

ALCOL E ORMONI: DIFFERENZE DI GENERE

Carolina Ferranti, Luca Palleschi, Marco Famele, Carmelo Abenavoli, Rosa Draisci, Rosanna Mancinelli
Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Secondo il rapporto dell'Organizzazione Mondiale della Sanità pubblicato nel 2011, il consumo di alcol è responsabile di circa 2,5 milioni di decessi all'anno nel mondo. Le conseguenze negative dell'alcol non riguardano esclusivamente l'individuo ma a seguito degli alti costi necessari per il trattamento delle patologie alcol-indotte, quali ad esempio le pancreatiti, le malattie del fegato e le neoplasie, e dei danni dovuti ad incidenti e a comportamenti antisociali, le ripercussioni alcol-correlate incidono pesantemente sull'intera comunità (1). Nutt *et al.* nel 2010 (2) brillantemente dimostrarono con modelli matematici complessi che il danno sociale da alcol è di gran lunga superiore a quello dovuto a tutte le altre più diffuse sostanze d'abuso.

Fino a 20 anni fa, si riteneva che i problemi alcol-correlati fossero pressoché peculiari della popolazione maschile e che le donne ne fossero affette in misura molto limitata. In anni più recenti però i rapidi e globali cambiamenti sociali e di stili di vita hanno portato ad un uso sempre più ampio dell'alcol anche nella popolazione femminile e quindi allo sviluppo di nuove problematiche e alla necessità di affrontarle in un'ottica di genere.

Le ricerche condotte da vari autori concordano sull'evidenza di significative differenze di genere nei problemi alcol-correlati. Tali differenze sono correlate alle modalità d'uso di alcol, alla quantità di alcol consumato, al metabolismo dell'alcol, alle conseguenze fisiologiche e comportamentali, e ai meccanismi patogenetici molecolari sottostanti. Un tema di ricerca che negli ultimi anni sta presentando sviluppi significativi è la interazione alcol-ormoni in particolare ormoni sessuali. Ad esempio, il sesso maschile rappresenta di per sé un importante fattore di rischio di insorgenza della dipendenza da alcol proprio a causa del ruolo diretto rappresentato dal testosterone che è uno steroide androgeno anabolizzante che esercita effetti psicoattivi, tra i quali la ricompensa, l'euforia (3) e il comportamento aggressivo (4, 5). Gli ormoni sessuali steroidei si suddividono in ormoni androgeni, estrogeni e progestinici. Essi sono prodotti non solo nelle gonadi ma anche nella corteccia della ghiandola surrenale e nel tessuto placentare. La loro secrezione è regolata da parte di una gerarchia di ormoni ipotalamici e ipofisari. L'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH) è sintetizzato e rilasciato dai neuroni nell'ipotalamo. Il GnRH induce la secrezione dell'ormone luteinizzante (LH) e dell'ormone follicolo-stimolante (FSH) dalla ghiandola pituitaria anteriore. Questi due ormoni regolano i livelli di ormoni sessuali derivanti dal colesterolo e prodotti nei testicoli maschili, nelle ovaie femminili e in piccole quantità nelle ghiandole surrenali. Il testosterone è l'ormone sessuale maschile e ha proprietà anabolizzanti, quali la crescita del tessuto muscolare, delle ossa e dei peli del corpo. Il testosterone è ridotto a diidrotestosterone (DHT) che aumenta la sua affinità per il recettore degli androgeni. L'estrone e l'estradiolo influenzano le funzioni riproduttive e sessuali negli uomini e nelle donne. Il progesterone interviene principalmente regolando il ciclo mestruale e durante la gravidanza.

L'alcol interferisce con l'attività degli ormoni sessuali, promuovendo ad esempio l'aromatizzazione degli androgeni nel processo di biosintesi che conduce alla formazione degli estrogeni (6) e influenzando pertanto il rapporto androgeni/estrogeni. Per quanto riguarda i

progestinici, uno studio (7) ha evidenziato una correlazione tra gli effetti di intossicazione acuta da alcol e i livelli plasmatici di progesterone e allopregnanolone (un potente neurosteroido endogeno, metabolita del progesterone) negli adolescenti di sesso femminile, sia nella fase follicolare che luteale del ciclo mestruale. Poiché l'alcol e l'allopregnanolone modulano positivamente i recettori di tipo A per l'acido gamma-aminobutirrico (GABA-A), tali studi hanno attribuito all'allopregnanolone un importante ruolo negli effetti ansiolitici e gratificanti dell'alcol dovuto sia tramite azione diretta, sia tramite modifica della sensibilità dei recettori GABA-A all'alcol.

Effetti degli ormoni sessuali sullo sviluppo cerebrale

Gli ormoni sessuali esercitano sul cervello umano sia effetti permanenti (di tipo organizzativo) che transitori (di tipo attivazionale), per i quali il periodo sensibile dura tutta la vita. Durante lo sviluppo gli ormoni gonadici organizzano in modo permanente il differenziamento dei centri nervosi che controllano i comportamenti specifici di ciascun sesso (effetto organizzativo), mentre nell'adulto gli ormoni gonadici agiscono sui centri nervosi sessualmente dimorfici per attivare i comportamenti sessualmente specifici (effetto attivazionale) (8, 9). Ricerche recenti hanno proposto che la precoce esposizione agli ormoni sessuali inneschi neuro-adattamenti strutturali (di tipo organizzativo) che influenzano le risposte cellulari e comportamentali agli ormoni sessuali dell'adulto. Tali neuro-adattamenti si ritiene che giochino un ruolo fondamentale anche nella sensibilizzazione del sistema di ricompensa del cervello e quindi anche nelle proprietà di rinforzo dell'alcol e nella modulazione del comportamento di abuso alcolico. Una combinazione di esposizione prenatale a ormoni sessuali e alcol durante le prime fasi dello sviluppo può pertanto contribuire significativamente al rischio per il nascituro di sviluppare danni neuro-comportamentali e di incorrere nell'alcol-dipendenza nel corso della vita (10).

Il rapporto tra ormoni sessuali e il consumo alcolico è bidirezionale: i livelli degli ormoni sessuali influenzano l'assunzione volontaria di alcol e gli effetti correlati e, a sua volta, il consumo di alcol altera i livelli degli ormoni sessuali. Gli studi clinici per valutare la interrelazione tra ormoni sessuali e alcol devono essere interpretati con particolare attenzione, poiché entrano in gioco numerosi fattori quali l'età, il sesso e il grado di maturazione sessuale dei soggetti studiati, i ritmi circadiani e stagionali, la variabilità individuale. È stato osservato comunque che in studenti universitari maschi sani livelli di testosterone più elevati sono associati ad un aumento del consumo di alcol (11). I maschi con elevati livelli di testosterone hanno maggiore probabilità di ubriacarsi più frequentemente, di praticare il *binge drinking*, e di sviluppare dipendenza da alcol rispetto ai maschi con bassi livelli di testosterone (12-14). In passato, la maggior parte degli studi alcologici riguardava individui di sesso maschile, ma oggi sono in fase di sviluppo ricerche di genere che evidenziano l'elevata vulnerabilità della donna agli effetti dannosi dell'alcol. Nelle donne, infatti, si riscontra maggiore suscettibilità allo sviluppo di patologie alcol-correlate tra le quali anche quelle di interesse endocrinologo (sindrome di Cushing), quelle legate all'apparato riproduttivo come ritardo del menarca, irregolarità mestruali, riduzione della fertilità dovuta anche ad anovulazione, disfunzioni della fase luteinica, amenorrea, e menopausa precoce, alterato metabolismo osseo (osteoporosi), e insorgenza di tumori in particolare di carcinoma mammario. Le modificazioni dell'assetto ormonale dovute all'esposizione ad alcol sembrano avere un ruolo significativo nello sviluppo di tali patologie.

Effetti dell'alcol sugli ormoni sessuali nella donna

Lo studio degli effetti dell'alcol sui livelli degli ormoni sessuali nella donna è fortemente complicato dalle variazioni fisiologiche di tali ormoni che sono legate alle fasi del ciclo vitale della donna (prima del menarca, in età fertile e dopo la menopausa) nonché alle fasi del ciclo mestruale. Il quadro ormonale è poi ulteriormente condizionato dall'assunzione per via orale o trans-dermica di contraccettivi e dall'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva in donne dopo la menopausa. Per questo motivo, i risultati delle ricerche volte a valutare le correlazioni tra consumo di alcol e livelli degli ormoni androgeni, estrogeni e progestinici risultano spesso difficilmente comparabili. Tale fenomeno è da imputarsi non solo ai fattori di cui sopra ma anche a tutta una serie di condizioni di cui occorre tenere conto, tra i quali risulta fondamentale la conoscenza dell'eventuale esposizione dei soggetti studiati ad altre sostanze chimiche, lo stile di vita, e modalità e durata di esposizione alcolica.

Le ricerche sperimentali evidenziano che l'alcol induce un incremento della concentrazione plasmatica di estradiolo sia in donne in età fertile (15-17) che in donne dopo la menopausa sottoposte a terapia ormonale sostitutiva (18). Questo fenomeno si accompagna ad un decremento dei livelli plasmatici di estrone (18). Gli stessi autori attribuiscono l'innalzamento dei livelli plasmatici di estradiolo al processo di degradazione enzimatica dell'alcol nel fegato, che determina un cambiamento nel rapporto tra le due forme del coenzima nicotinammide adenin dinucleotide (NAD) con aumento della forma ridotta NADH (19). Tale sbilanciamento rallenta la conversione dell'estradiolo ad estrone, con conseguente accumulo nel plasma dell'estradiolo. Conclusioni simili sono state raggiunte da altri autori (20) che hanno evidenziato in donne in età fertile un'associazione positiva tra il consumo moderato di alcol e i livelli plasmatici di estradiolo, estrone e deidroepiandrosterone solfato. L'aumento dei livelli plasmatici di estradiolo è stato inoltre evidenziato in uno studio condotto su donne in età fertile che assumevano contraccettivi per via orale (21, 22); gli stessi autori hanno ipotizzato l'azione dell'enzima 17 β -idrossisteroide-deidrogenasi tipo 2, indotto dai progestinici sintetici contenuti in alcuni contraccettivi orali. Altri autori (23) non hanno al contrario evidenziato alcuna correlazione tra esposizione ad alcol e livelli plasmatici di estrogeni. Katsouyanni *et al.* 1991, Hankinson *et al.* 1995 e Nagata *et al.* 1997 (24, 25, 26) hanno evidenziato in donne dopo la menopausa un'associazione positiva tra consumo moderato di alcol ed estrogeni (estradiolo, estrone) e un rapporto estradiolo/testosterone più elevato rispetto a donne non bevitrici. L'ipotesi è che questo effetto sia dovuto all'aumento della velocità di aromatizzazione del testosterone indotta dall'etanolo. Altri autori (18) al contrario non riportano cambiamenti significati nei livelli plasmatici dell'estradiolo in donne bevitrici in età post-menopausa. Purohit *et al.* 1998 (27), valutano l'incongruenza dei risultati ottenuti dagli studi riportati in letteratura, mettendo in luce alcuni punti critici che possono esserne la causa quali il tipo di bevanda somministrata (vino, birra, liquori), il tipo di esposizione e i protocolli sperimentali. Studi più recenti (28) hanno evidenziato in donne in età fertile e dopo la menopausa un'associazione positiva tra consumo di alcol e livelli sierici di androgeni sia di origine surrenale (deidroepiandrosterone solfato, androstenedione e testosterone) che di origine ovarica (androstenedione e testosterone) suggerendo un'azione dell'alcol sulla genesi degli steroidi in entrambi i tipi di ghiandola. La concentrazione delle globuline leganti gli ormoni sessuali (SHBG) è risultata inversamente associata al consumo di alcol solo nelle donne dopo la menopausa. Non è stata rilevata alcuna correlazione tra estradiolo e consumo di alcol in entrambe le popolazioni studiate. Gli autori suggeriscono quale possibile motivazione per la mancata rilevazione dell'associazione tra estradiolo e consumo di alcol, l'effettuazione della misurazione dei livelli di estradiolo in un solo ciclo mestruale.

Anche gli studi osservazionali relativi all'effetto dell'alcol sugli ormoni androgeni in donne in età fertile hanno portato a risultati diversi: infatti alcuni hanno evidenziato una correlazione positiva tra la concentrazione di testosterone e testosterone libero (29), androstenedione, DHEA e DHEAs (23), SHBG (30) e livelli di estrogeni (23, 31, 32), mentre altri autori non hanno evidenziato le medesime associazioni. Analogamente e in maniera più pronunciata in donne dopo la menopausa, non sottoposte a cure ormonali, gli studi osservazionali hanno mostrato risultati non concordi relativamente all'effetto dell'alcol sugli ormoni androgeni: infatti alcuni studi evidenziano un'associazione positiva tra testosterone, DHEAs e SHBG e consumo di alcol (26, 33), altri mostrano un'associazione negativa (34, 35), o nessuna associazione (30, 36).

In merito all'effetto dell'assetto ormonale sulla propensione al consumo di alcol è stato osservato che livelli più elevati sia di testosterone che di estradiolo sono associati a una maggiore probabilità di uso di alcol sia in donne adolescenti, che in età fertile e dopo la menopausa (27, 32, 37). Analogamente, l'uso prolungato (5 anni) di contraccettivi orali è legato ad un aumentato consumo di alcol (38). Per le donne con cicli mestruali regolari che sono "bevitrice sociali" è riportata una maggiore frequenza di assunzione solitaria di alcol durante il ciclo mestruale. Tale relazione non è tuttavia stata riscontrata nelle donne che assumono contraccettivi orali (39).

Gli studi sugli animali mostrano inoltre che gli ormoni sessuali influenzano il comportamento alcol-correlato in modi diversi e in particolare gli androgeni e gli estrogeni determinano la preferenza per l'uso di alcol inducendo tolleranza e sensibilizzazione. Di contro, l'alcol influenza l'attività degli ormoni sessuali e quindi di nuovo anche il comportamento nel bere in una relazione bidirezionale e "circolare" tra ormoni sessuali e alcol.

Alcol e tumore del seno: il ruolo degli estrogeni

L'associazione tra alcol e tumore del seno fu ipotizzata per la prima volta negli anni '80 del secolo scorso con studi caso-controllo ed è stata poi confermata da numerosi studi epidemiologici negli anni successivi.

Nel "Million Women Study" (40) venne accertato il nesso di causalità alcol/tumore del seno e studi diversi forniscono evidenza di una positiva relazione dose-rischio tra aumento di consumo alcolico e aumentato rischio di cancro del seno anche se i meccanismi responsabili di questo effetto non sono ancora completamente chiariti (41).

Alcuni particolari aspetti di questa relazione tra cui gli effetti del bere moderato (un drink al giorno) e il rischio legato allo status dei recettori degli estrogeni e del progesterone, non sono stati ancora sufficientemente studiati.

Si sa che l'uso di alcol induce innalzamento dei livelli sierici di estrogeni, e poiché questi ormoni hanno effetto oncogeno sul tessuto mammario si ipotizza che anche l'effetto oncogeno dell'alcol sia mediato proprio dagli estrogeni (42) insieme ad altri fattori di rischio alcol-correlati quali l'aumento dell'acetaldeide e dello stress ossidativo.

Sin dagli anni '90 studi di sperimentazione animale hanno dimostrato che l'esposizione a lungo termine ad estrogeni aumenta il rischio di sviluppare tumore del seno, anche se non è ancora del tutto chiarito attraverso quali meccanismi ciò avvenga. Un'ipotesi ben supportata è che il legame degli estrogeni al loro recettore nucleare alfa (*Estrogen Receptor alfa*, ER α) dia l'avvio ad una complessa serie di segnali intracellulari che stimolano la proliferazione cellulare (43). Come già detto, l'alcol aumenta i livelli plasmatici di estrogeni e in donne in età fertile si è osservato significativo aumento dei livelli di estradiolo non solo a seguito del consumo di alte dosi corrispondenti a tre unità alcoliche, ma anche a dosi moderate corrispondenti ad una sola unità alcolica cioè circa 12 grammi di alcol puro (44). Ad alte dosi, l'effetto risulta più marcato

durante la fase ovulatoria e nelle donne che usano contraccettivi orali. A dosi moderate, l'innalzamento si osserva in tutte le fasi del ciclo ma soprattutto a metà ciclo quando l'estradiolo è già alto e, a causa dell'etanolo, aumenta ulteriormente di oltre il 30% (45).

Recentemente la ricerca della *Washington University School of Medicine* di St. Luis e della *Harvard University* pubblicata su *Pediatrics*, ha preso in esame i dati di circa 7.000 ragazze (9-15 anni d'età), residenti negli USA e seguite dal 1996 al 2007. Le giovani che dichiaravano di bere alcol tutti i giorni mostravano una frequenza di lesioni benigne al seno 5,5 volte più alta di quelle astemie o che bevevano solo una volta alla settimana. Che l'alcol sia un fattore di rischio nelle donne adulte era già noto, ma molte iniziano a bere già in adolescenza, proprio quando il tessuto del seno è in rapida formazione. I risultati hanno confermato che l'alcol può essere un fattore di rischio di sviluppare lesioni benigne del seno anche a questa età (46).

Sono stati ipotizzati meccanismi diversi attraverso i quali l'etanolo modula i livelli di estrogeni. Una ipotesi è che l'aumento dello stress ossidativo epatico alcol-indotto generi diminuzione del metabolismo degli steroidi. Un'altra è che l'aumento degli estrogeni sia dovuto al fatto che l'alcol aumenta l'attività della aromatasi che converte il testosterone ad estrogeni con conseguente diminuzione del testosterone e aumento degli estrogeni. Inoltre l'alcol inibisce l'attività degli enzimi sulfotransferasi e 2-idrossilasi responsabili del catabolismo degli estrogeni, e diminuisce la melatonina che inibisce la produzione di estrogeni. Di fatto, l'aumento dei livelli di estrogeni indotto dal consumo alcolico non solo aumenta significativamente il rischio di tumore del seno, ma può almeno in parte spiegare la maggiore suscettibilità delle donne alle patologie epatiche alcol-correlate. Infatti, gli estrogeni inducono danno epatico mitocondriale e quindi steatosi, apoptosi e aumento dello stress ossidativo (47).

Metodi analitici per la determinazione e lo studio degli ormoni steroidei

I metodi di analisi utilizzati per la ricerca degli ormoni sessuali nei fluidi biologici sono basati essenzialmente su tecniche di screening, quali i saggi immunometrici *ImmunoAssay* (IA), *RadioImmunoAssay* (RIA), *Enzyme ImmunoAssay* (EIA) ed *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA). I vantaggi dell'impiego di tali metodi sono da ricondurre alla loro praticabilità, intesa come elevata efficienza analitica ed elevato numero di campioni analizzabili nell'unità di tempo, e di conseguenza alla rapidità, alla buona sensibilità e alla capacità di evidenziare classi di sostanze. Le principali limitazioni sono rappresentate dall'approssimazione delle informazioni che richiedono la conferma con metodi di livello superiore, dalla possibilità di avere risultati falsi positivi o falsi negativi e dalle possibili interferenze dovute alla matrice biologica. La standardizzazione e la validazione di tali dosaggi utilizzati dai laboratori ai fini della determinazione degli ormoni steroidei sessuali, rappresentano fasi necessarie per garantire l'affidabilità dei risultati, la possibilità di correlazioni e, in ultima analisi, per tutelare la salute pubblica.

Ad oggi infatti i dosaggi degli steroidi sessuali sono tutt'altro che standardizzati, con importanti variabilità intra- e soprattutto inter-laboratorio, fra diversi kit in commercio e fra diversi lotti dello stesso tipo di kit. Molti test inoltre sono tarati per evidenziare condizioni patologiche, mentre lo studio della correlazione tra consumo di alcol e ormoni si gioca all'interno dell'intervallo di normalità apparente, ove la sensibilità dei sistemi commerciali per discriminare ad esempio fra donne ad alto e a basso rischio, può essere molto modesta. Fino a quando non saranno disponibili test validati sui livelli attualmente considerati normali,

l'interpretazione dei risultati sarà molto delicata e richiederà controlli di qualità più stringenti e ulteriori, progressivi aggiustamenti delle soglie di attenzione.

Conclusioni

La relazione bidirezionale e “circolare” tra ormoni sessuali e alcol indica che il ruolo degli ormoni sessuali può cambiare durante il corso della esposizione ad alcol. L'intricata interazione di testosterone, estradiolo e progesterone complica ulteriormente la previsione di come i profili endocrini possano agire sui comportamenti assuntivi. Sicuramente la conoscenza di questi processi richiederà ulteriori studi sul ruolo degli ormoni sessuali nell'influenzare il comportamento alcolico a partire dalla propensione ad iniziare e mantenere l'uso di alcol, la reazione all'astinenza, l'esito dell'eventuale trattamento in caso di abuso e la probabilità di ricaduta. Lo studio dei profili ormonali risulta particolarmente complesso per la donna che è già fisiologicamente sottoposta a profondi mutamenti ormonali legati alle fasi del suo ciclo vitale (prima del menarca, in età fertile, in gravidanza e dopo la menopausa) nonché alle fasi del ciclo mestruale. È comunque accertato che l'uso di alcol costituisce per la donna un significativo fattore di rischio per molte patologie e in particolare per il tumore del seno verso il quale è stato accertato il nesso di causalità. Già da ora, infatti, i dati disponibili ci permettono di affermare che, diversamente da altri organi, la carcinogenesi del tessuto mammario è stimolata dall'etanolo già a livelli di consumo molto bassi che non sembrano invece avere effetto su altri tessuti. Il/i meccanismi potrebbero essere tessuto-specifici e legati agli estrogeni poiché anche basse concentrazioni di alcol nel sangue aumentano significativamente gli estrogeni circolanti. Si auspica che nuove ricerche sperimentali possano aumentare le attuali conoscenze su alcol e ormoni anche grazie al supporto di innovative e sempre più avanzate metodologie analitiche. Per quanto si conosce ad oggi, ai fini di una efficace prevenzione è raccomandabile che le donne in buona salute limitino il consumo giornaliero a non più di una unità alcolica equivalente a circa 12 g di alcol puro. Le donne a rischio di tumore del seno per familiarità e altre cause fisiche e/o ambientali, dovrebbero consumare ancora meno o evitare del tutto le bevande alcoliche.

Bibliografia

1. World Health Organization. *Global status report on alcohol and health*. Geneva: WHO; 2011. Disponibile all'indirizzo: http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbgsruprofiles.pdf, ultima consultazione 26/6/2013.
2. Nutt DJ, King LA, Phillips LD; Independent Scientific Committee on Drugs. Drug harms in the UK: a multicriteria decision analysis. *Lancet* 2010;376(9752):1558-65.
3. Kashkin KB, Kleber HD. Hooked on hormones? An anabolic steroid addiction hypothesis. *JAMA* 1989;262:3166-70.
4. Kouri EM, Lukas SE, Pope Jr HG, Oliva PS. Increased aggressive responding in male volunteers following the administration of gradually increasing doses of testosterone cypionate. *Drug Alcohol Depend* 1995;40:73-9.
5. Pope Jr HG, Kouri EM, Hudson JI. Effects of supraphysiologic doses of testosterone on mood and aggression in normal men: a randomized controller trial. *Arch Gen Psychiatry* 2000;57:133-40 discussion 155-6.
6. Purohit V. Can alcohol promote aromatization of androgens to estrogens? A review. *Alcohol* 2000;22:123-7.

7. Torres JM, Ortega E. Alcohol intoxication increases allopregnanolone levels in female adolescent humans. *Neuropsychopharmacology* 2003;28(6):1207-9.
8. Sisk CL, Zehr JL. Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Front Neuroendocrinol* 2005;26:163-74.
9. Arnold AP. The organizational-activational hypothesis as the foundation for a unified theory of sexual differentiation of all mammalian tissues. *Horm. Behav* 2009;55:570-8.
10. Weinberg J, Sliwowska JH, Lan N, Hellemans KGC. Prenatal alcohol exposure: foetal programming, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and sex differences in outcome. *J Neuroendocrinol* 2008;20:70-88.
11. La Grange L, Jones TD, Erb L, Reyes E. Alcohol consumption: biochemical and personality correlates in a college student population. *Addict Behav* 1995;20:93-103.
12. Eriksson CJP, Kaprio J, Pulkkinen L, Rose RJ. Testosterone and alcohol use among adolescent male twins: testing between-family associations in within family comparisons. *Behav Gen* 2005;35:359-68.
13. Suzuki R, Allen NE, Appleby PN, Key TJ, Dossus L, Tjønneland A, Føns Johnsen N, Overvad K, Sacerdote C, Palli D, Krogh V, Tumino R, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Trichopoulou A, Makrygiannis G, Misirli G, Buenode-Mesquita HB, May AM, Di'az MJ, Sa' nchez MJ, Barricarte Gurrea A, Rodri'guez Sua' rez L, Buckland G, Larrañaga N, Bingham S, Khaw KT, Rinaldi S, Slimani N, Jenab M, Riboli E, Kaaks R. Lifestyle factors and serum androgens among 636 middle aged men from seven countries in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Cancer Cause Control* 2009;20:811-21.
14. Lenz B, Muller CP, Stoessel C, Sperling W, Biermann T, Hillemacher T, Bleich S, Kornhuber J. Sex hormone activity in alcohol addiction: Integrating organizational and activational effects. *Prog Neurobiol* 2012;96:136-63.
15. Mendelson JH, Mello NK, Cristofaro P, Ellingboe J, Skupny A, Palmieri SL, Benedikt R, Schiff I. Alcohol effects on naxolone-stimulated luteinizing hormone, prolactin and estradiol in women. *J Stud Alcohol* 1987;48:287-94
16. Mendelson JH, Lukas SE, Mello NK, Amass L, Ellingboe J, Skupny A. Acute alcohol effects on plasma estradiol levels in women. *Psychopharmacology* 1988;94:464-7.
17. Mendelson JH, Mello NK, Teoh SK, Ellingboe J. Alcohol effects on luteinizing hormone releasing hormone-stimulated anterior pituitary and gonadal hormones in women. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;250:902-9.
18. Ginsburg ES, Mello NK, Mendelson JH, Barbeiri RL, Teoh SK, Rothman M, Gao X, Sholar JW. Effect of alcohol ingestion on estrogens in postmenopausal women. *JAMA* 1996;276:1747-51.
19. Lieber CS. Metabolism of alcohol. *Clin Liver Dis* 2005;9(1):1-35.
20. Reichman ME, Judd JT, Longcope C, Schatzkin A, Clevidence BA, Nair PP, Campbell WS, Taylor PR. Effects of moderate alcohol consumption on plasma urinary hormone concentrations in premenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute* 1993;85:722-7
21. Sarkola T, Mäkisalo H, Fukunaga T, Eriksson CJP. Acute effect of alcohol on estradiol, estrone, prolactin, cortisol and luteinizing hormone in premenopausal women. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:976-82.
22. Sarkola T. *Effect of alcohol on hormones in women*. Helsinki: University of Helsinki; 2001. [academic dissertation]
23. Dorgan JF, Reichman ME, Judd JT, Brown C, Longcope C, Schatzkin A, Campbell WS, Franz C, Khale L, Taylor PR. The relation of reported alcohol ingestion to plasma levels of oestrogens and androgens in premenopausal women. *Cancer Causes and Control* 1994;5:53-60.
24. Katsouyanni K, Boyle P, Trichopoulos D. Diet and urine estrogens among post-menopausal women. *Oncology* 1991;48:490-4

25. Hankinson SE, Willet WC, Manson JE, Hunter DJ, Colditz GA, Stampfer MJ, Longcope C, Speizer FE. Alcohol, height and adiposity in relation to estrogen and prolactin levels in postmenopausal women. *JNCI* 1995;87:1297-302.
26. Nagata C, Kabuto M, Takatsuka N, Shimizu H. Associations of alcohol, height and reproductive factors with serum hormone concentrations in postmenopausal Japanese women. *Breast Cancer Research and Treatment* 1997;44:235-41
27. Purohit V. Moderate alcohol consumption and estrogen levels in postmenopausal women: a review. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:994-7.
28. Rinaldi S, Peeters PH, Bezemer ID, Dossus L, Biessy C, Sacerdote C, Berrino F, Panico S, Palli D, Tumino R, Khaw KT, Bingham S, Allen NE, Key T, Jensen MK, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Amiano P, Ardanaz E, Agudo A, Martínez-García C, Quirós JR, Tormo MJ, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Schulz M, Grobbee DE, Bueno-de-Mesquita HB, Koliva M, Kyriazi G, Thrichopoulou A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Ferrari P, Slimani N, Saracci R, Riboli E, Kaaks R. Relationship of alcohol intake and sex steroid concentrations in blood in pre- and post-menopausal women: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Causes Control* 2006;17(8):1033-43.
29. Cigolini M, Targher G., Bergamo Andreis IA, Tonoli M., Filippi F, Muggeo M, De Sandre G. Moderate alcohol consumption and its relation to visceral fat and plasma androgens in healthy women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:206-12.
30. Verkasalo PK, Thomas HV, Appley PN, Davey GK, Key TJ. Circulating levels of sex hormones and their relation to risk factors for breast cancer: a cross-sectional study in 1092 pre and postmenopausal women (United Kingdom). *Cancer Cause Control* 2001;12:47-59.
31. Garcia-Closas M., Herbstam J, Schiffman M, Glass A, Dorgan JF. Relationship between serum hormone concentrations, reproductive history, alcohol consumption and genetic polymorphisms in pre-menopausal women. *Int J Cancer* 2002;102:171-8.
32. Muti P, Trevisan M, Micheli A, Krogh V, Bolelli G, Sciajno R, Schünemann HJ, Berrino F. Alcohol consumption and total estradiol in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:189-93.
33. Madigan MP, Troisi R, Potishman N, Dorgan JF, Brinton LA, Hoover RN. Serum hormone levels in relation to reproductive and lifestyle factors in postmenopausal women (United States). *Cancer Cause Control* 1998;9:199-207.
34. Wu F, Ames R, Evans MC, France JT, Reid IR. Determinants of sex hormone-binding globulin in normal postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;54:81-97.
35. Cauley JA, Gutai JP, Kuller LH, Le Donne D, Powell JG. The epidemiological of serum hormones in post menopausal women. *Am J Epidemiol* 1989;129:1120-31.
36. Onland-Moret NC, Peeters PH, Van der Schouw YT, Grobbee DE, van Gils CH. Alcohol and endogenous sex steroid levels in postmenopausal women: a cross-sectional study. *J. Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1414-9.
37. Martin CA, Mainous AG, Curry T, Martin D. Alcohol use in adolescent females: correlates with estradiol and testosterone. *Am J Addict* 1999;8:9-14.
38. Lund E, Jacobsen BK. Use of oral contraceptives in relation to dietary habits and alcohol consumption. *Contraception* 1990;42:171-7.
39. Sutker PB, Libet JM, Allain AN, Randall CL. Alcohol use, negative mood states, and menstrual cycle phases. *Alcohol Clin Exp Res* 1983;7:327-31.
40. Allen NE, Beral V, Casabonne D, Kan SW, Reeves GK, Brown A, Green J. million women study collaborators. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(5):296-305.

41. Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, La Vecchia C. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol Alcohol* 2012;47(3):204-12.
42. Fernandez SV. Estrogen, alcohol consumption, and breast cancer. *Alcohol Clin Exp Res* 2011;35(3):389-91.
43. Zhang Q, Jin J, Zhong Q, Xiaoli Yu, Levy D, Zhong S. ER α mediates alcohol-induced deregulation of Pol III genes in breast cancer cells. *Carcinogenesis* 2013;34(1):28-37.
44. Seitz HK, Maurer B. The relationship between alcohol metabolism, estrogen levels, and breast cancer risk. *Alcohol Res Health* 2007;30(1):42-3.
45. Coutelle C, Höhn B, Benesova M, Oneta CM, Quattrochi P, Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Schneeweiss A, Bastert G, Seitz HK. Risk factors in alcohol associated breast cancer: alcohol dehydrogenase polymorphism and estrogens. *Int J Oncol*. 2004;25(4):1127-32.
46. Berkey CS, Willett WC, Frazier AL, Rosner B, Tamimi RM, Rockett HR, Colditz GA. Prospective study of adolescent alcohol consumption and risk of benign breast disease in young women. *Pediatrics* 2010;125(5):1081-7.
47. Eagon PK. Alcoholic liver injury: influence of gender and hormones. *World J Gastroenterol* 2010;16(11):1377-84.