steroid receptor expression in adipose tissue: possible role of the local steroid milieu. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 288, p. 200-207, 2005.

ROYER, C.; LUCAS, T. F.; LAZARI, M. F.; PORTO, C.S. 17Beta-Estradiol Signaling and Regulation of Proliferation and Apoptosis of Rat Sertoli Cells. *Biol. Reprod.*, v. 86, n. 4, p. 1-13, 2012.

RUAN, H.; HACOHEN, N.; GOLUB, T. R.; VAN PARIS, L.; LODISH, H. F. Tumor necrosis factor- α supresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes. Nuclear factor- κ B activation by TNF- α is obligatory. *Diabetes*, v. 51, p. 1319-1336, 2002.

- SALPETER, S. R.; WALSH, J. M.; ORMISTON, T. M.; GREYBER, E.; BUCKLEY, N. S.; SALPETER, E. E. Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Diabetes Obes. Metab.*, v. 8, p. 538–554, 2006.
- SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, v. 13, n. 414, p. 799-806, 2001.
- SAVAGE, D. B.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Disordered lipid metabolism and pathogenesis of insulin resistance. *Physiol. Rev.*, v. 87, p. 507-520, 2007.
- SILVA, J. L. T.; GIANNOCCO, G.; FURUYA, D. T.; LIMA, G. A.; MORAES, P.; NACHEF, S.; BORDIN, S.; BRITTO, L. R.; NUNES, M. T., MACHADO, U. F. NF- κ B, MEF2A, MEF2D and HIF1- α involvement on insulin and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle. *Mol. Cell. Endocrinol.*, v. 240, p. 82-93, 2005.
- SIMONCINI, T.; RABKIN, E.; LIAO, J. K. Molecular basis of cell membrane estrogen receptor interaction with phosphatidylinositol 3-kinase in endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, v. 23, n. 2, p. 198-203, 2003.
- SOLOMON, C. G.; HU, F. B.; DUNAIF, A.; RICH-EDWARDS, J.; WILLETT, W. C.; HUNTER, D. J.; COLDITZ, G. A.; SPEIZER, F. E.; MANSON, J. E. Long or highly irregular menstrual cycles as a marker for risk of type 2 diabetes mellitus. *Jama*, v. 286, n. 19, p. 2421-2426, 2001.
- SONG, R. X.; ZHANG, Z.; SANTEN, R. J. Estrogen rapid action via protein complex formation involving ER α and Src. *Trends Endocrinol. Metab.*, v. 16, p. 347-353, 2005.
- SONG, R. X.; SANTEN, R. J. Membrane initiated estrogen signaling in breast cancer. *Biol. Reprod.*, v. 75, p. 9-16, 2006.
- SPENCER, C. P.; GODSLAND, I. F.; STEVENSON, J. C. Is there a menopausal metabolic syndrome? *Gynecol. Endocrinol.*, v. 11, n. 5, p. 341-355, 1997.
- STAUFFER, S. R.; COLETTA, C. J.; TEDESCO, R.; NISHIGUCHI, G.; CARLSON, K.; SUN, J.; KATZENELLENBOGEN, B. S.; KATZENELLENBOGEN, J. Á. Pyrazole ligands: structure-affinity/activity relationships and estrogen receptor- α -selective agonists. *J. Med. Chem.*, v. 43, p. 4934–4947, 2000.
- SWEENEY, G.; SOMWAR, R.; RAMLAL, T.; VOLCHUK, A.; UEYAMA, A.; KLIP, A. An inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase prevents insulin-stimulated glucose transport but not glucose transporter translocation in 3T3-L1 adipocytes and L6 myotubes. *J. Biol. Chem.*, v. 274, n. 15, p. 10071-10078, 1999.
- TAKEDA, K.; TODA, K.; SAIBARA, T.; NAKAGAWA, M.; SAIKA, K.; ONISHI, T.; SUGIURA, T.; SHIZUTA, Y. Progressive development of insulin resistance phenotype in male mice with complete aromatase (CYP19) deficiency. *J. Endocrinol.*, v. 176, p. 237–246, 2003.

THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporter. *Diabetes Care*, v. 13, n. 3, p. 209-218, 1990.

VARAYOUD, J.; RAMOS, J. G.; MONJE, L.; BOSQUIAZZO, V.; MUNOZ-DE-TORO, M.; LUQUE, E. H. The estrogen receptor alpha sigma 3 mRNA splicing variant is differentially regulated by estrogen and progesterone in the rat uterus. *J. Endocrinol.*, v. 186, p. 51-60, 2005.

WANG, T.; ZHANG, X.; LI, J. J. The role of NF-kappaB in the regulation of cell stress responses. *Int. Immunopharmacol.*, v. 2, p. 1509-1520, 2002.

WATSON R.; PESSIN J. Subcellular compartmentalization and trafficking of the insulin-responsive glucose transporter, Glut4. *Exp. Cell Research*. v. 271, p. 75-83, 2001.

WELLEN, K. E.; GÖKHAN, S. H. Inflammation, stress, and diabetes. *J. Clin. Invest.*, v. 115, n. 5, p. 1111-1119, 2005.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, v. 27, n. 5, p. 1047-1053, 2004.

XING, H.; NORTHROP, J. P.; GROVE, J. R.; KILPATRICK, K. E.; SU, J. L.; RINGOLD, G. M. TNF alpha-mediated inhibition and reversal of adipocyte differentiation is accompanied by suppressed expression of PPARgamma without effects on Pref-1 expression. *Endocrinology*, v. 138, n. 7, p. 2776-2783, 1997.

ZHAO, F.; KEATING, A. Functional Properties and Genomics of Glucose Transporters. *Curr. Genomics*. v. 8, p. 113-128, 2007.

ZORZANO, A.; PALACIN, M.; GUMÁ, A. Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.*, v. 183, p. 43-58, 2005.