

## DEFICIÊNCIA DE COBRE

Olga Maria Silvério AMANCIO<sup>1</sup>  
Maria Odete Esteves HILÁRIO<sup>1</sup>

### RESUMO

Tendo em vista que o cobre participa como co-fator em várias reações enzimáticas, a sua deficiência acarreta diferentes quadros patológicos que foram bem demonstrados em estudos experimentais em animais e no homem.

**Termos de indexação:** cobre, deficiência.

### 1. INTRODUÇÃO

O estudo do cobre data de 1816 quando BUCHOLZ (8) constatou ser este um dos componentes dos tecidos vegetais e animais, porém, a prova de sua essencialidade como nutriente foi dada em 1928 quando se demonstrou que ratos desmamados e alimentados exclusivamente com dieta láctea tornavam-se anêmicos e não reagiam à administração terapêutica de ferro se não recebessem cobre concomitantemente HART et al., (37). Outros estudos sobre esse assunto foram realizados tanto em animais quanto em seres humanos, havendo a partir de então crescente interesse sobre o estudo do cobre.

### 2. FUNÇÕES DO COBRE E DAS PROTEÍNAS CÚPRICAS

O estudo do cobre, principalmente a partir da deficiência imposta a animais, revelou que este elemento é parte essencial de várias enzimas agindo como catalisador de reações metabólicas. A seguir, são apresentadas as principais cuproenzimas e sua participação metabólica, segundo CASTILLO DURÁN et al. (15)

---

(1) Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Escola Paulista de Medicina, Rua Botucatu, 703, 04023 São Paulo, SP

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

Principais Cuproenzimas	Participação Metabólica
1. Ferroxidase I (Ceruloplasmina)	Oxidação do ferro e transporte plasmático de cobre
2. Superóxido dismutase	Detoxificação celular de radicais superóxidos
3. Lisil-oxidase	Estabilização de fibras colágenas e elásticas
4. Citocromo C oxidase	Fosforilação oxidativa
5. Tirosinase	Formação de melanina
6. Dopamina B-hidroxiase	Formação de epinefrina
7. Monoamino-oxidase	Deaminação de norepinefrina, histamina e serotonina
8. Uricase	Oxidação do ácido úrico
9. Triptofano 2, 3, dioxigenase	Metabolismo do triptofano

### 3. DEFICIÊNCIA DE COBRE

#### 3.1 Em animais

A ceruloplasmina é uma proteína, com atividade oxidase sobre diaminas aromáticas (HOLMBERG & LAURELL 41) e sobre animais de grande importância fisiológica como a adrenalina e a noradrenalina (OSTERBERG, 76). Não se sabe, entretanto, se a oxidase está relacionada a alguma função. Por outro lado, relatou-se atividade ferroxidase (CURZON, 18), e a partir daí vários estudos foram realizados (EVANS, 24; FRIEDEN, 29; OSAKI et al., 75), demonstrando que a ceruloplasmina é necessária para a mobilização de ferro, constituindo a ligação entre o metabolismo de ferro e cobre. Esta afirmação é baseada nas seguintes observações: na ausência de ceruloplasmina a velocidade de oxidação de Fe (II) a Fe (III) é inadequada para a formação de transferrina necessária; a presença de ceruloplasmina promove rápido efluxo de ferro do sistema retículo-endotelial. Esta última observação foi também relatada em estudo realizado em porcos deficientes em cobre, mostrando que a liberação de ferro a partir deste sistema encontrava-se diminuída (RAGAN et al., 82). Outra função atribuída à ceruloplasmina é o fornecimento de cobre para a biossíntese de superóxido dismutase e citocromo C oxidase (MARCEAU & ASPIN, 62).

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

A essencialidade do cobre na eritropoiese para a maioria, se não todas as espécies de mamíferos, está bem estabelecida (LEE et al., 56; MARSTON et al., 63). Sabe-se que o cobre se encontra no eritrócito sob duas formas distintas: ligado a uma proteína, a eritrocupreína (KIMMEL et al., 52), e livre, cuja concentração parece não ser influenciada pelas concentrações séricas de cobre total e ceruloplasmina (DREOSTI & QUICK, 22; EVANS, 24; SHIELDS et al., 87). Observou-se que o nível reduzido de cobre nas células vermelhas causa diminuição do tempo de vida dessas células na circulação (BUSH et al., 10). Entretanto, pouco se sabe da maneira pela qual o cobre age na eritropoiese. Parece que a relação entre a dinâmica do metabolismo do cobre e a atividade eritropoiética se faz a partir da distribuição intracelular do cobre, isto é, o cobre ligado à ceruloplasmina e à albumina séricas é doado para a biossíntese de citocromo C oxidase (HOLMBERG & LAURELL, 41). Por outro lado, foi demonstrado recentemente o papel de citocromo C oxidase mitocondrial no metabolismo do ferro. Assim é que a velocidade de liberação do Fe (III) da transferrina, sua apreensão pelos reticulócitos, a redução do Fe (III) e a incorporação do Fe (II) resultante no heme, dependem do sistema de transporte de elétrons (BARNES & JONES, 5; BARNES et al., 6; MORGAN & BAKER, 69). Na mitocôndria deficiente em citocromo C oxidase, o que ocorre na deficiência do cobre (BALEVSKA et al., 4), a síntese do heme a partir de Fe (III) fica impedida, estando pois a sua velocidade relacionada com a atividade da enzima, sugerindo que os elétrons são doados ao Fe (III) diretamente dessa enzima (WILLIAMS et al., 97).

No estudo da eficiência de cobre em ratas gestantes e seus recém-nascidos foi observado que a anemia foi mais grave nos machos, nos animais mais jovens e quando se associou deficiência moderada de ferro à dieta (COHEN et al., 16), confirmando estudo anterior (WEISENBERG et al., 95). Segundo os autores, o sexo, a idade de início da deficiência de cobre e o nível de ferro da dieta são fatores que interferem no metabolismo do ferro no rato com deficiência de cobre, e poderiam explicar os diferentes resultados obtidos nos vários estudos. Por outro lado, se fosse possível determinar, durante a instalação da deficiência de cobre, o momento exato em que começam as alterações no metabolismo do ferro, o mecanismo envolvido talvez pudesse ser explicado.

Sua participação no metabolismo energético fica clara quando é relatada a atividade diminuída, em animais carentes em cobre (GLUBER et al., 32; HOLTZMAN & GAUMNITZ, 42), da enzima citocromo C oxidase da qual o cobre é componente (KEYHANI, 51; LINDSAY et al., 58).

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

Nas carências de cobre experimentalmente induzidas em galinhas (HARRIS et al., 38; RUCKER et al., 85), porcos (GANEZER et al., 31; MECHAN & FOSTER, 66) e ratos (KENNETH & KLEVAY, 50; OWEN Jr., 77), observou-se síntese incompleta de elastina, com os riscos daí decorrentes de ruptura da aorta. Estes trabalhos mostraram que o cobre é necessário à manutenção da atividade normal da lisil-oxidase, uma monoamino-oxidase e que ao diminuir sua atividade os resíduos de lisina não são transformados em desmosina, que constitui as ligações estruturais transversais da elastina. Foi demonstrado que o cobre e a lisil-oxidase desempenham papel semelhante na catálise das ligações transversais do colágeno, por meio de estudo realizado em animais (GRAHAM, 34; RUCKER & O'DELL, 84). Dessa forma, fica patente o importante papel do cobre no metabolismo do tecido conectivo (KITANO, 53; MILLS et al., 68).

A tirosinase é uma proteína cúprica (ADELSTEIN & VALLEE, 1) que catalisa a hidroxilação da tirosina formando 3,4 - dihidroxifenilalamina (dopa) que é subsequenteamente convertida em melanina (BURCH et al., 9). A partir desse fato fica compreensível que o processo de pigmentação da pele seja sensível a mudanças da situação do cobre, a tal ponto que faixas alternadas de fibras pigmentadas e despigmentadas podem ser produzidas, em carneiros, alternando-se a adição e a retirada de cobre da dieta (CARTWRIGHT & WINTROBE, 12). Entretanto, o exato mecanismo que envolve o cobre nesse processo é desconhecido. Possivelmente, a depressão da atividade da tirosinase, em consequência da deficiência cúprica, seja responsável pela falha na formação da melanina (HSU, 45).

Estudos da deficiência de cobre em ratos (GALLAGHER & REEVE, 30), em cobaias (EVERSON et al., 26) e em cordeiros (O'DELL et al., 74; THERIAULT et al., 93), têm mostrado síntese diminuída de fosfolipídeos pela mitocôndria hepática, redução acentuada de mielinização em todo o cérebro, diminuição do fósforo total na fração lipídica e alteração na distribuição de fosfolipídeos cerebrais, produtos de degeneração de mielina em quantidades crescentes a partir do nascimento. A importância do cobre para a mielinização é bem conhecida (ZIMMERMAN, 99), mas o mecanismo pelo qual atua no metabolismo de formação e destruição da mielina não está bem estabelecido. Poderia estar relacionado com o decréscimo de oxigênio e nutrientes para as células nervosas decorrentes de alterações vasculares, que se sabem ocorrer na deficiência de cobre (DANKS et al., 19), com diminuição da atividade de citocromo-oxidase em áreas do encéfalo (HOWELL & DAVISON, 44), ou ainda

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

com a falta de mielinização resultante ou de demielinização ou de falha na síntese (O'DELL et al., 74).

Foram observadas modificações ósseas representadas por deformações das extremidades com curvaturas e fraturas espontâneas em cachorros (BAXTER et al., 7), porcos (FOLLIS Jr. et al., 28), carneiros (SUTTLE et al., 92), galinhas (CARLTON & HENDERSON, 11) e bezeros (SUTTLE & ANGUS, 91), deficientes em cobre. Adelgaçamento do córtex e formação óssea diminuída na matriz cartilaginosa calcificada na presença de crescimento normal de cartilagem levaram estes autores à conclusão que a atividade funcional dos osteoblastos está impedida nesses animais. A anormalidade óssea básica é similar à vista no raquitismo (JONSSON et al., 49) e no escorbuto sem, contudo, apresentar o componente hemorrágico (CORDANO et al., 17). Tal situação pode ocorrer por depressão da atividade da enzima ácido ascórbico-oxidase, da qual o cobre é componente (O'DELL, 72), que oxida seu substrato à forma deidro fisiologicamente ativa, produzindo calcificação de hematomas subperiostais e reversão das anormalidades ósseas (AL-RASHID & SPANGLER, 2) e/ou depressão da atividade da enzima lisil-oxidase o que impede a síntese correta de colágeno no osso (O'DELL, 72).

Entre os processos biológicos nos quais o cobre é um metal essencial está a resposta imune. Estudos em animais com deficiência de cobre mostram diminuição da atividade bactericida e comprometimento da função dos neutrófilos (JONES & SUTTLE, 48). Comprometimento da imunidade humoral (PROHASKA & LUKASEWYCZ, 79) e celular (LUKASEWYCZ & PROHASKA, 59) foi observado em camundongos com deficiência de cobre. Em trabalho mais recente (LUKASEWYCZ et al., 60), foi encontrado aumento do número absoluto e do percentual de células B, diminuição do número percentual de células T, especialmente T "HELPER", e menor resposta funcional das células T e B em camundongos com deficiência de cobre. O mecanismo responsável pelo aumento do número total de células B ainda é desconhecido. Observou-se atrofia do timo em camundongos com deficiência de cobre e seus estudos preliminares mostraram depressão da reatividade mitogênica do tímócito nesses animais (PROHASKA et al., 80). Se a deficiência de cobre leva a "timectomia funcional" como foi sugerido por esses resultados, a proliferação das células B poderia ser atribuída à falta de regulação tímica. A supressão da imunidade parece ser diretamente proporcional à gravidade da deficiência de cobre (LUKASEWYCZ & PROHASKA, 59). A deficiência crônica altera o tamanho, a bioquímica e a morfologia dos tecidos linfóides primário e

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

secundário (PROHASKA et al., 80). No timo e baço dos camundongos com deficiência de cobre foi observada baixa atividade da citocromo C oxidase e superóxido-dismutase, sugerindo uma deficiência funcional do cobre.

A carência nutricional de cobre antes e durante a gestação e sua repercussão sobre o feto e o recém-nascido têm sido estudadas em animais. Alta incidência de reabsorção fetal e de natimortos (HALL & HOWELL, 36) bem como deformidades congênitas e mortalidade pós-natal (O'DELL et al., 73) têm sido encontradas. O estudo da deficiência gestacional de cobre em ratas não mostrou diferença com relação ao grupo controle quanto ao número de recém-nascidos e ao peso das mães e dos recém-nascidos (MASTERS et al., 65).

### 3.2 Em seres humanos

A deficiência de cobre em seres humanos está bem caracterizada em algumas situações clínicas.

Na síndrome nefrótica, os níveis séricos de cobre e ceruloplasmina estão freqüentemente reduzidos e são devidos às excessivas perdas urinárias de ceruloplasmina e à velocidade de síntese de ceruloplasmina insuficiente para manter níveis séricos normais (HSU, 46).

No "sprue" tropical, a hipocupremia pode ser explicada por reduzida absorção de cobre, síntese de ceruloplasmina prejudicada como resultado da deficiência protéica e pela excessiva perda de ceruloplasmina pelas fezes (CARTWRIGHT & WINTROBE, 12).

Na doença de Wilson, a hipocupremia é devida à deficiência de ceruloplasmina resultante da capacidade hepática de síntese diminuída (EVANS et al., 25). A excreção de cobre por trato biliar está diminuída (CARTWRIGHT et al., 14) e há acúmulo desse elemento no cérebro, fígado, rins e olhos, provocando distúrbios neurológicos, alteração das funções hepática e renal e dos anéis de Kayser-Fleisher na córnea (WALSHE & POTTER, 94).

A síndrome de Menkes é uma doença hereditária ligada ao cromossomo X (MENKES et al., 67), resultando afecção cerebral degenerativa, lesões ósseas, alteração de cabelo, retardo no crescimento (DANKS et al., 20) e alterações arteriais que podem levar à obliteração das grandes artérias (OAKES et al., 71). Foram demonstrados baixos níveis de cobre e ceruloplasmina séricos e defeito na absorção intestinal de cobre (WILLIAMS et al., 96).

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

Quanto à deficiência de cobre de origem alimentar, em seres humanos, a literatura mostrou controvérsias em determinado período. Relatou-se que tal deficiência poderia intervir em certos casos de anemia ferropênica irredutível, em lactentes com alimentação exclusivamente láctea (JOSEPHS, 47). Posteriormente, essa hipótese foi questionada em razão de observações que não demonstraram verdadeira associação com o déficit nutricional e sim com perdas intestinais de ceruloplasmina, devidas a enteropatias exsudativas, em lactentes que apresentavam anemia de natureza hipocrômica e microcítica, hipoproteinemia, hipossideremia e hipocupremia (LAHEY & SCHUBERT, 54). Citaram-se experiências que falharam em produzir hipocupremia em prematuros (WILSON & LAHEY, 98), apesar de essas crianças receberem o mesmo leite usado na deficiência de cobre induzida em porcos (CARTWRIGHT et al., 13). No período em que a anemia foi máxima não houve microcitose, hipocromia e hipossideremia associadas, como relatado em porcos deficientes em cobre. A baixa concentração de cobre sérico, apresentada nas primeiras semanas do experimento seria devida a uma relativa falta de porção protéica de ceruloplasmina (apoceruloplasmina) e não à falta de cobre. Estes autores relacionaram o fracasso em produzir deficiência cúprica nessas crianças ao fato de a necessidade diária de cobre de lactentes poder ser atingida com a pequena ingestão de 15 µg/kg de peso. Esse trabalho, de duração limitada e abrangendo número restrito de casos, conduziu à estimativa muito baixa das necessidades do lactente, sendo ainda responsável pela afirmação contida em livros, até 1967, de nunca ter sido descrita carência de cobre em seres humanos. Só recentemente a deficiência cúprica em humanos, como uma verdadeira entidade clínica, foi reconhecida. Em prematuros alimentados com leite não suplementado, a anemia hipocrômica que se desenvolve não responde à administração de ferro, mas responde imediatamente à adição de cobre (ASHKENAZI et al., 3; SEELY et al., 86). Os sintomas incluem, além de anemia, leucopenia, neutropenia e alterações ósseas semelhantes às observadas no escorbuto, problemas neurológicos e alterações de cabelo.

As alterações ósseas observadas na fase inicial de deficiência de cobre, como desmineralização óssea e falha na ossificação dos centros de crescimento, são inespecíficas (CORDANO et al., 17). Nos casos mais avançados foram encontradas: reação periosteal, alargamento das regiões metafisárias dos ossos longos com formação de esporões e fraturas submetafisárias e alargamento e fratura das costelas (CORDANO et al., 17; GRAHAM & CORDANO, 35). Estas alterações, que em muitos casos lembram às do escorbuto, desaparecem após 30 a 60 dias de instituída a terapia com cobre (CORDANO et al., 17).

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

A necessidade de cobre na dieta infantil levou a Academia Americana de Pediatria a considerar a adição de cobre nas fórmulas para recém-nascidos de baixo peso (RNBP) (HOLLIDAY, 40). Se levarmos em conta que a concentração de cobre no fígado de recém-nascidos é cerca de sete vezes a do adulto (MORRISSON & NASH Jr., 70) e que a maior parte desse depósito se forma no curso do último trimestre de vida fetal (SEELY et al., 86), espera-se que a deficiência de cobre ocorra em prematuros, cujo cobre hepático não atingiu ainda o nível normal por ocasião do nascimento (HOLTZMAN et al., 43) e em lactentes mantidos exclusivamente com dieta láctea por muito tempo, uma vez que tanto o leite humano quanto o de vaca são pobres em cobre (DAUNCEY et al., 21).

Trabalhos enfocando a deficiência cúprica nutricional relacionada com a nutrição parenteral foram relatados em lactentes, crianças e adultos (HELLER et al., 39; SIVASUBRAMANIAN et al., 88; SOLOMONS et al., 89). Esses pacientes apresentaram anemia, neutropenia e níveis de cobre e ceruloplasmina séricos muito baixos durante a nutrição parenteral prolongada. A anemia, refratária à administração de ferro, e os demais sinais clínicos responderam à administração do cobre.

Níveis de cobre sérico entre 81-147  $\mu\text{g}/100$  ml são considerados como limites de normalidade no indivíduo adulto sadio, definindo-se portanto hipocupremia como o nível de cobre sérico igual ou menor a 80  $\mu\text{g}/100$  ml (CARTWRIGHT & WINTROBE, 12). Na criança como os níveis séricos do cobre são maiores, o limite inferior normal é de 90  $\mu\text{g}/100$  ml (WILSON & LAHEY, 98). O fato de 93% do cobre sérico estar normalmente ligado à ceruloplasmina levou a considerar-se a hipocupremia como sinônimo de hipoceruloplasminemia (CARTWRIGHT & WINTROBE, 12). Portanto, os possíveis mecanismos responsáveis pela produção de hipoceruloplasminemia seriam ao mesmo tempo responsáveis pela hipocupremia.

Baixos níveis séricos de cobre (30-86  $\mu\text{g}/100$  ml) foram observados em crianças com desnutrição protéico-calórica grave (Kwashiorkor) por diversos autores e em diferentes países (EDOZIEN & UDEOZO, 23; LAHEY et al., 55; STRANSKY et al., 90). Embora a possibilidade de que a deficiência de cobre na dieta ocorra concomitantemente com as deficiências de proteínas e outros nutrientes não tenha sido afastada, acredita-se, com base nas alterações bioquímicas observadas em seres humanos e animais, que a ingestão protéica inadequada seja indiretamente a responsável pelas alterações conseqüentes à deficiência do cobre (LAHEY et al., 55).



DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

Baixos níveis de cobre foram encontrados no cabelo de crianças com Kwashiorkor o que poderia explicar as alterações de coloração que com freqüência são observadas nesses quadros MAC DONALD & WARREN, 61). LEHMANN et al. (57), estudando fragmentos de tecidos de crianças falecidas em quadro de Kwashiorkor, Kwashiorkor-marasmático e marasmo, encontraram taxas reduzidas de cobre no fígado e no músculo das crianças com Kwashiorkor. Essa redução pode ser resultado da falta de aminoácidos aos quais o cobre se liga e que são importantes para o seu transporte através do intestino. No marasmo também tem sido observada deficiência de cobre (CASTILLO DURAN et al., 15; FISBERG et al., 27). Entretanto, segundo CASTILLO DURAN et al. (15), ela ocorre com maior freqüência na fase de recuperação, quando o desnutrido é alimentado com dietas à base de leite sem suplementação com cobre. FISBERG et al. (27), num estudo com 68 crianças chilenas marasmáticas, observaram hipocupremia em 17 delas (valores inferiores a  $90\mu\text{g}/\text{dl}$ ), das quais 7 apresentavam deficiência grave definida por valores inferiores a  $60\mu\text{g}/\text{dl}$ . Fatores como baixo peso ao nascer ( $< 2.500\text{g}$ ), ausência de aleitamento materno e hospitalização prévia foram, segundo os autores, condicionantes da hipocupremia.

Deficiência de cobre associada à diarréia crônica e à má absorção intestinal tem sido pouco relatada na literatura (GOYENS et al., 33; RODRIGUEZ et al., 83). A determinação dos níveis de cobre no plasma e no cabelo de crianças com diarréia crônica e má absorção intestinal e de crianças apenas com diarréia crônica foi comparada à de crianças normais e às com desnutrição protéico-calórica (RODRIGUEZ et al., 83). Os autores observaram níveis plasmáticos de cobre semelhantes nos grupos com diarréia, porém inferiores aos das crianças normais e desnutridas. Os níveis de cobre no cabelo das crianças desnutridas não foram significativamente menores que os das normais, enquanto nos dois grupos com diarréia crônica, principalmente no que apresentava má absorção intestinal, foram bem menores. As possíveis causas responsáveis pela deficiência de cobre nesses indivíduos, que agiriam isoladamente ou em conjunto, seriam: má absorção crônica, menor ingestão, perdas digestiva e biliar aumentadas (GOYENS et al., 33; RODRIGUEZ et al., 83).

De modo geral, as manifestações clínicas da deficiência de cobre no homem podem variar de intensidade e freqüência, de acordo com a duração e o grau da deficiência do íon, de modo que se pode ter toda uma gama de intensidade da sintomatologia clínica (PUENTES et al., 81).

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

ABSTRACT

COPPER DEFICIENCY

*The copper is an important cofactor in several enzymatic reactions. For this reason, its nutritional deficiency causes different diseases as were demonstrated in experimental studies and in human being.*

**Index terms:** *copper, deficiency.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADELSTEIN, S. J. & VALLEE, B. L. Copper metabolism in man. **N. Eng. J. Med.**, Boston, **265**: 892-7, 1961.
2. AL-RASHID, R. A. & SPANGLER, J. Neonatal copper deficiency. **N. Eng. J. Med.**, Boston, **285**: 841-3, 1971.
3. ASHKENAZI, A. et al. The syndrome of neonatal copper deficiency. **Pediatrics**, Evanston, **52**: 525-33, 1973.
4. BALEVSKA, P. et al. Studies on the transfer of copper from ceruloplasmin to mitochondria. **Agressologie**, Paris, **16**: 7-11, 1975.
5. BARNES, R. & JONES, O. T. G. The availability of iron for haem synthesis in red blood cells. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, **304**: 304-8, 1973.
6. \_\_\_\_\_ et al. The utilization of iron and its complexes by mammalian mitochondria. **Biochem. J.**, London, **128**: 1043-55, 1972.
7. BAXTER, J. H. et al. A bone disorder associated with copper deficiency. II Histological and chemical studies on the bones. **Bull. Johns Hopkins Hosp.**, Baltimore, **93**: 25-39, 1953.
8. BUCHOLZ, D. F. (1918). Apud: PRASAD, A. S. Trace elements: biochemical and clinical effects of zinc and copper. **Am. J. Hematol.**, New York, **6**: 77-87, 1979.
9. BURCH, R. E. et al. Newer aspects of the roles of zinc, manganese and copper in human nutrition. **Clin. Chem.**, New York, **21**: 501-20. 1975.

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

10. BUSH, J. A. et al. Studies on copper metabolism. XIX. The kinetics of iron metabolism and erythrocyte life-span in copper deficient swine. *J. Exp. Med.*, New York, **103**: 701-12, 1956.
11. CARLTON, W. W. & HENDERSON, W. Skeletal lesions in experimental copper-deficiency in chickens. *Avian Dis.*, College Station, TX, **8**: 48-55, 1964.
12. CARTWRIGHT, G. E. & WINTROBE, M. M. The question of copper deficiency in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, **15**: 94-110, 1964.
13. \_\_\_\_\_ et al. Studies on copper metabolism. XVII. Further observations on the anemia of copper deficiency in swine. *Blood*, New York, **11**: 143-53, 1956.
14. \_\_\_\_\_ et al. Studies on copper metabolism. XXIX. A critical analysis of serum copper and ceruloplasmin concentrations in normal subjects, patients with Wilson's disease and relatives of patients with Wilson's disease. *Am. J. Med.*, New York, **28**: 555-63, 1960.
15. CASTILLO DURÁN, C. et al. El cobre como mineral esencial para la nutrición humana. *R. Chil. Pediatr.*, Santiago, **53**: 262-8, 1982.
16. COHEN, N. L. et al. Determinants of copper deficiency anemia in rats. *J. Nutr.*, Philadelphia, **115**: 710-25, 1985.
17. CORDANO, A. et al. Copper deficiency in infancy. *Pediatrics*, Evanston, **34**: 324-36, 1964.
18. CURZON, G. The effects of some ions and chelating agents on the oxidase activity caeruloplasmin. *Biochem. J.*, London, **17**: 66-73, 1960.
19. DANKS, D. M. et al. Menkes' kinky-hair syndrome. *Lancet*, London, **1**: 1100-2, 1972.
20. \_\_\_\_\_ et al. Menkes' kinky hair disease: further definition of the defect in copper transport. *Science*, Washington, **179**: 1140-2, 1973.
21. DAUNCEY, M. J. et al. The absorption and retention of magnesium, zinc and copper by low birth weight infantis fed pasteurized human breast milk. *Pediatr. Res.*, Baltimore, **11**: 991-7, 1977.
22. DREOSTI, I. E. & QUICKE, G. V. Blood copper as an indicator of copper status with a note on serum proteins and leucocyte counts in copper-deficient rats. *Br. J. Nutr.*, London, **22**: 1-7, 1968.

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

23. EDOZIEN, J. C. & UDEOZO, I. O. K. Serum copper, iron and iron binding capacity on kwashiorkor. *J. Trop. Pediatr.*, London, **4**: 60-4 1960.
24. EVANS, G. W. Copper homeostasis in the mammalian system. *Physiol. Rev.*, Bethesda, **53**: 535-70, 1973.
25. \_\_\_\_\_ et al. Characterization of hepatic copper proteins from mammalian species and a human with Wilson's disease. *Fed. Proc.*, Bethesda, **30**: 461-72, 1971.
26. EVERSON, G. J. et al. Chemical and morphological changes in the brains of copper deficient guinea-pigs. *J. Nutr.*, Philadelphia, **96**: 115-25, 1968.
27. FISBERG, M. et al. Factores condicionantes de hipocupremia en lactentes marásmicos. *Rev. Chil. Pediatr.*, Santiago, **52**: 410-4, 1981.
28. FOLLIS Jr., R. H. et al. Studies on copper metabolism. XVIII. Skeletal changes associated with copper deficiency in swine. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, Baltimore, **97**: 405-13, 1955.
29. FRIEDEN, E. Ceruloplasmin, a link between copper and iron metabolism. *Nutr. Rev.*, New York, **28**: 87-91, 1970.
30. GALLAGHER, C. H. & REEVE, V. E. Copper deficiency in the rat. Effect on liver and brain lipids. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, Adelaide, **49**: 453-61, 1971.
31. GANEZER, K. S. et al. Tensile properties of tendon in copper-deficient swine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, New York, **153**: 396-9, 1976.
32. GLUBER, C. J. et al. Studies on copper metabolism. XX. Enzyme activities and iron metabolism in copper and iron deficiencies. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, **224**: 533-46, 1957.
33. GOYENS, P. et al. Copper deficiency in infants with active celiac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, New York, **4**: 677-80, 1985.
34. GRAHAM, C. L. G. Copper levels in livers of turkeys with naturally occurring aortic rupture. *Avian Dis.*, College Station, TX, **21**: 113-6, 1976.
35. GRAHAM, G. G. & CORDANO, A. Copper depletion and deficiency in the malnourished infant. *Johns Hopkins Med. J.*, Baltimore, **124**: 139-50, 1969.

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

36. HALL, G. A. & HOWELL, J. The effect of copper deficiency on reproduction in the female rat. **Br. J. Nutr.** London, **23**: 41-5, 1969.
37. HART, E. B. et al. (1925). Apud: MASON, K. E. A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. **J. Nutr.**, Philadelphia, **109**: 1979-2006, 1979.
38. HARRIS, E. D. et al. Connective tissue amine oxidase. II. Purification and partial characterization of lysyl oxidase from chick aorta. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, **341**: 332-44, 1974.
39. HELLER, R. M. et al. Skeletal changes of copper deficiency in infants receiving prolonged total parenteral nutrition. **J. Pediatr.**, St. Louis, **92**: 947-9, 1978.
40. HOLLIDAY, M. A. Copper requirements and actual recommendations per 100 kilocalories of infant formula. **Pediatrics**, Evanston, **54**: 524-9, 1974.
41. HOLMBERG, C. G. & LAURELL, C. B. Investigation in serum copper. III. Ceruloplasmin as an enzyme. **Acta Chem. Scand.**, Kopenhagen, **5**: 476-80, 1951.
42. HOLTZMAN, N. A. & GAUMNITZ, B. M. Identification of an apoceruloplasmin-like substance in the plasma of copper deficient rats. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, **245**: 2350-3, 1970.
43. \_\_\_\_\_ et al. Distribution of serum copper in copper deficiency. **Johns Hopkins Med. J.**, Baltimore, **126**: 34-42, 1970.
44. HOWELL, J. McC & DAVISON, A. N. The copper content and cytochrome oxidase activity of tissues from normal and sway back lambs. **Biochem. J.**, London, **72**: 365-8, 1959.
45. HSU, J. M. Hypomyelination in copper-deficient rats. **Arch. Neurol.**, Chicago, **33**: 111-9, 1976.
46. \_\_\_\_\_. Current knowledge on zinc, copper and chromium in aging. **World Rev. Nutr. Diet.**, Basel, **33**: 42-69, 1979.
47. JOSEPHS, H. Treatment of anemia of infancy with iron and copper. **Bull. Johns Hopkins Hosp.**, Baltimore, **49**: 246-58, 1931.
48. JONES, D. G. & SUTTLE, N. F. The effect of copper deficiency on the resistance of mice to infection with *Pasteurella haemolytica*. **J. Comp. Pathol.**, Liverpool, **93**: 143-9, 1983.
49. JONSSON, G. et al. Rickets and secondary nutritional hyperparathyroidism. **Acta Radiol. (Suppl.)**, Stockholm, **319**: 91-104, 1972.

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

50. KENNETH, G. D. A. & KLEVAY, L. M. Cholesterolemia and cardiovascular abnormalities in rats caused by copper deficiency. *Atherosclerosis*, Amsterdam, **29**: 81-93, 1978.
51. KEYHANI, E. Oxidation-reduction potential of cytochrome c oxidase in mitochondria of yeast grown under various copper concentrations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, New York, **93**: 919-26, 1980.
52. KIMMEL, J. R. et al. Some chemical and physical properties of erythrocyte. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, **234**: 46-50, 1959.
53. KITANO, S. Membrane and contractile properties of rat vascular tissue in copper-deficient conditions. *Circ. Res.*, New York, **46**: 681-9, 1980.
54. LAHEY, M. E. & SCHUBERT, W. K. New deficiency syndrome occurring in infancy. *Am. J. Dis. Child.*, Chicago, **93**: 31-4, 1957.
55. \_\_\_\_\_ et al. Values for copper, iron and iron binding capacity in the serum in Kwashiorkor. *Pediatrics*, Evanston, **22**: 72-8, 1958.
56. LEE, G. R. et al. Iron metabolism in copper-deficient swine. *J. Clin. Invest.*, New Haven, **47**: 2058-69, 1968.
57. LEHMANN, B. H. et al. The distribution of copper, zinc and manganese in various regions of the brain and in other tissues of children with protein calorie malnutrition. *Br. J. Nutr.*, London, **26**: 197-202, 1971.
58. LINDSAY, J. G. et al. The invisible copper of cytochrome c oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.*, New York, **169**: 492-505, 1975.
59. LUKASEWYCZ, O. A. & PROHASKA, J. R. Lymphocytes from copper-deficient mice exhibit decreased mitogen reactivity. *Nutr. Res.*, Los Angeles, **3**: 335-41, 1983.
60. \_\_\_\_\_ et al. Alterations in lymphocyte subpopulations in copper-deficient mice. *Infect. Immun.*, Washington, **48**: 644-7, 1985.
61. MACDONALD, I. & WARREN, P. J. The copper content of the liver and hair of African children with kwashiorkor. *Br. J. Nutr.*, London, **15**: 593-6, 1961.
62. MARCEAU, N. & ASPIN, N. The intracellular distribution of the radiocopper derived from ceruloplasmin and from albumin. *Biochim. Biophys. Acta*, Amsterdam, **293**: 338-50, 1973.

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

63. MARSTON, H. R. et al. Iron metabolism in copper-deficient rats. *Brit. J. Nutr.*, London, **25**: 15-30, 1971.
64. MASON, K. F. A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *J. Nutr.*, Philadelphia, **109**: 1979-2066, 1979.
65. MASTERS, D. G. et al. Comparative aspects of dietary copper and zinc deficiencies in pregnant rats. *J. Nutr.*, Philadelphia, **113**: 1448-51, 1983.
66. MECHAN, R. P. & FOSTER, J. A. Characterization of insoluble elastin from copper-deficient pigs. *Biochim. Biophys. Acta.*, Amsterdam, **577**: 147-58 1979.
67. MENKES, J. H. et al. A sexlinked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics*, Evanston, **29**: 764-79, 1962.
68. MILLS, C. F. et al. Biochemical and pathological changes in tissues of Friesian cattle during the experimental induction of copper deficiency. *Br. J. Nutr.*, London, **35**: 309-31, 1976.
69. MORGAN, E. H. & BAKER, E. The effect of metabolic inhibitors of transferrin and iron uptake and transferrin release. *Biochim. Biophys. Acta*, Amsterdam, **184**: 442-54, 1969.
70. MORRISSON, D. B. & NASH Jr., T. P. (1930). Apud: OSTER, G. & MIKLOS, P. S. *Adv. Pharmacol. Chemother.*, New York, **14**: 327-409, 1977.
71. OAKES, B. W. et al. Human copper deficiency: ultrastructural studies of the aorta and skin in a child with Menkes's syndrome. *Exp. Mol. Pathol.*, New York, **25**: 82-98, 1976.
72. O'DELL, B. L. Biochemistry of copper. *Med. Clin. North Am.*, Philadelphia, **60**: 687-703, 1976.
73. \_\_\_\_\_ et al. Connective tissue defect in the chick resulting from copper deficiency. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, New York, **108**: 402-5, 1961.
74. \_\_\_\_\_ et al. Effect of copper status on brain neurotransmitter metabolism in the lamb. *J. Neurochem.*, New York, **26**: 451-5, 1976.
75. OSAKI, S. et al. Proof for the ascorbate oxidase activity of ceruloplasmin. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, **239**: 3570-5, 1964.

DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

76. OSTERBERG, R. Physiology and pharmacology of copper. **Pharmacol. Ther.** Oxford, **9**: 121-46, 1980.
77. OWEN, Jr., C. A. Effects of iron on copper metabolism in rats. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, **224**: 514-8, 1973.
78. PRASAD, A. S. Trace elements: biochemical and clinical effects of zinc and copper. **Am. J. Hematol**, New York, **6**: 77-87, 1979.
79. PROHASKA, J. R. & LUKASEWYCZ, O. A. Copper deficiency suppresses the immune response of mice. **Science**, Washington, **213**: 559-61, 1981.
80. \_\_\_\_\_ et al. Chronic dietary copper deficiency alters biochemical and morphological properties of mouse lymphoid tissues. **J. Nutr.**, Philadelphia, **113**: 1583-90, 1983.
81. PUENTES, R. R. et al. Déficit de cobre en el lactente. **R. Chil. Pediatr.**, Santiago, **53**: 144-9, 1982.
82. RAGAN, H. A. et al. Effect of ceruloplasmin on plasma iron in copper deficient swine. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, **217**: 1320-3, 1969.
83. RODRIGUEZ, E. A. et al. Zinc and copper in hair and plasma of children with chronic diarrhea. **Acta Paediatr. Scand.**, Stockholm, **74**: 770-4, 1985.
84. RUCKER, R. B. & O'DELL, B. L. Connective tissue amine oxidase. I. Purification of bovine aorta amine oxidase and its comparison with plasma amine oxidase. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, **235**: 32-43, 1971.
85. \_\_\_\_\_ et al. Effect of copper deficiency on chick bone collagen and selected bone enzymes. **J. Nutr.**, Philadelphia, **98**: 57-63, 1969.
86. SEELY, J. R. et al. Copper deficiency in a premature infant fed an iron-fortified formula. **N. Eng. J. Med.**, Boston, **286**: 109-10, 1972.
87. SHIELDS, G. S. et al. Studies on copper metabolism. XXXI. Erythrocyte copper. **J. Clin. Invest.**, New Haven, **40**: 2007-15, 1961.
88. SIVASUBRAMANIAN, G. H. et al. Zinc and copper changes after neonatal parenteral alimentation. **Lancet**, London **1**: 508, 1978.
89. SOLOMONS, N. W.; et al. Plasma trace metals during total parenteral alimentation. **Gastroenterology**, Baltimore, **70**: 1022-5, 1976.
90. STRANSKY, E. et al. On serum copper level and its importance in childhood. **Ann. Paediatr.**, Basel, **179**: 1-11, 1952.



DEFICIÊNCIA DE COBRE  
O. M. S. AMANCIO e M. O. E. HILÁRIO

91. SUTTLE, N. F. & ANGUS, K. W. Effects of experimental copper deficiency on the skeleton of the calf. *J. Comp. Pathol.*, Liverpool, **88**: 137-48, 1978.
92. \_\_\_\_\_ et al. Osteoporosis in copper depleted lambs. *J. Comp. Pathol.*, Liverpool, **82**: 93-7, 1972.
93. THERIAULT, L. L. et al. Lipid and myelin abnormalities of brain in the crinkled mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, New York, **155**: 549-53, 1977.
94. WALSH, J. M. & POTTER, G. The pattern of the whole body distribution of radioactive copper ( $\text{Cu}^{67}$ ,  $\text{Cu}^{64}$ ) in Wilson's disease and various control-groups. *Q. J. Med.*, Oxford, **184**: 445-62, 1977.
95. WEISENBERG, E. et al. Biochemical lesions in copper-deficient rats caused by secondary iron deficiency. *Biochem. J.*, London, **188**: 633-41, 1980.
96. WILLIAMS, D. M. et al. Menkes' kinky hair syndrome: studies of copper metabolism and long term copper therapy. *Pediatr. Res.*, Baltimore, **11**: 823-6, 1977.
97. \_\_\_\_\_ et al. Role of copper in mitochondrial iron metabolism. *Blood*, New York, **48**: 77-85, 1976.
98. WILSON, J. F. & LAHEY, M. E. Failure to induce dietary deficiency of copper in premature infants. *Pediatrics*, Evanston, **25**: 40-9, 1960.
99. ZIMMERMAN, A. W. et al. Hypomyelination in copper-deficient rats. *Arch. Neurol.*, Chicago, **33**: 111-9, 1976.