

## Ferro e Doença Hepática Alcoólica

### *Iron and Alcoholic Liver Disease*

Luís Costa Matos, Sofia Martins, Paulo Batista, Nuno Monteiro, Pedro Henriques, Fernando Girão, Armando de Carvalho

Serviço de Medicina Interna do Centro Hospitalar Tondela-Viseu

### Resumo

O complexo metabolismo do ferro à luz das recentes descobertas dos mecanismos de regulação da sua absorção e distribuição apresenta relação estreita com os mecanismos fisiopatológicos da doença hepática alcoólica. Pretende-se fazer uma revisão teórica dos mais recentes conceitos clínicos e moleculares, bem como a relação entre o consumo de álcool com outras causas conhecidas de sobrecarga de ferro.

**Palavras-chave:** Doença Hepática Alcoólica; Ferro/metabolismo; Hpcidinas; Sobrecarga de Ferro

### Introdução

Apesar da relação entre ingestão de álcool e doença hepática ser conhecida há mais de 200 anos, apenas 30-35% dos alcoólicos apresentam doença hepática alcoólica (DHA) clinicamente significativa esteatohepatite e cirrose<sup>1-2</sup> e apenas 10-15% dos alcoólicos crónicos apresentam cirrose comprovada em autópsias.<sup>3</sup> No seguimentos de 10 a 20 anos em doentes com fígado gordo alcoólico, apenas em 5-15% se documenta cirrose utilizando biópsias seriadas.<sup>4-6</sup> Mesmo com consumos diários superiores a 120 g de álcool por dia, apenas 13,5% dos indivíduos desenvolvem cirrose.<sup>7</sup> A explicação para tal facto ainda não é clara. Claramente o álcool é um fator necessário mas nem sempre suficiente para o desenvolvimento de cirrose.<sup>8</sup>

A relação entre consumos elevados (160 gramas/dia) e prolongados (8 anos) de álcool e cirrose hepática foi já bem documentada,<sup>9</sup> mas existe evidência de aumento do risco relativo de cirrose hepática desde valores tão baixos como 10 gramas/dia nas mulheres e 20 gramas/dia nos homens.<sup>10</sup>

Atualmente, existe um relativo consenso sobre a dose hepatotóxica do etanol, ou seja, aquela que é suficiente para desencadear DHA, situando-se entre 7 a 13 doses de álcool por semana nas mulheres e entre 14 a 27 doses nos homens.<sup>11</sup> Isto corresponderá a um consumo médio diário de cerca de 20-40 gr de álcool para as mulheres e 40-80 gr por dia para os homens, durante um período de 10 a 12 anos.<sup>6,12</sup>

Um estudo epidemiológico em países europeus estima que por cada aumento em 1 litro per capita por ano de consumo de álcool, existe um aumento de 14% da incidência de cirrose nos homens e de 8% nas mulheres.<sup>13</sup>

É habitual a divisão da DHA nos três grupos histológicos clássicos: esteatose, hepatite alcoólica e cirrose e, eventualmente como está-

### Abstract

*Iron's complex metabolism in light of recent discoveries concerning its absorption and distribution is closely related to the pathophysiology of alcoholic liver disease. The authors perform a theoretical review about the latest clinical and molecular concepts of the conditions associated with iron overload and their relations to alcoholic consumption.*

**Keywords:** Iron/metabolism; Iron Overload; Hpcidins; Liver Diseases, Alcoholic

dio mais avançado, o carcinoma hepatocelular. No entanto, normalmente coexistem dois ou mais desses grupos. Esta divisão é útil para encarmos a DHA como um contínuo evolutivo com uma gravidade menor na esteatose e, acima de tudo, o conceito de reversibilidade, que é total na esteatose pura e quase nula na cirrose hepática instalada.<sup>14-16</sup>

### Métodos

Este artigo foi elaborado com a consulta de livros de texto e a pesquisa na base de dados Medline (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) no item "Alcoholic Liver Disease", selecionando os artigos considerados mais relevantes.

### Metabolismo do Ferro

O ferro é um micronutriente essencial ao metabolismo humano, devido à capacidade para facilmente aceitar e doar eletrões, permutando entre a forma férrica (Fe<sup>3+</sup>) e a ferrosa (Fe<sup>2+</sup>). Esta propriedade torna-o fundamental para integrar moléculas como os citocromos, os transportadores de O<sub>2</sub> (hemoglobina e mioglobina), e muitas enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo. Contudo, a grande reatividade do ferro torna-o especialmente agressivo para os tecidos. Dada esta dualidade a homeostasia do ferro requer uma regulação extremamente minuciosa.<sup>17-21</sup>

Uma forma do organismo se proteger desta reatividade do ferro é através do transporte e armazenamento do mesmo. Na circulação, o ferro encontra-se ligado à transferrina (Tf), que é a principal molécula responsável pelo seu transporte no organismo.<sup>22</sup>

Um homem adulto tem normalmente cerca de 35 a 50 mg de ferro por cada quilograma de peso corporal. As mulheres pré-menopausadas têm geralmente depósitos de ferro inferiores, devido às perdas



regulares nos ciclos menstruais. A grande maioria do ferro corporal encontra-se incorporado na hemoglobina, outro apresenta-se incorporado na mioglobina muscular, no sistema retículo-endotelial e no parênquima hepático. Em circulação encontra-se normalmente menos de 3 mg de ferro.<sup>19</sup>

A dieta normal contém cerca de 10-20 mg por dia. Destes são normalmente absorvidos 1 a 2 mg no intestino delgado proximal, correspondendo à perda diária normal, que ocorre fundamentalmente pela descamação passiva da mucosa gastrointestinal e do epitélio uro-genital.<sup>8</sup> Não existe, portanto, qualquer mecanismo ativo no homem para a excreção de ferro, mas a absorção intestinal pode aumentar em resposta a requerimentos aumentados de ferro como no crescimento, gravidez ou perda de sangue.<sup>21,22</sup>

As maiores necessidades de ferro por parte do organismo são justificadas pela eritropoiese. Uma vez que a absorção diária é muito reduzida as necessidades diárias de ferro da medula óssea são supridas por um eficaz mecanismo de reaproveitamento dos constituintes dos glóbulos vermelhos senescentes onde o sistema retículo-endotelial desempenha um papel importante.<sup>18,23,24</sup>

Poucos campos da fisiologia humana sofreram um avanço tão grande na última década como a compreensão da regulação do metabolismo do ferro.<sup>25</sup>

A hepcidina é um péptido de síntese hepática, que assume o papel de uma hormona central na regulação do metabolismo do ferro no organismo humano. O ferro é absorvido pelos enterócitos e a sua passagem para o plasma faz-se através de uma proteína de membrana denominada ferroportina. A ferroportina é o único exportador de ferro conhecido nas células. Desempenha o mesmo papel nas células do sistema retículo-endotelial, que reciclam o ferro do Heme contido nos eritrócitos senescentes e nos hepatócitos, que também constituem uma importante reserva dos depósitos de ferro no organismo. (Fig. 1)

A hepcidina inibe a ferroportina, impedindo a passagem do ferro para o exterior das células. A sua síntese é regulada a nível da transcrição, sendo aumentada por estímulos inflamatórios e sobrecarga de ferro e inibida pela hipóxia, anemia, carência de ferro e citocinas dos percursores eritroides relacionadas com a atividade eritropoética.<sup>26, 27</sup>

## Ferro e DHA

### RELAÇÃO ENTRE CONSUMO ALCOÓLICO E SOBRECARGA DE FERRO

A relação entre aumento de depósitos de ferro e doença hepática alcoólica é já bem conhecida, desde há muitos anos. Em 1896, Gilbert e Grenet afirmavam que a hemocromatose não era mais que uma variante da cirrose alcoólica - "cirrose alcoólica hipertrófica pigmentada". Com o aparecimento da biópsia hepática percutânea, este conceito ganhou força, pois o aparecimento de depósitos de ferro nos fígados cirróticos era comum, especialmente nos casos de cirrose alcoólica. Mesmo já em 1964, o conceituado patologista Richard MacDonald afirmava com persistência que a hemocromatose era uma forma de cirrose alcoólica, provindo o ferro da dieta e do vinho tinto.<sup>28, 29</sup>

Cerca de 33% dos alcoólicos apresentam depósitos de ferro aumentados no fígado,<sup>30</sup> em casos de doença hepática alcoólica terminal esta percentagem excede os 50%.<sup>31</sup>

Ainda assim, os depósitos de ferro hepáticos nunca atingem a mesma intensidade da hemocromatose hereditária e estes tendem a ser mistos, parenquimatosos e retículo-endoteliais em contraposição com a hemocromatose, que são essencialmente parenquimato-

sos.<sup>32, 33</sup> Para além do fígado pode ser detetada uma sobrecarga de ferro noutros órgãos na DHA: Os mais comuns são o coração e o pâncreas.<sup>34</sup>

O ferro sérico e a ferritina aumentam progressivamente consoante o consumo diário de álcool; o consumo de cerveja parece estar relacionado com uma superior absorção de ferro, talvez pela elevada concentração deste metal que alguns tipos de cerveja possuem.<sup>35</sup>

É também sabido que a ferritina sérica é mais elevada na DHA, em comparação com outras doenças hepáticas crónicas, como doenças autoimunes ou hepatite crónica a vírus C. Durante a abstinência alcoólica, os valores de Ferritina baixam rapidamente.<sup>36, 37</sup>

O consumo de álcool é mesmo uma das principais causas do aumento da ferritina sérica na população em geral.<sup>38, 39</sup>

Mesmo consumos ligeiros parecem afetar de algum modo a regulação do metabolismo de ferro pelo organismo. A partir de duas bebidas por dia, existe uma diferença significativa na Ferritina sérica e saturação da transferrina em relação a não bebedores. Mesmo com consumos inferiores a duas bebidas por dia, existe uma diminuição do risco de anemia ferripriva de 40%.<sup>40</sup>

Para além da elevação da ferritina e da saturação da transferrina nos alcoólicos, encontram-se evidências de um aumento no plasma de ferro livre, não ligado à transferrina (em 83,7% dos consumidores ativos contra 21,2% dos abstémios), mesmo naqueles com saturações de transferrina inferiores a 45%.<sup>41</sup>

### FISIOPATOLOGIA DA SOBRECARGA DE FERRO NA DHA

Na DHA, coexistem diversos fatores que podem ser responsáveis pela sobrecarga de ferro: aumento no aporte, absorção intestinal aumentada, sobre-expressão do receptor da Transferrina 1 (TfR-1) hepático, hemólise, hipersplenismo, eritropoiese ineficaz (devido a carências vitamínicas e toxicidade medular direta) e ainda hipóxia (devido a shunts intrapulmonares e porto-sistémicos).<sup>33</sup>

Já era conhecida a influência da desregulação intestinal da absorção de ferro na sobrecarga de ferro associada à DHA tendo-se demonstrado, por técnicas de medicina nuclear, uma maior absorção de <sup>59</sup>Fe nos alcoólicos crónicos - cerca do dobro em relação ao normal.<sup>42</sup> Este efeito já tinha sido verificado e associado, na altura, a uma deficiência concomitante de ácido fólico.<sup>43</sup>

Entretanto, constatou-se que alterações a nível duodenal estariam relacionadas com a ingestão de álcool havendo um aumento da atividade redutora do ferro intraluminal a ferro ferroso, um aumento do transportador de metais bivalentes 1 (DMT-1) na membrana apical dos enterócitos e de Ferroportina na membrana basolateral.<sup>33</sup>

Objetivou-se também um aumento da expressão de TfR1 nos hepatócitos, levando a pensar que a captação do ferro pelo fígado, apesar da sobrecarga já existente, estava aumentada na DHA.<sup>44, 45</sup> (Fig. 2)

Após a descoberta da Hpcidina e do seu papel fundamental na regulação do metabolismo do Ferro, particularmente da sua absorção, as atenções viraram-se para o efeito do etanol na síntese hepática dessa proteína.

Não é surpreendente que se tenha verificado experimentalmente que o etanol provocava uma diminuição da expressão do ácido ribonucleico mensageiro (ARNm) da hepcidina, in vitro e in vivo. O efeito não era dependente do etanol em si, mas do seu metabolismo, pois com a administração concomitante de 4-metilpirazol, um inibidor específico das enzimas metabolizadoras do álcool, não se verificava qualquer alteração da transcrição. Para além disso, o acetaldeído isolado era também capaz de inibir a transcrição da hepcidina. Apu-

rou-se que a redução da transcrição da hepcidina era provocada pela inibição quer do promotor do seu gene (HAMP), quer do fator de transcrição nuclear C/EBPa.<sup>46-48</sup>

Mesmo em modelos animais de hemocromatose hereditária, nomeadamente ratinhos HFE (-/-), a administração de álcool parece suprimir ainda mais a transcrição de hepcidina.<sup>49</sup>

Num estudo que comparou a expressão hepática de ARNm da hepcidina entre 25 doentes com DHA, que mantinham hábitos alcoólicos, e 20 controlos saudáveis concluiu-se que a expressão da hepcidina era reduzida no primeiro grupo e que este seria o mecanismo para a sobrecarga de ferro relacionada com o consumo de álcool que se observa na espécie humana.<sup>98</sup>

Em indivíduos portadores de DHA, foi também demonstrada uma diminuição dos níveis séricos de pro-Hepcidina em relação a controlos.<sup>50</sup>

Estes achados implicavam que provavelmente o promotor do HAMP e o C/EBPa eram inibidos pelo stress oxidativo das vias de metabolização do álcool, com o aumento da relação NADH/NAD e a formação de ROS. Esta hipótese era corroborada pela ausência de inibição do C/EBPa com a adição de antioxidantes.<sup>47</sup> Aliás, a regulação da transcrição dos genes causada pelo nível de stress oxidativo celular já tinha sido bem descrita.<sup>51</sup>

Esta parece ser uma via comum partilhada pelo álcool, hepatite C crónica e esteatohepatite não alcoólica, no que respeita à diminuição da hepcidina com a consequente sobrecarga de ferro que caracteri-

za estas doenças, através do aumento da sua absorção intestinal e do seu depósito no Fígado.<sup>52</sup>

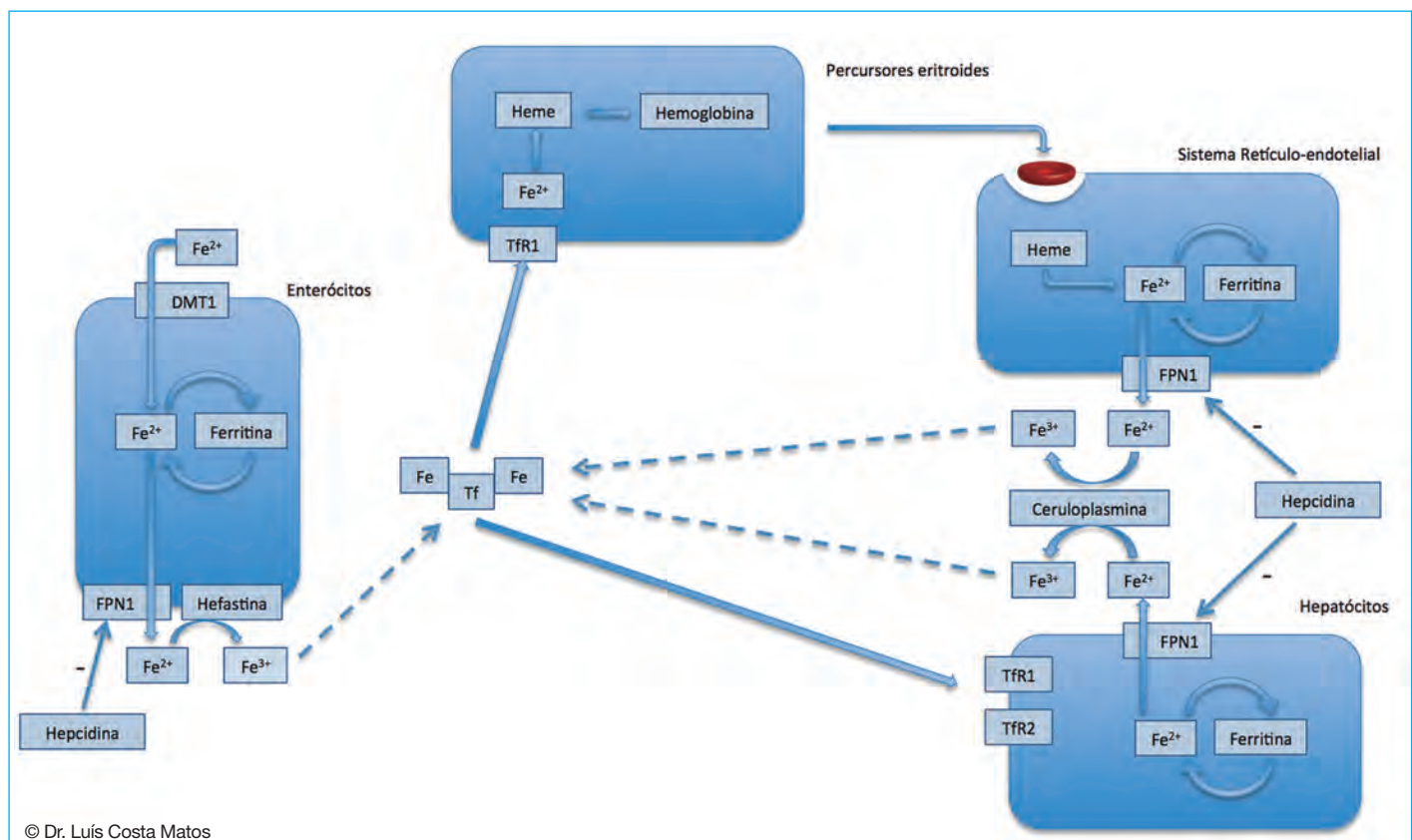
Para além disso, o álcool parece diminuir a resposta da transcrição de hepcidina ao estímulo da interleucina 6 (IL-6)<sup>53</sup> e da sobrecarga de ferro,<sup>54</sup> pelo que é fácil de compreender que o metabolismo de quantidades elevadas de etanol, de forma continuada, originam uma espiral de supressão da hepcidina com consequente aumento da sobrecarga hepática de ferro.<sup>55</sup>

Após transplante hepático por DHA foi documentada a elevação dos níveis de hepcidina ao mesmo tempo que diminuía a ferritina sérica.<sup>56</sup> A relação entre polimorfismos do HFE e sobrecarga de ferro/ evolução da DHA é também controversa.<sup>57,58</sup>

A administração de álcool a ratinhos com mutações HFE (homozigotos e heterozigotos) originou um subsequente aumento da absorção intestinal e dos níveis de ferro, associado a uma diminuição ainda maior dos níveis de hepcidina.<sup>59</sup>

Numa população espanhola com DHA avançada, o achado de polimorfismos H63D é mais frequente do que na população em geral. Estimou-se um odds ratio de 1,66, com um intervalo de confiança a 95% de 1,10-2,52 ( $p = 0.01$ ). Não se encontrou relação com a mutação C282Y.<sup>60</sup>

Em Portugal, foi também encontrada esta associação entre a presença de uma mutação H63D e a ocorrência de doença hepática nos alcoólicos. Num grupo com consumo superior a 80 g de álcool por dia e com doença hepática comprovada por biópsia ou por des-



**Figura 1**

Metabolismo do Ferro no organismo e a sua regulação pela Hepcidina. Esta atua a nível das células que expressam a Ferroportina, levando à sua internalização e impedindo a passagem do ferro intracelular para o plasma. DMT1 - Transportador de Metais Bivalentes; TfR - Receptores da transferrina; FPN1 - Ferroportina-1

compensação clínica, a prevalência dessa mutação foi superior a outro grupo com consumos alcoólicos equivalentes, mas sem evidência de doença hepática; o odds ratio era de 1,57, com um intervalo de confiança a 95% de 1,02-2,40 ( $p = 0,02$ ).<sup>61</sup>

Contudo, na maior parte dos estudos que abordaram este tema, não foi encontrada qualquer relação entre a heterozigotia para as mutações HFE e o risco de desenvolver doença hepática alcoólica.<sup>62-68</sup>

### CONTRIBUIÇÃO DA SOBRECARGA DE FERRO PARA A EVOLUÇÃO DA DHA

A quantidade de ferro intra-hepático na DHA correlaciona-se com o risco de desenvolvimento de fibrose.<sup>10</sup> Na cirrose alcoólica, a presença de depósitos de ferro hepático correlaciona-se inversamente com a sobrevida.<sup>70</sup>

O aumento do ferro nos hepatócitos poderá ser um fator envolvido no desenvolvimento e progressão da esteatohepatite alcoólica, pelo aumento do stress oxidativo.<sup>36,71,72</sup>

Os efeitos deletérios do ferro nos tecidos são evidentes pela sua associação à carcinogénese, que pode ocorrer quer na iniciação, pelos efeitos mutagénicos dos radicais livres no ADN e pelos efeitos diretos na desregulação do ciclo celular, através do aumento de expressão da ciclina D1, quer na promoção, por facilitar o crescimento das células neoplásicas e possivelmente por alterar as respostas imunes.<sup>73,74</sup> Está também bem estabelecida a associação entre a intensidade e duração da sobrecarga de ferro hepática e o risco de carcinoma hepatocelular. O risco desta é superior na Hemocromatose Hereditária em relação a outras doenças crónicas do fígado e parece estar relacionado sobretudo com mutações no gene  $p^{53}$ . Neste caso,

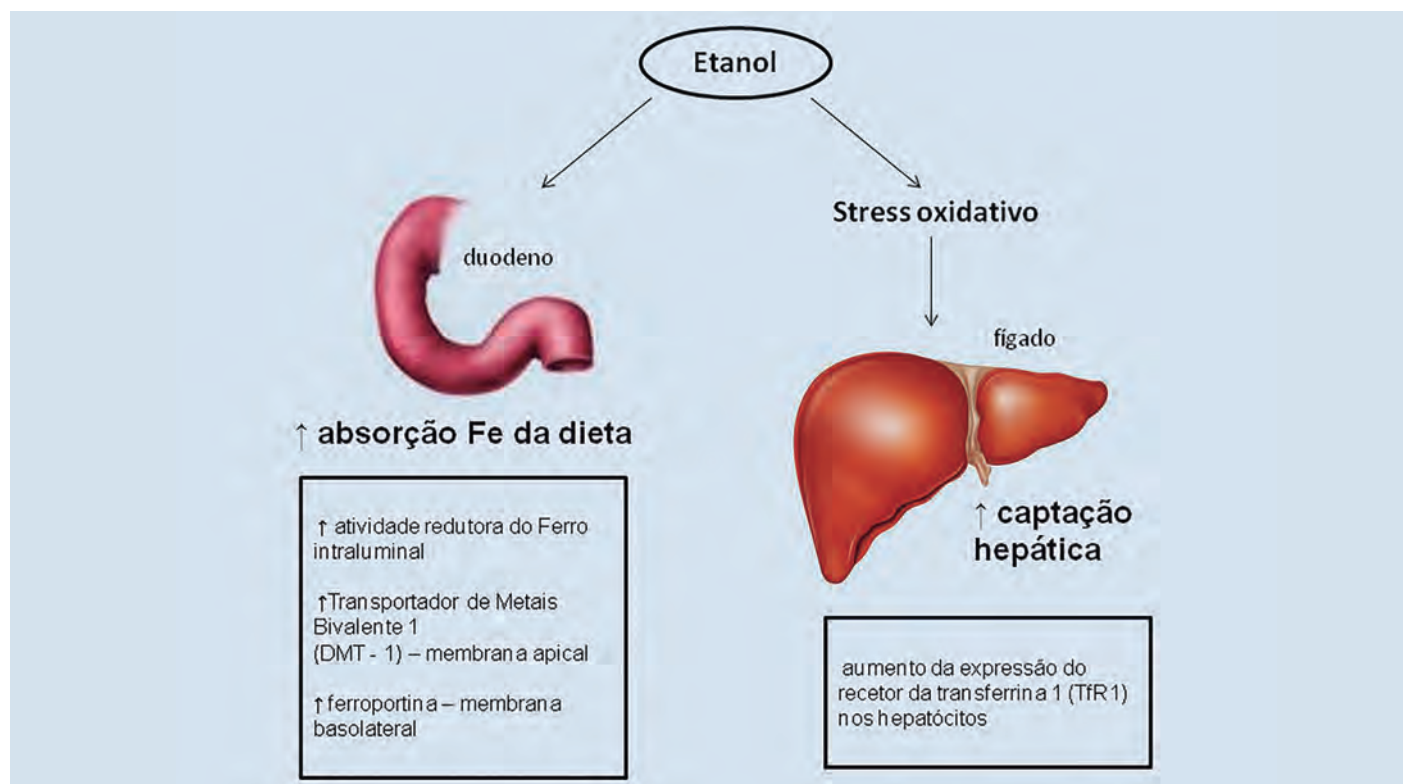
está mesmo descrito o seu desenvolvimento em fígados não cirróticos.<sup>75,76</sup>

A hemocromatose é de facto um paradigma da sinergia entre álcool e ferro no estabelecimento da doença hepática. Quando associada a consumos alcoólicos excessivos, a expressão fenotípica da doença aumenta, traduzida pela elevação do ferro, ferritina e saturação de transferrina, e maior hiperpigmentação da pele.<sup>77</sup> Esta associação condiciona uma maior incidência de cirrose e carcinoma hepatocelular.<sup>78,79</sup> Com efeito, doentes com hemocromatose hereditária relacionada com o HFE que ingerem mais de 60 g de álcool por dia têm um risco 9 vezes superior de desenvolver cirrose hepática do que aqueles que ingerem quantidades inferiores.<sup>80</sup>

O ferro livre pode lesar o hepatócito, quando a capacidade de transporte/armazenamento é superada, aumentando significativamente o stress oxidativo, causando morte celular, reações inflamatórias, e fibrogénese.<sup>81, 82</sup>

Mesmo sem causar lesão direta, pensa-se que o ferro pode, por si só, ativar respostas inflamatórias. Foi demonstrado experimentalmente que este elemento, nomeadamente a forma livre intra-citoplasmática, é capaz de atuar como mensageiro intracelular, induzindo através de uma proteína sensível ao estado redox (factor nuclear  $\kappa B$ ) a transcrição de ARNm de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e a IL-6. A adição de quelantes do ferro, por outro lado, diminui significativamente a produção destas citocinas.<sup>83-86</sup> Este mecanismo parece ter relevância no desencadear da esteatohepatite alcoólica, uma vez que o aumento da concentração de ferro nos macrófagos agrava esse quadro.<sup>87</sup>

De facto, já foi demonstrado experimentalmente que a fibrogénese



**Figura 2**

Duas vias possíveis na acumulação desregulada de ferro na doença hepática alcoólica (DHA), em fases iniciais da doença. Uma delas sendo o aumento da absorção intestinal e outra o aumento da captação por parte do hepatócito



hepática na DHA pode ser exacerbada pela administração concomitante de ferro por 16 semanas. Esta provoca uma concentração hepática de Ferro 2 a 3 vezes superior aos controlos com administração isolada de etanol, bem como um aumento 2 vezes superior das aminotransferases e de produtos de peroxidação lipídica, o que evidencia o aumento do *stress* oxidativo.<sup>88</sup>

Histologicamente, menos de 30% desses ratinhos a que só foi administrado etanol apresentavam fibrose focal, enquanto que todos os que foram suplementados com ferro apresentavam fibrose hepática (com fibrose em ponte em 60% dos casos e cirrose micronodular em 17%). Para além disso, este grupo apresentava acentuadas elevações de ARNm de pro-colagénio tipo I e TGF- $\beta$ 1.<sup>89</sup>

As células estreladas hepáticas (CEH), efetores principais do processo de fibrogénese, apresentam recetores específicos de alta afinidade para a Transferrina, que induzem a transcrição da  $\alpha$ -actina e pro-colagénio tipo I para a ferritina.<sup>89,90</sup>

Com efeito, foi demonstrada a existência de ativação das CEH acima de concentrações de ferro hepático superiores a 60  $\mu$ mol/g, com um aumento da expressão de  $\alpha$ -actina correlacionado com o valor dessas concentrações; esta ativação era revertida com a remoção progressiva do ferro por flebotomias.<sup>91</sup>

Apesar da remoção do ferro em excesso parecer uma terapêutica racional, a verdade é que estudos das décadas de 1960 e 1970 sobre a flebotomia na DHA nunca encontraram algum benefício.<sup>92-94</sup> No entanto, nessa época a distinção entre as diversas causas de sobrecarga hepática não era muito clara. Estudos experimentais mais recentes usando quelantes do Ferro, como a desferroxamina<sup>95</sup> e a deferiprona<sup>96</sup> mostram um claro benefício. No entanto, a sua aplicabilidade em humanos para este fim é muito limitada, dada a complexidade de administração e efeitos tóxicos. Talvez o quelante de uso clínico mais recente - o deferasirox - encontre uma aplicação neste campo. Um trabalho recente na esteatohepatite não-alcoólica (NASH) demonstrou algum benefício.<sup>97</sup> Contudo o papel dos quelantes de ferro ainda não está bem definido. Serão necessários mais estudos nesta área e em particular no que diz respeito à DHA.

## Conclusão

O contínuo da doença hepática alcoólica e a sua fisiopatologia estão estreitamente ligados com o metabolismo do ferro. É hoje aceite que a sobrecarga deste é causa e consequência de um pior prognóstico que caracteriza esta patologia. O álcool, pelo seu efeito inibitório, através dos seus metabolitos, da transcrição da hepcidina a nível dos seus genes promotores e dessensibilização ao efeito da IL-6 conduz à sobrecarga de ferro na doença hepática alcoólica, agravando ainda a sobrecarga de ferro noutras situações (nomeadamente na hemocromatose primária). Está comprovado que a existência/agravamento da sobrecarga de ferro na doença hepática agrava significativamente o prognóstico, encurtando o tempo de evolução para fibrose e cirrose, através de mecanismos de *stress* oxidativo pela indução do NF- $\kappa$ B e de transcrição de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- $\alpha$  e IL-6. A terapêutica quelante de ferro ou as flebotomias não mostraram, para já, benefício em termos de morbi-mortalidade no contexto da doença hepática alcoólica. ■

**Conflitos de Interesse:** Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho

**Fontes de Financiamento:** Não existiram fontes externas de

*financiamento para a realização deste artigo*

**Correspondência:** Luís Costa Matos, Serviço de Medicina Interna, Centro Hospitalar de Tondela-Viseu

**Recebido:** 13/04/12

**Aceite:** 20/02/15

## Bibliografia

- Grant BF, Dufour MC, Harford TC. Epidemiology of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1988;8:12-25.
- McCullough AJ, O'Connor JF. Alcoholic liver disease: proposed recommendations for the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2022-2036.
- Pequignot G, Cyrulnik F. Chronic disease due to overconsumption of alcoholic drinks (excepting neuropsychiatric pathology) in *International Encyclopaedia of Pharmacology and Therapeutics*, vol II. Oxford: Pergamon Press; 1970. p.375-412.
- Leevy CM. Fatty liver: a study of 270 patients with biopsy proven fatty liver and review of the literature. *Medicine*. 1962; 41: 249-76.
- Sorensen TI, Orholm M, Bentsen KD, Lancet, Høybye G, Eghøj K, Christoffersen P. Prospective evaluation of alcohol abuse and alcoholic liver injury in men as predictors of development of cirrhosis. *Lancet*. 1984; 2:241-4.
- Teli MR, Day CP, Burt AD, Bennett MK, James OF. Determinants of progression to cirrhosis or fibrosis in pure alcoholic fatty liver. *Lancet*. 1995; 346: 987-90.
- Bellentani S, Saccoccio G, Costa G, Tiribelli C, Manenti F, Sodde M, et al. Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group. *Gut*. 1997; 41: 845-50.
- Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the Liver and Biliary System* 11st ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2002
- Lelbach WK. Cirrhosis in the alcoholic and its relation to the volume of alcohol abuse. *Ann N Y Acad Sci*. 1975 Apr 25; 252:85-105.
- Mann RE, Smart RG, Govoni R. The epidemiology of alcoholic liver disease. *Alcohol Res Health*. 2003;27:209-19.
- Becker U, Deis A, Sorensen TI, Grønbaek M, Borch-Johnsen K, Müller CF, et al. Prediction of risk of liver disease by alcohol, intake, sex, and age: a prospective population study. *Hepatology* 1996; 23: 1025-1029.
- Mandayam S, Jamal MM, Morgan TR. Epidemiology of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis*. 2004 Aug;24(3):217-32.
- Corrao G, Ferrari P, Zambon A, Torchio P. Are the recent trends in liver cirrhosis mortality affected by the changes in alcohol consumption? Analysis of latency period in European countries. *J Stud Alcohol* 1997;58: 486-94.
- MacSween RN, Burt AD. Histologic spectrum of alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis*. 1986;6:221-232.
- Lefkowitz JH. Morphology of alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis*. 2005;9:37-53.
- Costa Matos L. Doença hepática alcoólica. *Med-Interna*, 2006, 2006;13:207-16.
- John W. Adamson. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In: Braunwald E, editor. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. New York: McGraw-Hill; 2008.
- Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*. 1999;341:1986-95.
- Frazer DM, Anderson GJ. Iron imports. I. Intestinal iron absorption and its regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;289:G631-5.
- Muñoz M, Villar I, García-Erce JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol*. 2009;15:4617-26.

21. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 2008;88:7-15.
22. Swanson CA. Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload. *Alcohol.* 2003;30:99-102.
23. Brittenham GM, Weiss G, Brissot P, Lainé F, Guillygomarc'h A, Guyader D, et al. Clinical consequences of new insights in the pathophysiology of disorders of iron and heme metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2000:39-50.
24. Himmelfarb J. Iron regulation. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:379-81.
25. Collins JF, Wessling-Resnick M, Knutson MD. Hepcidin regulation of iron transport. *J Nutr.* 2008;138:2284-8.
26. Deugnier Y, Brissot P, Loréal O. Iron and the liver: update 2008. *J Hepatol.* 2008;48 Suppl 1:S113-23.
27. Pietrangelo A. Hepcidin in human iron disorders: therapeutic implications. *J Hepatol.* 2011;54:173-181.
28. Fletcher LM, Powell LW. Hemochromatosis and alcoholic liver disease. *Alcohol.* 2003;30:131-136.
29. Fletcher LM, Bridle KR, Crawford DH. Effect of alcohol on iron storage diseases of the liver. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2003;17:663-77.
30. Fletcher LM, Halliday JW, Powell LW. Interrelationships of alcohol and iron in liver disease with particular reference to the iron-binding proteins, ferritin and transferrin. *J Gastroenterol Hepatol.* 1999;14:202-14.
31. Pascoe A, Kerlin P, Steadman C, Clouston A, Jones D, Powell L, et al. Spur cell anaemia and hepatic iron stores in patients with alcoholic liver disease undergoing orthotopic liver transplantation. *Gut.* 1999;45:301-5.
32. Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Hosoki Y, Saito H, et al. Iron accumulation in alcoholic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res.* 2005;29(11 Suppl):189S-193S.
33. Sebastiani G, Walker AP. HFE gene in primary and secondary hepatic iron overload. *World J Gastroenterol.* 2007 Sep 21;13:4673-89.
34. Eng SC, Taylor SL, Reyes V, Raaka S, Berger J, Kowdley KV. Hepatic iron overload in alcoholic end-stage liver disease is associated with iron deposition in other organs in the absence of HFE-1 hemochromatosis. *Liver Int.* 200;25:513-517.
35. Whitfield JB, Zhu G, Heath AC, Powell LW, Martin NG. Effects of alcohol consumption on indices of iron stores and of iron stores on alcohol intake markers. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001;25:1037-45.
36. Bell H, Skinningsrud A, Raknerud N, Try K. Serum ferritin and transferrin saturation in patients with chronic alcoholic and non-alcoholic liver diseases. *J Intern Med.* 1994;236:315-322.
37. Machado MV, Gonçalves MS, Cortez-Pinto H. Metabolismo do ferro em alcoólicos crônicos em consumo ativo e durante a abstinência. *J Port Gastroenterol* 2004, 11: 186-90.
38. Hearnshaw S, Thompson NP, McGill A. The epidemiology of hyperferritinaemia. *World J Gastroenterol.* 2006;12:5866-69.
39. Milman N, Ovesen L, Byg K, Graudal N. Iron status in Danes updated 1994. I: prevalence of iron deficiency and iron overload in 1332 men aged 40-70 years. Influence of blood donation, alcohol intake, and iron supplementation. *Ann. Hematol.* 1999;78:393-400.
40. Ioannou GN, Dominitz JA, Weiss NS, Heagerty PJ, Kowdley KV. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia. *Gastroenterology.* 2004;126:1293-1301.
41. De Feo TM, Fargion S, Duca L, Cesana BM, Boncinelli L, Lozza P, et al. Non-transferrin-bound iron in alcohol abusers. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001;25:1494-9.
42. Duane P, Raja KB, Simpson RJ, Peters TJ. Intestinal iron absorption in chronic alcoholics. *Alcohol Alcohol.* 1992;27:539-44.
43. Celada A, Rudolf H, Donath A. Effect of experimental chronic alcohol ingestion and folic acid deficiency on iron absorption. *Blood.* 1979;54:906-15.
44. Suzuki Y, Saito H, Suzuki M, Hosoki Y, Sakurai S, Fujimoto Y, et al. Up-regulation of transferrin receptor expression in hepatocytes by habitual alcohol drinking is implicated in hepatic iron overload in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 2002;26(8 Suppl):26S-31S
45. Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Torimoto Y, Kato J. Dysregulation of systemic iron metabolism in alcoholic liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23 Suppl 1:S78-81.
46. Harrison-Findik DD, Schafer D, Klein E, Timchenko NA, Kulaksiz H, Clemens D, et al. Alcohol metabolism-mediated oxidative stress down-regulates hepcidin transcription and leads to increased duodenal iron transporter expression. *J Biol Chem.* 2006;281:22974-82.
47. Harrison-Findik DD, Klein E, Evans J, Gollan J. Regulation of liver hepcidin expression by alcohol in vivo does not involve Kupffer cell activation or TNF-alpha signaling. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;296:G112-8.
48. Harrison-Findik DD. Role of alcohol in the regulation of iron metabolism. *World J Gastroenterol.* 2007;13:4925-30.
49. Heritage ML, Murphy TL, Bridle KR, Anderson GJ, Crawford DH, Fletcher LM. Hepcidin regulation in wild-type and Hfe knockout mice in response to alcohol consumption: evidence for an alcohol-induced hypoxic response. *Alcohol Clin Exp Res.* 2009;33:1391-1400.
50. Ohtake T, Saito H, Hosoki Y, Inoue M, Miyoshi S, Suzuki Y, et al. Hepcidin is down-regulated in alcohol loading. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(1 Suppl):S2-8.
51. Liu H, Colavitti R, Rovira II, Finkel T. Redox-dependent transcriptional regulation. *Circ Res.* 2005;97:967-74.
52. Swinkels DW, Drenth JP. Hepcidin in the management of patients with mild non-hemochromatotic iron overload: Fact or fiction? *J Hepatol.* 2008;49(5):680-5.
53. Bridle K, Cheung TK, Murphy T, Walters M, Anderson G, Crawford DG, et al. Hepcidin is down-regulated in alcoholic liver injury: implications for the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006;30:106-12.
54. Harrison-Findik DD, Klein E, Crist C, Evans J, Timchenko N, Gollan J. Iron-mediated regulation of liver hepcidin expression in rats and mice is abolished by alcohol. *Hepatology.* 2007;46:1979-85.
55. Harrison-Findik DD. Is the iron regulatory hormone hepcidin a risk factor for alcoholic liver disease? *World J Gastroenterol.* 2009;15:1186-93.
56. Iqbal T1, Diab A, Ward DG, Brookes MJ, Tselepis C, Murray J, et al. Is iron overload in alcohol-related cirrhosis mediated by hepcidin? *World J Gastroenterol.* 2009;15:5864-6.
57. Bonkovsky HL, Lambrecht RW, Shan Y. Iron as a co-morbid factor in nonhemochromatotic liver disease. *Alcohol.* 2003;30:137-44.
58. Wallace DF, Subramaniam VN. Co-factors in liver disease: the role of HFE-related hereditary hemochromatosis and iron. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790:663-70.
59. Flanagan JM, Peng H, Beutler E. Effects of alcohol consumption on iron metabolism in mice with hemochromatosis mutations. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31:138-43.
60. Ropero Gradilla P, Villegas Martínez A, Fernández Arquer M, García-Agúndez JA, González Fernández FA, Benítez Rodríguez J, et al. C282Y and H63D mutations of HFE gene in patients with advanced alcoholic liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2001;93:156-63.
61. Machado MV, Ravasco P, Martins A, Almeida MR, Camilo ME, Cortez-Pinto H. Iron homeostasis and H63D mutations in alcoholics with and without liver disease. *World J Gastroenterol.* 2009;15:106-11.
62. Grove J1, Daly AK, Burt AD, Guzail M, James OF, Bassendine MF, et al. Heterozygotes for HFE mutations have no increased risk of advanced alcoholic liver disease. *Gut.* 1998;43:262-6.
63. Gleeson D, Evans S, Bradley M, Jones J, Peck RJ, Dube A, et al. HFE genotypes in decompensated alcoholic liver disease: phenotypic ex-

- pression and comparison with heavy drinking and with normal controls. *Am J Gastroenterol.* 2006;101:304-10.
64. Lauret E, Rodríguez M, González S, Linares A, López-Vázquez A, Martínez-Borra J, et al. HFE gene mutations in alcoholic and virus-related cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:1016-21.
  65. Frenzer A, Rudzki Z, Norton ID, Butler WJ, Roberts-Thomson IC. Heterozygosity of the haemochromatosis mutation, C282Y, does not influence susceptibility to alcoholic cirrhosis. *Scand J Gastroenterol.* 1998;33:1324.
  66. Robinson G, Narasimhan S, Weatherall M, Beasley R. Hemochromatosis gene mutations, liver function tests and iron status in alcohol-dependent patients admitted for detoxification. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:852-4.
  67. Olynyk JK, Knuiiman MW, Divitini ML, Bartholomew HC, Cullen DJ, Powell LW. Effects of HFE gene mutations and alcohol on iron status, liver biochemistry and morbidity. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005;20:1435-41.
  68. Raszeja-Wyszomirska J, Kurzawski G, Zawada I, Suchy J, Lubinski J, Milkiewicz P. HFE gene mutations in patients with alcoholic liver disease. A prospective study from northwestern Poland. *Pol Arch Med Wewn.* 2010;120:127-31.
  69. Raynard B, Balian A, Fallik D, Capron F, Bedossa P, Chaput JC, et al. Risk factors of fibrosis in alcohol-induced liver disease. *Hepatology.* 2002;35:635-638.
  70. Ganne-Carrié N, Christidis C, Chastang C, Ziol M, Chapel F, Imbert-Bismut F, et al. Liver iron is predictive of death in alcoholic cirrhosis: a multivariate study of 229 consecutive patients with alcoholic and/or hepatitis C virus cirrhosis: a prospective follow up study. *Gut.* 2000;46:277-82.
  71. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Iron overload and cofactors with special reference to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance. *World J Gastroenterol.* 2007 21;13:4699-706.
  72. Purohit V, Russo D, Salin M. Role of iron in alcoholic liver disease: introduction and summary of the symposium. *Alcohol.* 2003 ;30:93-7.
  73. Deugnier Y, Turlin B, Loréal O. Iron and neoplasia. *J Hepatol.* 1998;28 Suppl 1:21-5.
  74. Abalea V, Cillard J, Dubos MP, Anger JP, Cillard P, Morel I. Iron-induced oxidative DNA damage and its repair in primary rat hepatocyte culture. *Carcinogenesis.* 1998;19:1053-9.
  75. Deugnier Y. Iron and liver cancer. *Alcohol.* 2003;30:145-50.
  76. Troadec MB, Courselaud B, Dévaud L, Haziza-Pigeon C, Leroyer P, Brissot P, et al. Iron overload promotes Cyclin D1 expression and alters cell cycle in mouse hepatocytes. *J Hepatol.* 2006;44:391-9.
  77. Scotet V, Mérour MC, Mercier AY, Chanu B, Le Faou T, Raguénes O, et al. Hereditary hemochromatosis: effect of excessive alcohol consumption on disease expression in patients homozygous for the C282Y mutation. *Am J Epidemiol.* 2003;158:129-34.
  78. Fargion S, Fracanzani AL, Piperno A, Braga M, D'Alba R, Ronchi G, et al. Prognostic factors for hepatocellular carcinoma in genetic hemochromatosis. *Hepatology.* 1994;20:1426-31.
  79. Adams PC, Agnew S. Alcoholism in hereditary hemochromatosis revisited: prevalence and clinical consequences among homozygous siblings. *Hepatology.* 1996;23:724-7.
  80. Fletcher LM, Dixon JL, Purdie DM, Powell LW, Crawford DH. Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology.* 2002;122:281-9.
  81. Pietrangelo A. Iron-induced oxidant stress in alcoholic liver fibrogenesis. *Alcohol.* 2003;30:121-9.
  82. Tavill AS, Qadri AM. Alcohol and iron. *Semin Liver Dis.* 2004;24:317-25.
  83. Tsukamoto H. Iron regulation of hepatic macrophage TNFalpha expression. *Free Radic Biol Med.* 2002;32:309-13.
  84. Xiong S, She H, Sung CK, Tsukamoto H. Iron-dependent activation of NF-kappaB in Kupffer cells: a priming mechanism for alcoholic liver disease. *Alcohol.* 2003;30:107-13.
  85. Tsukamoto H, Lin M, Ohata M, Giulivi C, French SW, Brittenham G. Iron primes hepatic macrophages for NF-kappaB activation in alcoholic liver injury. *Am J Physiol.* 1999;277(6 Pt 1):G1240-50.
  86. Xiong S, She H, Tsukamoto H. Signaling role of iron in NF-kappa B activation in hepatic macrophages. *Comp Hepatol.* 2004;3 Suppl 1:S36.
  87. Xiong S, She H, Zhang AS, Wang J, Mkrtychyan H, Dynnyk A, et al. Hepatic macrophage iron aggravates experimental alcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;295:G512-21.
  88. Tsukamoto H, Horne W, Kamimura S, Niemelä O, Parkkila S, Ylä-Herttuala S, et al. Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *J Clin Invest.* 1995;96:620-30.
  89. Bridle KR, Crawford DH, Ramm GA. Identification and characterization of the hepatic stellate cell transferrin receptor. *Am J Pathol.* 2003;162:1661-7.
  90. Ramm GA, Britton RS, O'Neill R. Identification and characterization of a receptor for tissue ferritin on activated rat lipocytes. *J Clin Invest.* 1994;94:9-15.
  91. Ramm GA, Crawford DH, Powell LW, Walker NI, Fletcher LM, Halliday JW. Hepatic stellate cell activation in genetic haemochromatosis. Lobular distribution, effect of increasing hepatic iron and response to phlebotomy. *J Hepatol.* 1997;26:584-92.
  92. Darnis F, Mossé A, Breaté C, Delorme ML. Aspects actuels du traitement des hémochromatoses (à propos de 100 observations). *Ann Med Interne.* 1971;122:1193-210.
  93. Grace ND, Greenberg MS. Phlebotomy in the treatment of iron overload: a controlled trial (a preliminary report). *Gastroenterology.* 1971; 60, 744.
  94. Powell LW: Changing concepts in haemochromatosis. *Postgrad Med J.* 1970;46:200-9.
  95. Shaw S, Jayatilleke E. The role of cellular oxidases and catalytic iron in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury. *Life Sci.* 1992;50:2045-52.
  96. Otagawa K, Ogawa T, Shiga R et al. Attenuation of acute and chronic liver injury in rats by iron-deficient diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008;294:R311-20.
  97. Kaji K, Yoshiji H, Kitade M et al. Combination treatment of angiotensin II type I receptor blocker and new oral iron chelator attenuates progression of nonalcoholic steatohepatitis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011;300:G1094-104.
  98. Costa-Matos L, Batista P, Monteiro N et al. Liver hepcidin mRNA expression is inappropriately low in alcoholic patients compared with healthy controls. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012;24:1158-65.