

COBRE, O GENERAL ESQUECIDO DA BIOENERGÉTICA: UMA RELEITURA CRÍTICA DO METABOLISMO DO FERRO À LUZ DAS TESES DE MORLEY M. ROBBINS E DOUGLAS B. KELL

COPPER, THE FORGOTTEN GENERAL OF BIOENERGETICS: A CRITICAL RE-READING OF IRON METABOLISM IN LIGHT OF THE THESES OF MORLEY M. ROBBINS AND DOUGLAS B. KELL

LAIR GERALDO THEODORO RIBEIRO^{1*}, LUIS ROBERTO MESQUITA²

1. Médico, Cardiologista e Nutrólogo, Professor e Coordenador de Curso de Pós-graduação lato sensu da Uningá – Centro Universitário Ingá; Mestre em Cardiologia pela PUC-RJ; Fellow of the American College of Cardiology (FACC); 2. Administrador de Empresas (FAAP); Pesquisador independente em Ciências da Saúde; Professor convidado em programas de pós-graduação.

* Rua José Maria Lisboa, 445, Jardins, São Paulo, Brasil. CEP: 01.423-000. sintoniagrupo@uol.com.br

Recebido em 10/05/2026. Aceito para publicação em 19/06/2026

RESUMO

Contexto: A anemia ferropriva refratária e a fadiga crônica persistente representam desafios clínicos cotidianos, habitualmente abordados pela suplementação empírica de primeira linha de ferro. Contudo, as teses contemporâneas de Morley M. Robbins e Douglas B. Kell, fundamentadas nos trabalhos seminais de pesquisadores como Klevay, Linder e Szent-Györgyi, exigem uma reinterpretação mecanística desse paradigma. Nessa perspectiva, a deficiência funcional de cobre emerge como causa-raiz amplamente negligenciada na fisiopatologia destas síndromes. Objetivo: Sintetizar criticamente as evidências bioquímicas, fisiológicas e clínicas que embasam a primazia regulatória do cobre sobre o ferro na bioenergética humana. O foco analítico recai sobre a cuproenzima peptidilglicina α -amidante monooxigenase (PAM) e a hipótese da “ferritina-zero”, que reclassifica a ferritina sérica como marcador de injúria tecidual e não como reserva elementar. Métodos: Conduziu-se uma revisão narrativa crítica baseada em 144 referências criteriosamente selecionadas, integrando disciplinas como bioquímica molecular, fisiologia mitocondrial, hematologia, endocrinologia, neurodegeneração e biologia de sistemas. Resultados: A homeostase mitocondrial requer a coordenação precisa da tríade cobre-ferro-oxigênio. O cobre atua como cofator catalítico indispensável das principais metaloenzimas oxidativas. A ceruloplasmina, mediante sua atividade ferroxidase, transcende a mera função carreadora. Ela rege a oxidação e a mobilização seguras do ferro, e sua inatividade favorece o acúmulo de ferro lábil — fração fracamente ligada e quimicamente reativa. Na presença de peróxido de hidrogênio, esse ferro lábil deflagra a reação de Fenton, com consequente dano oxidativo sistêmico. Paralelamente, a enzima PAM, estritamente cupro-dependente, orchestra a amidação C-terminal de mais da metade dos peptídeos sinalizadores humanos, atrelando a homeostase do cobre à integridade neuroendócrina. Em consonância, a modelagem de Kell sustenta a plausibilidade da ferritina circulante como produto de vazamento celular inflamatório. A faixa de referência laboratorial vigente para ferritina sérica é discutida criticamente, propondo-se sua redefinição em

valores substancialmente inferiores aos atualmente utilizados. Conclusões: A evidência acumulada sugere robustamente que a funcionalidade do cobre, em detrimento da mera quantificação férrica, constitui o determinante crítico da homeostase mineral, da preservação mitocondrial e da resiliência contra doenças crônico-degenerativas. É necessária uma revisão sistêmica dos algoritmos diagnósticos e das condutas terapêuticas vigentes na prática clínica. Ensaios clínicos randomizados são necessários para validar intervenções diagnósticas e terapêuticas centradas no cobre.

PALAVRAS-CHAVE: cobre; ferro; ceruloplasmina; ferritina; cuproenzimas; estresse oxidativo; peptidilglicina monooxigenase; bioenergética mitocondrial.

ABSTRACT

Background: Refractory iron deficiency anemia and persistent chronic fatigue represent daily clinical challenges, usually addressed by empirical first-line iron supplementation. However, contemporary theses by Morley M. Robbins and Douglas B. Kell, grounded in the seminal works of researchers such as Klevay, Linder, and Szent-Györgyi, demand a mechanistic reinterpretation of this paradigm. From this perspective, functional copper deficiency emerges as a widely neglected root cause in the pathophysiology of these syndromes. Objective: To critically synthesize the biochemical, physiological, and clinical evidence underscoring the regulatory primacy of copper over iron in human bioenergetics. The analytical focus centers on the cuproenzyme peptidylglycine α -amidating monooxygenase (PAM) and the “zero-ferritin” hypothesis, which recategorizes serum ferritin as a marker of tissue injury rather than a measure of elemental reserve. Methods: A critical narrative review based on 144 carefully selected references was conducted, integrating disciplines such as molecular biochemistry, mitochondrial physiology, hematology, endocrinology, neurodegeneration, and systems biology. Results: Mitochondrial homeostasis requires the precise coordination of the copper-iron-oxygen triad. Copper serves as an obligatory catalytic cofactor for the major oxidative metaloenzymes. Ceruloplasmin, through its ferroxidase

activity, transcends mere carrier function. It governs the safe oxidation and mobilization of iron, and its functional failure leads to the accumulation of labile iron — a weakly bound and chemically reactive fraction. In the presence of hydrogen peroxide, this labile iron triggers the Fenton reaction, resulting in systemic oxidative damage. Concurrently, the strictly copper-dependent enzyme PAM orchestrates the C-terminal amidation of over half of human signaling peptides, linking copper homeostasis directly to neuroendocrine integrity. Consistently, Kell's modeling supports the plausibility of circulating ferritin as a product of inflammatory cellular leakage. The current laboratory reference range for serum ferritin is critically discussed, with a proposed redefinition toward substantially lower values. **Conclusions:** The cumulative evidence robustly indicates that functional copper status, rather than mere total iron quantification, acts as the critical determinant of mineral homeostasis, mitochondrial preservation, and resilience against chronic degenerative diseases. A systemic reappraisal of current diagnostic algorithms and therapeutic strategies in clinical practice is necessary. Randomized clinical trials are warranted to validate copper-centered diagnostic and therapeutic interventions.

KEYWORDS: Stroke; Artificial Intelligence; Diagnostic Imaging; Ischemic Stroke; Thrombectomy.

1. INTRODUÇÃO

A célebre máxima do Prêmio Nobel Albert Szent-Györgyi — “*Life is nothing but an electron looking for a place to rest*” / “A vida nada mais é do que um elétron à procura de um lugar para descansar” — encapsula a essência termodinâmica da bioenergética celular^{105,107}.

No âmago dessa incessante transferência eletrônica, a medicina contemporânea defronta-se com um paradoxo metabólico de proporções endêmicas. Diariamente, contingentes expressivos de pacientes — predominantemente mulheres em idade reprodutiva e idosos — recebem o diagnóstico de anemia ferropriva e, em seguida, prescrição empírica de sais de ferro sem investigação etiológica complementar. Contudo, uma parcela substancial dessas populações evolui de modo refratário ou clinicamente paradoxal, perpetuando quadros de fadiga crônica, disfunção neurocognitiva e agravamento documentável do estresse oxidativo sistêmico^{12,44}.

Em paralelo, observa-se o aumento global da prevalência de doenças crônico-degenerativas que, a despeito de suas etiologias clinicamente heterogêneas, convergem para um substrato fisiopatológico comum: a expansão do pool de ferro lábil intracelular e o consequente comprometimento da função bioenergética mitocondrial^{32,41}.

Desde a década de 1970, pesquisadores pioneiros, como Leslie M. Klevay e Maria C. Linder, vêm documentando a interdependência inalienável entre o cobre e a homeostase do ferro^{27-29,97,98}. Mais recentemente, o trabalho minucioso de Svetlana Lutsenko delineou a complexa e interconectada rede de proteínas carreadoras do cobre humano^{5,95,96}. Todavia, foi a síntese teórica contemporânea estruturada por Morley M. Robbins — proponente do *Root Cause*

Protocol, abordagem de medicina integrativa e nutricional ainda não chancelada por diretrizes clínicas internacionais — que recolocou a deficiência funcional de cobre no centro da investigação fisiopatológica. A esta síntese somaram-se as modelagens rigorosas em biologia de sistemas conduzidas por Douglas B. Kell, conferindo-lhe fundamentação molecular robusta¹¹³⁻¹¹⁷. A tese central, biologicamente fundamentada, postula que a condição rotineiramente tratada como deficiência absoluta de ferro representa, na ampla maioria dos casos, profunda estagnação do metabolismo férrico induzida pela deficiência de cobre biodisponível.

Este artigo apresenta uma revisão narrativa crítica destas hipóteses. Está organizado em seções, abordando, respectivamente: Introdução e Desenvolvimento: a arquitetura molecular da tríade bioenergética cobre-ferro-oxigênio na mitocôndria; a relevância singular da ceruloplasmina e demais multicopper oxidases; a enzima PAM e a amidação C-terminal dos peptídeos sinalizadores; a hipótese da “ferritina-zero” de Kell, suas implicações inflamatórias e a reapreciação crítica da faixa de referência laboratorial vigente para ferritina sérica; a sinergia com cofatores cruciais como retinol, magnésio, ascorbato, glutatona, melatonina e vitamina D₃; a cuproptose e as síndromes genéticas da homeostase do cobre; os fatores contemporâneos de depleção mineral funcional; as implicações clínicas e as perspectivas terapêuticas; as limitações, controvérsias e lacunas das evidências atuais; as perspectivas e a agenda para pesquisas futuras; e uma conclusão integrativa.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão narrativa crítica da literatura, desenvolvida com o objetivo de analisar e integrar evidências relacionadas ao papel do cobre na homeostase do ferro, na bioenergética mitocondrial e nos mecanismos fisiopatológicos associados ao estresse oxidativo, à inflamação crônica e às doenças crônico-degenerativas. As hipóteses discutidas foram analisadas criticamente à luz da literatura científica disponível, não representando necessariamente consenso das diretrizes clínicas vigentes, mas sim uma proposta de interpretação integrativa para estimular o debate científico e a formulação de novas hipóteses.

A estratégia de busca contemplou publicações indexadas nas bases de dados PubMed/ MEDLINE, Scopus, *Web of Science* e *Google Scholar*, além de obras clássicas de referência em Bioquímica, Fisiologia, Hematologia e Metabolismo Mineral. Foram utilizadas, isoladamente e em combinação, as palavras-chave: “*copper metabolism*”, “*iron metabolism*”, “*ceruloplasmin*”, “*ferritin*”, “*bioenergetics*”, “*mitochondrial function*”, “*oxidative stress*”, “*labile iron pool*”, “*peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase*”, “PAM”, “*copper deficiency*”, “*cuproenzymes*”, “*cuproptosis*”.

Foram priorizados artigos originais, revisões sistemáticas, meta-análises, estudos experimentais, estudos observacionais, diretrizes e publicações de reconhecida relevância científica relacionadas ao

metabolismo do cobre e do ferro. Também foram incluídos trabalhos clássicos considerados fundamentais para a compreensão histórica e do desenvolvimento do tema.

A seleção das referências ocorreu por análise de relevância científica, consistência metodológica, impacto na área e contribuição para a construção do modelo fisiopatológico discutido. Foram excluídos estudos com descrição metodológica insuficiente, publicações duplicadas e trabalhos cujo conteúdo não apresentasse relação direta com os objetivos da revisão.

Ao todo, foram analisadas 144 referências bibliográficas, abrangendo os campos da bioquímica molecular, fisiologia mitocondrial, hematologia, endocrinologia, neurociências, imunologia, biologia de sistemas e medicina translacional.

Por se tratar de uma revisão narrativa crítica, não foi realizada meta-análise quantitativa nem avaliação formal do risco de viés dos estudos incluídos. A interpretação das evidências foi conduzida de forma integrativa, buscando identificar convergências, divergências e lacunas do conhecimento científico relacionadas às hipóteses contemporâneas propostas por Morley M. Robbins e Douglas B. Kell acerca da interação entre cobre, ferro e oxigênio na fisiologia humana.

A organização temática do manuscrito foi estruturada a partir dos principais eixos conceituais identificados na literatura, incluindo a bioenergética mitocondrial dependente de cobre, a função das multicopper oxidases, a participação da peptidilglicina α -amidante monooxigenase (PAM) na sinalização neuroendócrina, a hipótese da ferritina como marcador de injúria tecidual e as implicações clínicas da deficiência funcional de cobre.

As tabelas e a Figura 1 apresentadas foram elaboradas pelos próprios autores a partir das referências indicadas e podem ser reproduzidas mediante citação adequada.

Por se tratar de revisão narrativa crítica baseada exclusivamente em literatura publicada e indexada, este estudo não envolveu coleta de dados primários em sujeitos humanos ou animais, dispensando submissão a Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), conforme prevê a Resolução CNS 510/2016 (Art. 1º, parágrafo único, inciso V), em consonância com os princípios estabelecidos pela Resolução CNS 466/2012 e pela Declaração de Helsinque em sua versão revisada.

Contribuições dos autores

Lair Geraldo Theodoro Ribeiro (LGTR) concebeu o escopo, articulou a tese clínica e a estrutura argumentativa, supervisionou criticamente o conteúdo bioquímico e assina como autor sênior (*Conceptualization, Methodology, Validation, Writing & editing, Supervision*).

Luis Roberto Mesquita (LRM) realizou a curadoria bibliográfica, integrou as fontes no modelo de biologia de sistemas e redigiu a versão inicial do manuscrito

(*Investigation, Data curation, Visualization, Writing – original draft*). Ambos os autores revisaram e aprovaram a versão final, assumindo responsabilidade integral pelo conteúdo apresentado, em conformidade com os quatro critérios de autoria do *International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)* e com a *Contributor Roles Taxonomy (CRediT)* da NISO.

Uso de inteligência artificial

Os autores declaram que ferramentas computacionais de inteligência artificial generativa (incluindo modelos de linguagem de larga escala da família GPT e Claude) foram utilizadas exclusivamente como instrumentos auxiliares para conferência ortográfica e gramatical, padronização tipográfica do estilo Vancouver, indexação bibliográfica e verificação cruzada de citações com DOI.

Nenhum conteúdo científico substantivo — incluindo formulação de hipóteses, interpretações mecanísticas, integração crítica de evidências, redação argumentativa ou conclusões — foi gerado por sistemas de inteligência artificial.

A integralidade das proposições científicas, da arquitetura teórica e da responsabilidade autoral é exclusivamente humana. Em conformidade com as recomendações da *World Association of Medical Editors (WAME)*, do ICMJE e com a política editorial de periódicos indexados, nenhuma ferramenta de inteligência artificial figura como autora ou coautora deste trabalho.

3. DESENVOLVIMENTO e DISCUSSÃO

A TRÍADE BIOENERGÉTICA: COBRE, FERRO E OXIGÊNIO NA MITOCÔNDRIA

O Complexo IV (citocromo c oxidase) e a redução tetraeletrônica

A mitocôndria opera como o reator termodinâmico eucariótico, cujoceptor final de elétrons é o oxigênio diatômico (O_2). O estágio terminal da cadeia transportadora de elétrons é orquestrado pelo Complexo IV — a citocromo c oxidase (CcO). Esta metaloenzima, composta por 13 subunidades em mamíferos, exibe arquitetura catalítica que depende estritamente do acoplamento entre os metais de transição cobre e ferro^{23,24}.

O fluxo de elétrons obedece a uma arquitetura tridimensional otimizada: os elétrons provindos do citocromo c reduzido são inicialmente capturados pelo centro binuclear CuA (localizado na subunidade II, também conhecida como COX2). Deste, fluem para o heme, a que atua, como relé de transferência em direção ao sítio catalítico primário, formado pela complexação do heme a_3 com o centro mononuclear CuB. É exclusivamente na bolsa catalítica formada pelo par heme a_3 -CuB que a molécula de O_2 é estabilizada e cindida²⁵.

O ciclo catalítico transita pelos intermediários clássicos P, F, O e R, garantindo a redução tetraeletrônica do O_2 a duas moléculas de água. Esta

redução acopla quatro elétrons à captura de quatro prótons da matriz, sem a liberação deletéria de espécies reativas de oxigênio (ROS). A reação é fortemente exergônica e a energia liberada é aproveitada para o trabalho vetorial de transporte de prótons. Para cada molécula de O₂ consumida, quatro prótons (4 H⁺) são bombeados ativamente da matriz para o espaço intermembranar.

eletroquímico transmembranar, indispensável à fosforilação oxidativa catalisada pela ATP sintase (Complexo V).

A inserção do cobre nos sítios CuA e CuB é finamente regulada pelas chaperonas COX17, SCO1/SCO2 e COX11^{24,26}. Sem aporte adequado de cobre mitocondrial funcional, a CcO perde eficiência ou colapsa: o oxigênio deixa de ser adequadamente

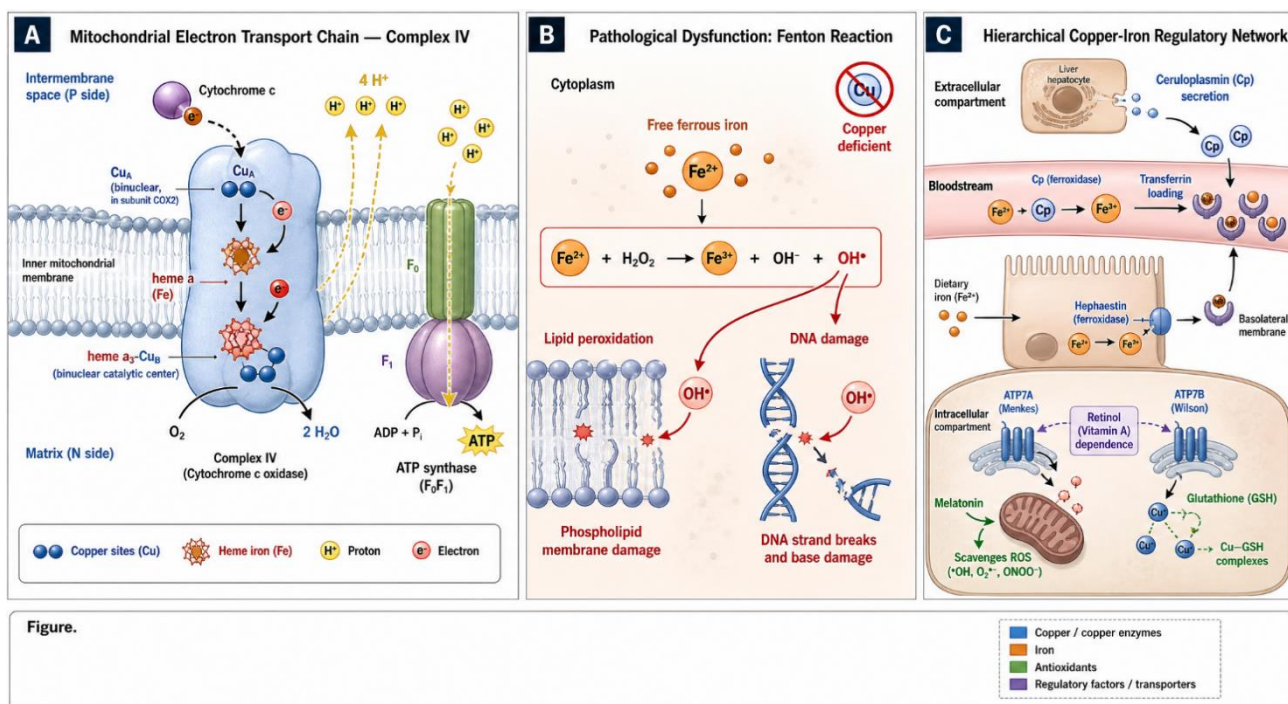


Figura 1. Representação esquemática da tríade bioenergética cobre-ferro-oxigênio na mitocondria. O painel A exibe a conformação da cadeia de transporte de elétrons na membrana mitocondrial interna, enfatizando o Complexo IV (citocromo c oxidase, CcO) com seus sítios catalíticos CuA (binuclear, localizado na subunidade II/COX2), heme a e o centro conjugado heme a₃-CuB. A redução sequencial e acoplada do O₂ a duas moléculas de H₂O impulsiona a translocação vetorial de quatro prótons (4 H⁺) por molécula de O₂ consumida, nutrindo o gradiente eletroquímico que sustenta a ATP sintase. O painel B ilustra a disfunção patológica: na deficiência funcional de cuproenzimas, o ferro lábil citosólico (labile iron pool, LIP), em sua valência ferrosa (Fe²⁺), encontra o H₂O₂ e dispara a cascata da reação de Fenton; os radicais hidroxila (OH•) resultantes perpetuam a lipoperoxidação das membranas e o dano genômico, acelerando o declínio bioenergético mitocondrial. O painel C consolida a rede hierárquica extracelular e intracelular de regulação cuprofuncional. A ceruloplasmina (Cp) hepática oxida Fe²⁺ a Fe³⁺, viabilizando seu transporte plasmático pela transferrina; a hephaestina exerce controle análogo na membrana basolateral dos enterócitos; os transportadores ATP7A (efluxo intestinal e sistêmico) e ATP7B (efluxo hepatobiliar) governam a compartimentalização intracelular do cobre, com expressão modulada transcricional pelo ácido retinoico. Intracelularmente, a glutatona (GSH) atua como ligante citosólico intermediário do cobre recém-absorvido, enquanto a melatonina neutraliza localmente espécies reativas de oxigênio. **Código de cores:** azul — sítios de cobre (CuA, CuB); vermelho/laranja — heme a, heme a₃ e ferro lábil; amarelo — prótons (H⁺); verde — moléculas antioxidantes (GSH, melatonina); cinza — membranas lipídicas e estruturas proteicas. **Abreviaturas:** CcO, citocromo c oxidase; Cp, ceruloplasmina; GSH, glutatona reduzida; LIP, labile iron pool (pool de ferro lábil); MCO, multicopper oxidase; ROS, espécies reativas de oxigênio. **Fonte:** os Autores.

A esses somam-se outros quatro prótons consumidos quimicamente na formação das duas moléculas de água. O resultado líquido é a manutenção do gradiente

reduzido à água, o gradiente protônico se dissipa e a fosforilação oxidativa sofre severa limitação. Esta cadeia de eventos configura a via mecânica primária pela qual a deficiência funcional de cobre se traduz em fadiga crônica sistêmica.

Hierarquia metabólica: o cobre como regulador e o ferro como executor

A relação entre estes metais pode ser compreendida pela metáfora proposta por Robbins: o cobre assume o papel de elemento regulador-tático do metabolismo, enquanto o ferro atua como executor subordinado.

O ferro possui elevada reatividade e flexibilidade para a transferência monoelétrica, mas é incapaz de autodirigir-se com segurança pelos tecidos e pelas membranas lipídicas.

O cobre, atuando como núcleo catalítico ativo em diversas cuproenzimas, comanda o estado redox do ferro, oxidando-o a estados de valência seguros que permitem seu acoplamento a proteínas de transporte como a transferrina. Sem a salvaguarda molecular regida pelo cobre, as moléculas de ferro extravasam seus papéis fisiológicos, promovendo oxidação indiscriminada aos tecidos adjacentes^{9,10}.

O ferro lábil e a reatividade de Fenton e Haber-Weiss

A inatividade da ceruloplasmina, em situação de deficiência funcional de cobre, impede a oxidação

segura de Fe^{2+} a Fe^{3+} e a sua inserção na apotransferrina, permitindo o acúmulo do chamado ferro lábil — fração fracamente ligada e quimicamente reativa, conhecida como *labile iron pool* (LIP). Quando esse íon ferroso desprotegido encontra o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), subproduto basal da respiração aeróbica, dispara-se a deletéria reação de Fenton. Em complemento, a reação de Haber–Weiss mediada por metais perpetua o ciclo^{32,35,38}. Cabe enfatizar que a reação de Fenton, do ponto de vista químico, ocorre sempre que Fe^{2+} e H_2O_2 coexistam; o papel do cobre é preventivo (via ceruloplasmina ferroxidase), e não causal.

O radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$) é possivelmente o oxidante biológico mais letal, com meia-vida de nanossegundos, promovendo peroxidação lipídica imediata das membranas mitocondriais, desnaturação de enzimas Fe–S e clivagem da dupla hélice de DNA. Esse depósito de ferro tissular lábil sustenta hoje as bases teóricas do envelhecimento biológico precoce e das disfunções neurodegenerativas^{32–34}.

CERULOPLASMINA E MULTICOPPER OXIDASES: GUARDIÃS DO METABOLISMO MINERAL

Arquitetura da ceruloplasmina e o cluster trinuclear

A ceruloplasmina (cp) é uma robusta α_2 -globulina plasmática de aproximadamente 132 kda, majoritariamente sintetizada e secretada pelos hepatócitos^{1–5} não constitui mero carreador inerte, mas a enzima central da regulação cobre–ferro. Em sua forma plenamente ativada (holoceruloplasmina), a proteína incorpora seis átomos de cobre cataliticamente ativos, distribuídos em domínios estruturais altamente conservados. São eles: três sítios t1 mononucleares (cada um abrigando um cu de tipo azul, responsável pela cor cerúlea característica e pela captação dos elétrons do substrato ferroso); um sítio t2 mononuclear; e um sítio t3 binuclear.

Os sítios t2 e t3 organizam-se fisicamente para formar o cluster catalítico trinuclear. É neste nicho tridimensional complexo que o oxigênio molecular é reduzido a água por sequência precisa de quatro elétrons, dispensando intermediários parciais reativos no plasma. Desde as descrições seminais de roeser e cartwright nos anos 1960 e 1970, demonstrou-se inequivocamente o papel da ceruloplasmina plasmática como reguladora-chave do metabolismo do ferro^{1–3} especificamente, a mobilização eficiente de ferro a partir das reservas macrofágicas do sistema reticuloendotelial — e sua subsequente inserção segura na apotransferrina — é funcionalmente dependente da ação contínua desta enzima.

A família das mcos: hefaestina e zyklopen

O princípio ferroxidase é replicado em outras barreiras sistêmicas críticas pela família evolutiva das oxidases multicobre (*multicopper oxidases*, mcos). Na membrana basolateral do enterócito duodenal, a proteína de membrana hefaestina realiza tarefa análoga à da cp

hepática. O efluxo do ferro dietético recém-absorvido para a circulação portal só se concretiza pela oxidação prévia catalisada pela hefaestina^{6–8} na interface materno-fetal, o homólogo zyklopen assume idêntica regulação. Deficiências puramente dietéticas de cobre em modelos murinos suprimem agudamente a expressão de hefaestina; nestes cenários, o ferro atinge o epitélio intestinal, mas colapsa no transporte transmembrana basolateral, precipitando anemia ferropriva refratária de origem cupro-cêntrica¹⁴.

Cobre sérico total, cobre funcional e a razão cu:cp

A abordagem diagnóstica não-fundamentada em marcadores funcionais rotineiramente falha ao interpretar a homeostase mineral apoiando-se unicamente nas concentrações séricas totais do elemento. O cobre funcional expressa exclusivamente aquele contido no cerne covalente do complexo da holoceruloplasmina e capaz de desempenhar papel enzimático. A mensuração clínica contemporânea propõe a razão cu:cp (μg de cu total divididos por mg de cp imunorreativa). Fisiologicamente, postula-se o limite de 3:1. Valores crônicos superiores a 3 apontam fração expansiva de cobre não-ceruloplasmínico (ncc) — frouxamente ligado a albumina, transcureína e peptídeos de baixo peso molecular —, sinalizando risco aumentado de toxicidade oxidativa, comum em quadros neurodegenerativos^{94,108}.

Padrão diagnóstico problemático da apoceruloplasmina

Sob estresse metabólico ou inflamatório sistêmico (mediado por il-1 β e il-6), o fígado promove rápida amplificação da transcrição gênica e secreção de ceruloplasmina, validando sua classificação como proteína de fase aguda^{110–112}. no entanto, a incorporação intracelular de cobre requerida para a montagem funcional da enzima pode estar estagnada, frequentemente resultando na liberação maciça de apoceruloplasmina — a forma polipeptídica desprovida de cobre e, portanto, enzimaticamente inerte.

A armadilha reside em interpretar um painel laboratorial de cp imunorreativa dentro (ou acima) dos níveis de normalidade estatística como atestado de homeostase saudável do cobre. Apenas a constatação inequívoca da atividade oxidásica específica — raramente solicitada ou padronizada internacionalmente — evidencia a disponibilidade funcional desse metal crítico¹¹¹ a captação celular do cobre transportado pela ceruloplasmina ocorre, ademais, por mecanismos específicos. Estes envolvem proteínas de superfície celular e a internalização endocítica do complexo cp–cobre, conforme caracterizado por Ramos *et al.* (2016)⁹⁹ e Tellez *et al.* (2022)¹⁰⁰ tais mecanismos reforçam que a cp não atua apenas como ferroxidase, mas também como reservatório dinâmico e distribuidor sistêmico de cobre funcional aos tecidos periféricos.

A Tabela 1 sintetiza, em panorama integrado, as principais cuproenzimas humanas — algumas das quais

serão detalhadas nas seções subsequentes deste artigo.

Tabela 1. Panorama das principais cuproenzimas humanas, sua territorialidade subcelular e escopo funcional.

Cuproenzima	Localização biológica / tecidual	Mecanismo e função principal	Refs.
Ceruloplasmina (Cp)	Plasma (síntese hepatocitária predominante)	Ferroxidase plasmática mestra; oxida $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$; garante efluxo de macrófagos e mobilização sistêmica.	1-5, 110, 111
Hefestina	Membrana basolateral dos enterócitos	MCO ferroxidase dedicada ao efluxo transmembrana de ferro recém-absorvido no duodeno.	6-8
Citocromo c oxidase (Complexo IV)	Membrana interna mitocondrial	Etapa terminal da cadeia de elétrons; redução de O_2 sem radicais, acoplada à força próton-motriz.	23-26
Superóxido dismutase 1 (Cu/Zn SOD)	Citosol e espaço intermembranar mitocondrial	Tamponamento primário antioxidante intracelular (dismuta $O_2^{\cdot-} \rightarrow H_2O_2$).	25
Superóxido dismutase 3 (EC-SOD)	Matriz extracelular / superfície endotelial	Proteção do endotélio vascular contra superóxido e modulação de óxido nítrico.	25
Lisil oxidase (LOX)	Matriz extracelular e tecido conjuntivo	Crosslinking estrutural das fibrilas de colágeno e elastina dos tecidos vasculares e ósseos.	81-84
Tirosinase	Melanossomos cutâneos	Oxidação inicial da tirosina na biossíntese da melanina (fotoproteção).	86
Dopamina-β-hidroxilase (DBH)	Lúmen de vesículas neurosecretoras (SNC / adrenal)	Hidroxilação da dopamina para formação de noradrenalina.	67
Peptidilglicina α-amidante (PAM)	Sistema de endomembranas e grânulos secretores	Amidação C-terminal estereoespecífica indispensável à bioatividade de >50% dos peptídeos sinalizadores.	66-70

Fonte: os Autores.

A ENZIMA PAM E A AMIDAÇÃO C-TERMINAL ESPECÍFICA

Organização molecular dos domínios PHM e PAL

Embora amplamente ausente nos debates rotineiros da endocrinologia, a peptidilglicina α-amidante monooxigenase (PAM) desempenha papel de regulador basilar. Expressa a partir de um único transcrito no cromossomo 5q14-q21 humano, a PAM atua ancorada à membrana das vesículas do aparelho secretor. Funciona por meio de dois domínios sequenciais altamente

funcionalmente acoplados, ou seja, cataliticamente integrados: PHM e PAL^{66,67}.

O núcleo catalítico inicial é o domínio PHM (peptidilglicina α-hidroxilante monooxigenase), que exhibe dependência absoluta de dois íons de cobre. Estes ocupam dois sítios distintos: o centro **CuH** (coordenado por três resíduos de histidina) e o centro **CuM** (coordenado por duas histidinas, uma metionina e uma molécula de água axial), separados estruturalmente por aproximadamente 11 Å. Na presença concomitante de ascorbato (como doador essencial de equivalentes redutores) e oxigênio molecular, a PHM hidroxila estereoespecificamente o carbono alfa da glicina C-terminal do substrato polipeptídico pro-hormonal. Segue-se a ação do domínio adjacente PAL (peptidil-α-hidroxiglicina α-amidante liase), de natureza enzimática não dependente de cobre, que cliva, rompendo a ligação carbono-nitrogênio, liberando a estrutura amida (-NH₂) no peptídeo terminal liberando o peptídeo C-terminalmente amidado (-CONH₂) e gerando glioxilato como subproduto^{67,69}.

Impacto sistêmico: a biologia de mais de 50% dos peptídeos sinalizadores

As repercussões da deficiência funcional da PAM são sistêmicas e profundas. Análises moleculares contemporâneas estimam que mais da metade dos aproximadamente 4.700 peptídeos sinalizadores endógenos catalogados requerem essa finalização C-terminal de grupo amida promovida pela PAM. A modificação não se restringe à estabilidade estrutural contra a degradação por exopeptidases, mas determina também a afinidade do ligante pelos receptores acoplados à proteína G nas membranas-alvo⁶⁸⁻⁷⁰. Sem cobre funcional, a orquestração peptídica é comprometida, e os peptídeos permanecem como pró-formas inativas.

Conexões clínicas transversais

Pela amplitude sistêmica de seus alvos (ver Tabela 2), a deficiência de cobre se manifesta como um conjunto heterogêneo de manifestações clínicas em virtude do silenciamento funcional imposto à enzima PAM:

- **Metabolismo glicêmico e obesidade:** Bousquet-Moore *et al.* (2009)⁶⁸ documentaram, em modelos murinos, que estados de deficiência de cobre desencadeiam insuficiência severa na amidação peptídica. A falha afeta diretamente o GLP-1, reduzindo a secreção insulínica pelas células β-pancreáticas e estabelecendo substrato metabólico para o diabetes mellitus tipo 2^{71,76}.
- **Hemodinâmica e disfunção ventricular:** os peptídeos natriuréticos (ANP atrial e BNP ventricular) exigem o maquinário amidador. Sua interrupção biológica predispõe a quadros de retenção volêmica e remodelamento miocárdico patológico, corroborando a tese, originalmente formulada por Klevay²⁷⁻³⁰, da centralidade da deficiência de cobre na etiologia das

doenças vasculares.

- Barreiras e defesa imune: as α -defensinas e a catelicidina LL-37 humana exigem amidação C-terminal para plena bioatividade^{67,69}. Sua paralisação favorece suscetibilidade imunológica aumentada nos perfis de desnutrição mineral funcional.

Tabela 2. Substratos representativos sinalizadores dependentes da amidação C-terminal coordenada pela cuproenzima PAM.

Eixo fisiológico alvo	Hormônio / neuropeptídeo C-amidado	Expressão fisiológica e função	Refs.
Neuro-hipófise e eixo social	Ocitocina, vasopressina	Contratilidade miometrial, ejeção láctea, comportamento materno/social e antidiurese osmótica.	66–68
Eixo hipotálamo-tireoide	TRH (hormônio liberador de tireotrofina)	Gatilho neuroendócrino para o estímulo de TSH e regulação do metabolismo basal.	67, 69
Homeostase óssea / mineral	Calcitonina	Ação hipocalcemiante imediata, inibindo a reabsorção óssea pelos osteoclastos.	67, 70
TGI e sinalização incretínica	Gastrina, CCK, GLP-1 e GLP-2	Secreção ácido-clorídrica gástrica, motilidade e esvaziamento biliar; estímulo incretínico pós-prandial da secreção insulínica.	68, 71, 76
Modulação pancreática	Amilina (IAPP)	Regulação supressora do esvaziamento gástrico e limitação da secreção de glucagon.	68, 71
Hemodinâmica cardiovascular	ANP, BNP	Vasodilatação sistêmica, natriurese, inibição do eixo renina-angiotensina-aldosterona e modulação do remodelamento miocárdico.	27–30, 68
Eixos nociceptivos e tróficos	Substância P, β -endorfina, CGRP, NPY, α -MSH	Modulação da percepção algica, vasodilatação neurogênica periférica, controle do apetite e pigmentação cutânea.	67, 69, 70
Imunidade inata de mucosas	α -defensinas, catelicidina LL-37	Lise membranar direta de patógenos bacterianos nos epitélios intestinal, respiratório e cutâneo.	67, 69

Fonte: os Autores.

A HIPÓTESE DA “FERRITINA-ZERO” E A REINTERPRETAÇÃO SISTÊMICA

Ferritina circulante como assinatura de apoptose e vazamento celular

O paradigma clínico majoritário repousa no axioma de que as dosagens séricas de ferritina correspondem a medida fiel dos estoques disponíveis do mineral no sistema mononuclear-fagocitário (SMF), também conhecido por sistema retículo endotelial. Esta proteína

singular agrupa 24 subunidades em proporções variáveis entre cadeias H (heavy, com atividade ferroxidase intrínseca) e L (light, especializada em nucleação), com capacidade de abrigar e cristalizar até ~4.500 átomos de ferro em sua cavidade central, funcionando como compartimento intracelular de armazenamento. No entanto, pesquisas lideradas pela biologia de sistemas — sob a égide notória de Douglas B. Kell e Ethersia Pretorius — sinalizam que as células íntegras não possuem mecanismos fisiológicos dedicados à exocitose maciça de ferritina ao plasma. O enriquecimento da ferritina no soro constitui expressão material inequívoca do vazamento (*leakage*) e liberação passiva gerados por lise e injúria das membranas^{113,117}.

A hipótese IDDM (Iron Dysregulation and Dormant Microbes) e a inflamação crônica mascarada

Corolário particularmente provocativo desta reapreciação encontra-se na hipótese IDDM, delineada por Kell. O sequestro mal conduzido do ferro lábil em microambientes inflamatórios fornece substrato nutritivo para agentes intracelulares atípicos e dormentes (fungos oportunistas e vírus latentes). Este cenário sustenta a ativação subclínica e crônica de cascatas imunes intermitentes e silenciosas — traço subjacente a grande parte dos quadros reumáticos, vasculopatias degenerativas e síndromes pós-infecciosas persistentes (incluindo a síndrome pós-COVID-19)¹¹⁵.

Lactoferrina versus ferro lábil

Em contraposição ao papel patológico da ferritina extravasada, a lactoferrina exerce função fisiológica pleiotrópica — notável glicoproteína quelante encontrada em colostro e secreções de mucosas. Kell e colaboradores defendem o potencial terapêutico da suplementação de lactoferrina, que, ao sequestrar o ferro lábil patogênico, sem induzir cascatas de Fenton diretas, reduziria a replicação microbiana atrelada à virulência de síndromes respiratórias e quadros sistêmicos agudos^{115,116}.

A faixa de referência laboratorial vigente para ferritina sérica: reapreciação crítica necessária

A definição estatística da ferritina sérica merece reapreciação metodológica criteriosa. Os intervalos de referência atualmente utilizados na prática clínica — tipicamente 15–300 ng/mL em mulheres e 15–400 ng/mL em homens — derivam, em sua origem histórica, de populações de referência que, sob escrutínio contemporâneo, não podem ser consideradas verdadeiramente saudáveis. A revisão sistemática de Garner *et al.* (2024)¹²⁰, demonstrou que o limite inferior frequentemente adotado (≥ 15 $\mu\text{g/L}$) carece de fundamento fisiológico robusto. Valores abaixo de 30 $\mu\text{g/L}$ já se associam, consistentemente, a depleção tecidual significativa de ferro. Cançado *et al.* (2025)¹²¹ argumentaram pela necessidade de redefinição global

dos limiares de ferritina, considerando que a interpretação atual gera tanto sub- quanto sobrediagnóstico de deficiência de ferro em diferentes contextos clínicos.

DePalma, Hayes e O'Leary (2021)¹¹⁹ — em revisão publicada na *Metalomics*, periódico que abrigou a tese original de Kell — sugerem benefícios mensuráveis de uma faixa de referência mais estreita e inferior. Os autores argumentam que valores comumente aceitos como "normais" frequentemente refletem inflamação subclínica, e não verdadeira reserva fisiológica. Dignass, Farrag e Stein (2018)¹²² demonstraram que, em pacientes com insuficiência cardíaca, doença renal crônica e doença inflamatória intestinal, ferritinas séricas até 100 µg/L são compatíveis com deficiência funcional de ferro. Khan *et al.* (2016)¹²³ documentaram em coorte de sobrepeso e obesidade que a ferritina elevada reflete inflamação metabólica e não estoque útil de ferro. Moreira *et al.* (2020)¹²⁴ consolidaram a ferritina como ator inflamatório central nas interações patógeno-hospedeiro. Page, Kell e Pretorius (2022)¹²⁵ aprofundaram a tese, demonstrando que o lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) induz cascatas de sinalização que mantêm a ferritina sérica cronicamente elevada como marcador de inflamação subclínica persistente, mesmo na ausência de infecção franca.

Sob esta luz, defende-se uma faixa de normalidade laboratorial substancialmente inferior à vigente. Tal proposição alinha-se à recomendação clínica de Morley Robbins, que estabelece o intervalo de 20–50 ng/mL como alvo prudencial. Dialoga, ademais, com a tese de Kell^{113,114,115,117,118} da "ferritina-zero" como horizonte fisiológico teórico. Não se trata de propor que toda ferritina detectável seja patológica. Trata-se, antes, de reconhecer que a faixa de normalidade estatística atualmente empregada foi calibrada em populações cronicamente expostas a fatores inflamatórios de baixo grau — alimentação industrializada, sedentarismo, estresse oxidativo ambiental e microbiota disbiótica. Esse viés metodológico eleva sistematicamente o teto da "normalidade". Em consequência, ferritinas séricas entre 100 e 300 ng/mL — frequentemente reportadas como "normais" em laudos laboratoriais — devem ser observadas com suspeita epidemiológica e investigação complementar de marcadores inflamatórios e de cobre funcional.

Dialética terapêutica: Kell e Robbins diante da ferritina ótima

Sustentado por rigor fisiopatológico celular, Kell enuncia que o marcador sérico de ferritina deveria aproximar-se do zero teórico; a carência desse sinal inflamatório refletiria integridade das membranas celulares.¹¹⁷ Entretanto, visando o manuseio clínico cotidiano sem precipitar riscos à eritropoiese, o protocolo nutricional de Robbins propõe uma convergência conciliatória. Admite-se que níveis entre 20 e 50 ng/mL preservam suprimento satisfatório à medula óssea eritropoiética, ao mesmo tempo em que atenuam o risco de sobrecarga tecidual. Em

contraposição, os limites hematológicos convencionais que aceitam valores de 300 ng/mL ou 400 ng/mL como "estoque normal" merecem cautela crítica, enquadrando-se majoritariamente no âmbito de síndromes hiperferritinêmicas subclínicas¹¹³.

Articulação com as Marcas do Envelhecimento (Hallmarks of Aging): o ferro lábil como fator contribuinte central nos processos de senescência celular

O Quadro conceitual dos *Hallmarks of Aging*, organizado por López-Otín *et al.* (2023)^{39,40} colaboradores, convergem com esta premissa. Maus *et al.* (2023)³⁸ demonstraram que o acúmulo tissular de ferro lábil induz reprogramação transcriptômica e consolida mecanisticamente os processos de fibrose e senescência, conduzindo as células ao fenótipo SASP (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*). O ferro bioenergeticamente indisponível precipita o colapso celular, assumindo escopo patogênico — não apenas refletindo a velhice, mas, sobretudo, causando-a^{38–40}.

O ENTORNO BIOQUÍMICO: COFATORES PRIMORDIAIS NA CUPROBIOLOGIA

O cobre transcende sua função de agente metálico isolado, operando dentro de uma rede de cofatores que regulam sua biodisponibilidade e contêm suas tendências redox espontâneas. Esta seção examina, sequencialmente, seis cofatores essenciais para a cuprobiologia funcional: retinol pré-formado, magnésio, ascorbato, glutatona, melatonina e a tetrade D₃-Mg-retinol-K₂.

Retinol pré-formado e a limitada conversão dos carotenoides provitamínicos A

O ácido retinoico (forma ativa da vitamina A) constitui a molécula reguladora-chave para a indução transcricional das ATPases e chaperonas hepáticas envolvidas no transporte e na compartimentalização do cobre. Os modelos experimentais sinalizam inequivocamente que o ácido retinoico modula a transcrição gênica de proteínas envolvidas no transporte do cobre — incluindo a ATPase de efluxo ATP7A, responsável pelo transporte basolateral do cobre nos enterócitos (sua deficiência genética causa a Doença de Menkes, detalhada na Seção "CUPROPTOSE E DOENÇAS DA HOMEOSTASE DO COBRE").

Adicionalmente, o ácido retinoico favorece a incorporação adequada de cobre na apoceruloplasmina, gerando holoceruloplasmina funcional. A deficiência crônica de vitamina A pré-formada, comum em dietas pobres em gorduras animais, traduz-se em comprometimento subclínico da mobilização e da remobilização do ferro estocado^{51–56}.

Magnésio: estabilizador indissociável da matriz energética

A engenharia termodinâmica celular repousa sobre a funcionalidade do nucleotídeo ATP; praticamente toda sua reserva intracelular encontra-se sob a forma de

quelato com magnésio (complexo Mg-ATP). As bombas iônicas e as cinases dependentes de ATP requerem este complexo Mg-ATP para sua atividade catalítica. A insuficiência de magnésio intracelular — frequentemente associada à depleção mineral dos solos agrícolas contemporâneos — compromete simultaneamente a modulação anti-inflamatória do sistema imune, conforme apontado por DiNicolantonio e O'Keefe (2021)⁶⁰ e demais autores⁶¹⁻⁶⁵.

Ascorbato e sua dupla face: cofactor antioxidante e potencial pró-oxidante

Conforme demonstrado por Albert Szent-Györgyi em meados do século XX, o ácido ascórbico proveniente de matrizes alimentares integrais atua em sinergia com o complexo de bioflavonoides (originalmente designado "fator P") e com cuproenzimas como a tirosinase. A suplementação isolada em altas doses de ácido ascórbico sintético, em contrapartida, pode comportar-se como pró-oxidante na interface extracelular, promovendo a redução de Cu^{2+} a Cu^+ não-ceruloplasmínico e catalisando cascatas de injúria vascular^{105-107,109}. A definição do limiar superior de dose suplementar exige ponderação metodológica cuidadosa na prática clínica.

Glutathiona: defesa antioxidante e tamponamento do cobre intracelular

Conforme demonstrado por Freedman, Ciriolo e Peisach (1989)¹⁰¹, a glutathiona (GSH) atua como primeiro ligante citosólico do cobre recém-internalizado. Imediatamente após a entrada celular do cobre univalente (Cu^+) pelo transportador de membrana Ctr1, este tripeptídeo (γ -glutamil-cisteinil-glicina) forma complexos transitórios com o metal.

Mantém-se assim o cobre em forma quimicamente segura até a entrega às metalochaperonas específicas (ATOX1, CCS, COX17). A depleção basal de GSH compromete essa proteção, predispondo ao acúmulo de cobre lábil redox-ativo no citosol — fração cataliticamente disponível para a geração de espécies reativas de oxigênio via reações de Fenton e Haber-Weiss.

Melatonina: sentinela endógena de nicho mitocondrial

Conforme caracterizado pelos trabalhos de Reiter *et al.* (2016)¹⁰² e Reiter *et al.* (2017)¹⁰³, a melatonina transcende suas conhecidas funções circadianas pineais, apresentando acúmulo intramitocondrial expressivo — e, Segundo modelos contemporâneos, possível síntese local nas próprias mitocôndrias.

Sua ação antioxidante opera primariamente pela neutralização direta do radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$) gerado nas membranas mitocondriais — mecanismo particularmente relevante na proteção contra o dano oxidativo cobre-mediado, conforme demonstrado por Parmar *et al.* (2002)¹⁰⁴. A preservação do sono fisiológico e do ritmo circadiano constitui componente fundamental da resiliência antioxidante mitocondrial.

Vitamina D₃ e a tétrade D₃-magnésio-

retinol-K₂: uma divergência respeitosa com Robbins

A vitamina D₃ (colecalfiferol), embora classicamente associada à homeostase do cálcio e do fósforo, é hoje compreendida como **hormônio esteroide pleiotrópico**, com funções estabelecidas na modulação imunológica, na saúde óssea, na regulação da inflamação sistêmica e na expressão de centenas de genes via receptor VDR⁵⁵⁻⁵⁹. Sua hidroxilação hepática (25-hidroxilação) e renal (1 α -hidroxilação) é absolutamente dependente de magnésio como cofator catalítico, e sua ação fisiológica plena requer presença equilibrada de retinol e de vitamina K₂ — esta última responsável pela carboxilação da osteocalcina e da matrix-Gla-protein, redirecionando o cálcio para a matriz óssea e prevenindo sua deposição vascular ectópica^{51-54,60-65}.

Neste ponto, cabe registrar uma **divergência respeitosa** com a posição assumida por Robbins no *Root Cause Protocol*. Sua crítica às megadoses de D₃ isolada possui fundamento bioquímico parcial. É correto afirmar que a vitamina D ativa depende de magnésio em todas as suas etapas de hidroxilação. Sua suplementação sem retinol e vitamina K₂, por sua vez, pode produzir efeitos paradoxalmente deletérios: depleção de magnésio, calcificação vascular ectópica e desequilíbrio do eixo cálcio-fósforo⁶⁰⁻⁶⁵. A suplementação isolada de D₃ em altas doses, desacompanhada dos cofatores correspondentes, configura prática bioquimicamente desaconselhável.

A generalização dessa crítica à própria suplementação adequada de D₃, contudo, encontra menos respaldo na literatura contemporânea. A evidência epidemiológica acumulada sobre desfechos imunológicos, ósseos, oncológicos, cardiovasculares e metabólicos sustenta a recomendação de manutenção dos níveis séricos de 25(OH)D em quartis superiores da faixa de suficiência, desde que sempre acompanhada de seus cofatores naturais — sobretudo magnésio biodisponível, retinol pré-formado e vitamina K₂ (preferencialmente menaquinona-7)^{55-59,60-65}. Esta posição preserva o que há de cientificamente sólido na crítica de Robbins — a inadequação da suplementação isolada — sem estender tal crítica à própria adequação fisiológica da vitamina D.

Pelos motivos expostos, optou-se por **não incluir o 25(OH)D no painel laboratorial proposto na Tabela 4**, uma vez que os pontos de corte sugeridos pelo *Root Cause Protocol* divergem daqueles adotados pela posição editorial deste manuscrito. A avaliação do status de vitamina D, embora clinicamente relevante, deve ser interpretada em conjunto com o status de seus cofatores e à luz dos quadros clínicos individuais, em painel laboratorial complementar e distinto daquele dedicado especificamente à avaliação funcional do eixo cobre-ferro.

Cabe ao leitor sopesar criticamente as evidências disponíveis e formar juízo próprio sobre este ponto específico — exercício de prudência que, longe de enfraquecer a síntese aqui proposta, exemplifica o

princípio epistemológico de que teses científicas robustas amadurecem no diálogo com a crítica.

CUPROPTOSE E DOENÇAS DA HOMEOSTASE DO COBRE

Cuproptose: um novo paradigma de morte celular

Descrita por Tsvetkov *et al.* (2022)¹²⁵, a cuproptose constitui uma via de morte celular regulada, distinta da apoptose, necrose, autofagia e ferroptose. Seu mecanismo envolve a ligação direta do cobre a proteínas lipoiladas, sobretudo a di-hidrolipoamida S-acetiltransferase (DLAT), componente do complexo piruvato desidrogenase na matriz mitocondrial. Essa interação induz agregação proteica anômala e proteotoxicidade letal. A ferredoxina-1 (FDX1) atua como mediador-chave em dois eixos: (1) reduz Cu^{2+} a Cu^+ — forma capaz de ligar-se diretamente às proteínas lipoiladas — e (2) é essencial para a própria lipoilação proteica, condição necessária à agregação proteotóxica da DLAT^{30,96}. Tumores OXPHOS-dependentes (com fenótipo metabólico oxidativo) — em contraste aos predominantemente glicolíticos — apresentam suscetibilidade aumentada à indução farmacológica de cuproptose por ionóforos de cobre como o elesclomol. Abre-se, assim, uma fronteira oncológica promissora, sujeita, contudo, à dualidade bioquímica inerente ao cobre: terapêutico quando direcionado, deletério quando descontrolado.

Doença de Menkes (ATP7A)

Com incidência aproximada de 1:100.000 a 1:300.000 nascimentos masculinos vivos, e herança recessiva ligada ao cromossomo X, a Doença de Menkes manifesta-se entre o segundo e o terceiro mês de vida. As manifestações clínicas incluem hipotonia profunda, convulsões refratárias, regressão neurológica e o patognômico cabelo encaracolado, quebradiço e despigmentado (*kinky hair* / pili torti) — sinal direto da falência da lisil oxidase no folículo capilar⁸¹⁻⁸⁴. O defeito molecular reside no gene ATP7A, responsável pelo efluxo basolateral do cobre dos enterócitos para a circulação portal e por sua distribuição sistêmica subsequente: o metal entra no enterócito, mas não alcança os tecidos periféricos. Sem intervenção precoce com histidinato de cobre subcutâneo, o óbito ocorre tipicamente até os três anos de idade^{85,95}.

A revisão emblemática de Kaler (2011)¹²⁶ na *Nature Reviews Neurology* consolidou o espectro fenotípico das doenças relacionadas a ATP7A — desde a forma clássica de Menkes (letal aos três anos), passando pela síndrome do corno occipital, até a neuropatia motora distal de início adulto recentemente descrita. Tümer e Möller (2010)¹²⁷ catalogaram mais de 350 mutações distintas em ATP7A. A revisão sistemática e diretriz baseada em evidência de Vairo *et al.* (2019)¹²⁸ publicada em *Molecular Genetics and Metabolism*, estabeleceu que o tratamento precoce com histidinato de cobre subcutâneo — idealmente nas primeiras quatro semanas de vida — pode atenuar parcialmente a degeneração neurológica.

Kaler (2013)¹²⁹, em capítulo dedicado do *Handbook of Clinical Neurology*, sistematizou os erros inatos do metabolismo do cobre, posicionando Menkes como o paradigma clínico mais eloquente da centralidade fisiológica deste metal.

A Doença de Menkes funciona, portanto, como experimento natural paradigmático que valida a tese central deste artigo — o cobre não é oligoelemento acessório, mas pilar fundamental da bioenergética humana. Sua privação funcional, ainda que parcial e crônica — como ocorre na cuprodeficiência funcional subclínica do adulto contemporâneo —, reproduz em escala atenuada o que Menkes revela em escala dramática. Observa-se o colapso progressivo das cuproenzimas-chave: ceruloplasmina, citocromo c oxidase, lisil oxidase, dopamina- β -hidroxilase, PAM e SOD. Com elas, comprometem-se as próprias capacidades fundamentais do organismo: respirar, mobilizar ferro, sintetizar matriz conjuntiva, neurotransmitir e sinalizar peptidicamente.

Doença de Wilson (ATP7B)

Com prevalência aproximada de 1:30.000 e herança autossômica recessiva, a Doença de Wilson decorre de mutações no gene ATP7B. Tais mutações impedem simultaneamente dois processos críticos: a incorporação adequada do cobre na ceruloplasmina hepática e a excreção biliar do excesso de cobre. O resultado é o acúmulo progressivo de cobre não-ceruloplasmínico (NCC) no fígado e no sistema nervoso central. Este acúmulo expressa-se clinicamente como cirrose hepática progressiva, hemólise Coombs-negativa, sintomas neuropsiquiátricos, parkinsonismo de início precoce e os clássicos anéis de Kayser-Fleischer (depósitos corneanos na membrana de Descemet)^{92,93}. O tratamento envolve quelantes orais (D-penicilamina, trientina, tetratiomolibdato) e acetato de zinco — este último induz a síntese intestinal de metalotioneína, que sequestra preferencialmente o cobre dietético no enterócito e, assim, limita sua absorção sistêmica.

Complementarmente, recomenda-se dieta com restrição de alimentos ricos em cobre — fígado, frutos do mar, cacau, castanhas e cogumelos — particularmente nos primeiros anos de tratamento. Em casos avançados, com hepatite fulminante ou cirrose descompensada, o transplante hepático constitui terapêutica curativa.

A primeira vista paradoxal, mas conceitualmente coerente, a Doença de Wilson não invalida a tese central deste artigo — ao contrário, confirma que cobre desvinculado de seu ancoramento proteico fisiológico é igualmente catastrófico, reforçando o princípio fundamental: a função fisiológica do cobre depende estritamente de seu ancoramento enzimático adequado. A Doença de Menkes e a Doença de Wilson representam, assim, os dois polos do mesmo princípio — a primeira pela ausência funcional sistêmica (deficiência de holoceruloplasmina e demais cuproenzimas), a segunda pelo descontrole tóxico tecidual (acúmulo de cobre não-ceruloplasmínico). Em

ambos os casos, o que falha não é a quantidade de cobre, mas seu ancoramento proteico fisiológico.

Tabela 3. Comparação patofisiológica entre as síndromes genéticas paradigmáticas do metabolismo do cobre (Menkes vs. Wilson).

Característica	Doença de Menkes	Doença de Wilson
Gene / proteína	ATP7A (efluxo intestinal e sistêmico)	ATP7B (incorporação do cobre na ceruloplasmina hepática e excreção biliar)
Herança	Recessiva ligada ao X	Autossômica recessiva
Incidência	~1:100.000 – 1:300.000 nascimentos masculinos vivos	~1:30.000
Fisiopatologia	Cobre entra no enterócito, mas não alcança a circulação sistêmica; deficiência tecidual profunda e generalizada.	Cobre chega ao fígado, mas não é incorporado à Cp nem excretado na bile; toxicidade hepatocerebral progressiva.
Ceruloplasmina sérica	Extremamente baixa ou ausente	Baixa (falha de incorporação do cobre na holoceruloplasmina)
Manifestações	Degeneração neuroaxial rápida, cabelo encaracolado e quebradiço (pili torti), hipotermia, convulsões refratárias, óbito tipicamente antes do terceiro ano de vida. Espectro fenotípico inclui síndrome do corno occipital (forma atenuada) e neuropatia motora distal do adulto. ^{126, 127, 129}	Cirrose hepática progressiva, hemólise Coombs-negativa, anéis de Kayser-Fleischer (depósitos corneanos na membrana de Descemet), sintomas psiquiátricos e parkinsonismo de início precoce.
Tratamento	Histidinato de cobre subcutâneo precoce (idealmente <4 semanas de vida) — eficácia parcial; sem cura definitiva. ^{128, 129}	Quelantes orais (D-penicilamina, trientina, tetratiomolibdato); acetato de zinco (indutor de metalotioneína intestinal; transplante hepático em casos avançados ou hepatite fulminante).
Referências	81–85, 95, 126–129	92, 93

Fonte: os Autores.

Cuprodeficiências funcionais em doenças complexas

• **Aterosclerose:** Leslie M. Klevay propôs, desde os anos 1980, que a doença coronariana é, em essência, uma doença carencial — especificamente de cobre.²⁷⁻²⁹ O mecanismo é múltiplo: a deficiência funcional da lisil oxidase (LOX), secundária à carência de cobre, compromete o *crosslinking* (ligações cruzadas ou reticulação) entre as fibras de elastina da parede aórtica, predispondo a aneurismas e à rigidez arterial; a inatividade funcional da SOD3 (forma extracelular da

superóxido dismutase) expõe o endotélio ao estresse oxidativo. Li *et al.* (2025)³⁰ integraram a cuproptose à fisiopatologia aterosclerótica contemporânea. Fowler *et al.* (2011)³¹ demonstraram que a eficácia das estatinas é modulada pelo equilíbrio cobre-zinco.

• **Diabetes mellitus tipo 2:** o desequilíbrio mineral (excesso de Cu não-ceruloplasmínico, zinco elevado, magnésio baixo) tipicamente precede a instalação da resistência insulínica clínica⁷¹⁻⁷³. A via dos polióis é exacerbada pelo estresse oxidativo cobre-ferro⁷⁴⁻⁷⁶, e a falha da PAM na amidação do GLP-1 compromete sua bioatividade incretínica e, consequentemente, o estímulo pós-prandial à secreção insulínica.

• **Neurodegeneração:** o acúmulo de ferro lábil em substância negra (Parkinson), hipocampo (Alzheimer) e estriado — (Huntington) está bem documentado^{34,118}. Paralelamente, Squitti *et al.* (2016)⁹⁴ documentaram cobre não-ceruloplasmínico elevado em pacientes com Alzheimer. Atamna *et al.* (2002)³⁴ propuseram a deficiência de heme mitocondrial como denominador comum do decaimento mitocondrial e neuronal associado ao envelhecimento.

FATORES CONTEMPORÂNEOS DE DEPLEÇÃO MINERAL FUNCIONAL

Glifosato: o quelante mineral de amplo impacto ambiental

Originalmente patenteado em 1964 como agente quelante mineral para aplicações industriais (descalcificação de tubulações), o glifosato foi reposicionado, na década de 1970, como herbicida de amplo espectro pela Monsanto. Sua estrutura química como N-(fosfometil) glicina confere afinidade de quelação por cátions di e trivalentes essenciais em culturas alimentares — particularmente magnésio (Mg²⁺), manganês (Mn²⁺), ferro (Fe²⁺/Fe³⁺), zinco (Zn²⁺) e cobre (Cu²⁺)^{77,78}. Samsel & Seneff (2015)⁷⁹ propuseram que a quelação crônica do manganês estaria implicada em distúrbios neurológicos contemporâneos, enquanto Harris *et al.* (2012)⁸⁰ caracterizaram, por modelagem química computacional, a forte interação do glifosato com íons metálicos no floema. Cabe ressaltar que parte substancial dessa evidência ainda se baseia em modelos *in vitro* e *in silico*, com a extrapolação epidemiológica direta em humanos em curso de validação.

Suplementação isolada de zinco e a indução de hipocupremia funcional

A suplementação isolada e prolongada de zinco em altas doses — tipicamente acima de 40 mg/dia, conforme o limite superior tolerável estabelecido pelo *Institute of Medicine* — popularizada em contextos de prevenção viral, induz acentuada síntese intestinal de metalotioneína. Esta proteína apresenta afinidade aproximadamente 50 vezes maior pelo Cu⁺ do que pelo Zn²⁺, sequestrando o cobre dietético no enterócito. Com o turnover natural do epitélio intestinal (renovação a cada 3–5 dias), o cobre ligado à metalotioneína é eliminado nas fezes, bloqueando sua disponibilização

sistêmica^{86,87}.

A razão sérica Zn:Cu em adultos saudáveis aproxima-se de 1,0, com faixa funcional ótima estimada entre 0,8 e 1,0, conforme parâmetros propostos pela nutrologia funcional contemporânea. Valores sustentadamente acima de 1,3 sinalizam hipocupremia funcional, com comprometimento da atividade catalítica das cuproenzimas críticas (ceruloplasmina, citocromo c oxidase, lisil oxidase, superóxido dismutase, PAM, entre outras).

Clinicamente, a hipocupremia induzida pelo zinco pode manifestar-se com a tríade descrita por Wazir e Ghobrial¹³: anemia refratária à reposição de ferro, leucopenia/neutropenia e mielopatia desmielinizante. Esse quadro é frequentemente diagnosticado de modo tardio em razão de sua semelhança clínica com a deficiência de vitamina B12. A prática nutricional contemporânea deve, portanto, considerar a suplementação cobre-zinco como necessariamente equilibrada, mantendo razão dietética Zn:Cu não superior a 10:1 (conforme parâmetro estabelecido pelo *Root Cause Protocol* de Robbins, detalhado na Seção “*Estratégias nutricionais do Root Cause Protocol: cautela científica*”), em vez do uso isolado de zinco em altas doses.

Frutose adicionada e depleção energética hepática

Dietas com elevada ingestão de frutose adicionada de fontes industriais — particularmente xaropes de milho ricos em frutose (*high-fructose corn syrup*, HFCS) e sacarose em excesso — sobrecarregam o metabolismo hepático. A frutoquinase (ceto-hexoquinase, KHK) não possui regulação por feedback negativo, diferentemente da hexoquinase para a glicose, e fosforila a frutose continuamente em frutose-1-fosfato. Este processo consome ATP em ritmo que excede sua reposição mitocondrial, resultando em rápida depleção do pool de ATP hepático¹³². O acúmulo de AMP resultante é desviado para a via de degradação dos nucleotídeos purínicos (AMP → IMP → hipoxantina → xantina → ácido úrico), gerando hiperuricemia^{133,134}.

O ácido úrico, por sua vez, retroalimenta o processo: estimula a transcrição da própria frutoquinase e induz estresse oxidativo mitocondrial, acelerando a lipogênese hepática *de novo* e a esteatose¹³⁴. Paralelamente, a frutose adicionada compromete diretamente a homeostase cuproférica. O estudo clínico de Harder *et al.* (2020)¹³¹ demonstrou, em humanos, que o consumo de frutose e glicose adicionadas reduz significativamente a atividade ferroxidase da ceruloplasmina, bem como as concentrações séricas de cobre e zinco — sem alteração proporcional da concentração de ceruloplasmina imunorreativa. Este achado é coerente com o conceito de apoceruloplasmina discutido na Seção “*Padrão diagnóstico problemático da apoceruloplasmina*”: o fígado mantém a síntese da proteína, mas o cobre funcional cataliticamente ativo diminui. A revisão mecanística de Song, Vos e McClain (2018)¹³⁰

consolidou as interações cobre-frutose como vetor central na patogênese da doença hepática esteatótica.

O consumo crônico de frutose adicionada em quantidades superiores a 50 g/dia — equivalente a aproximadamente uma a duas latas de refrigerante diárias — tem sido associado a hipocupremia funcional e a dislipidemia aterogênica (hipertrigliceridemia, aumento de VLDL e de partículas LDL pequenas e densas, redução do HDL)^{132,133}. Tal perfil bioquímico configura substrato para a doença hepática esteatótica associada à disfunção metabólica (MASLD, anteriormente NAFLD) e para a resistência insulínica^{130,132}. Em conjunto, a depleção crônica de ATP hepático, a hiperuricemia, a hipocupremia funcional e a dislipidemia aterogênica formam um quadro fisiopatológico convergente. Na perspectiva cuprocêntrica aqui defendida, este quadro representa mais um vetor contemporâneo de comprometimento progressivo e subclínico da homeostase mineral^{73,130,131}.

Estrogênios sintéticos e xenobióticos endócrinos

Estrogênios sintéticos exógenos (utilizados em contraceptivos orais combinados — COCs — e na terapia hormonal de reposição — TRH) induzem a transcrição hepática da ceruloplasmina via ativação de elementos responsivos ao estrogênio no promotor gênico, elevando em 1,5–2× as concentrações séricas de cobre total e de ceruloplasmina imunorreativa^{135,136}. Contudo, essa elevação não se acompanha de aumento proporcional da atividade ferroxidase específica, configurando o que se interpreta como aumento da fração apoceruloplasmínica — fenômeno que mimetiza o padrão observado em estados inflamatórios crônicos^{137,138}.

Disruptores endócrinos ambientais — bisfenol A (BPA), octilfenol, ftalatos e parabenos — têm sido associados a alterações na expressão dos transportadores de cobre. O estudo de Lee *et al.* (2016)¹³⁹ demonstrou, em modelo placentário, que BPA e octilfenol modulam a expressão dos transportadores CTR1, ATP7A e ATP7B, alterando a homeostase materno-fetal do cobre. Os efeitos cumulativos desses xenobióticos sobre a homeostase cuproférica em adultos permanecem em caracterização.

Esse conjunto de fenômenos traduz-se em falha sistemática de diagnóstico diferencial relevante: dosagens de Cp dentro da faixa de normalidade estatística podem mascarar deficiência funcional do metal. Reforça-se, assim, a indicação da razão Cu:Cp e da atividade ferroxidase específica como marcadores funcionais mais fiéis, conforme detalhado na Seção “*Padrão diagnóstico problemático da apoceruloplasmina*” e na Tabela 4^{137,138}.

Suplementação oral de ferro: risco iatrogênico em contextos inflamatórios

O sulfato ferroso administrado em jejum — prática rotineira no manejo da anemia ferropriva — gera ferro luminal não-absorvido que, em contato com a mucosa

intestinal e em presença de peróxido de hidrogênio basal, catalisa reações tipo Fenton na mucosa enterocítica e colônica.^{140, 141} Esse mecanismo promove disbiose intestinal — com redução de bactérias comensais protetoras (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) e expansão de patobiontes enterocoliformes —, ^{142, 143} peroxidação lipídica da mucosa^{140, 141} e elevação documentada do risco relativo de câncer colorretal, conforme meta-análises robustas^{46–50}. Bastide *et al.* (2011)⁴⁸ consolidaram a associação entre ferro heme dietético em excesso e carcinogênese colorretal.

Tabela 4. Pannel laboratorial proposto para avaliação funcional do status cobre–ferro.

Parâmetro	Faixa convencional	Alvo funcional	Interpretação clínica	Refs.
Ferritina sérica	15–300 ng/mL em mulheres; 15–400 ng/mL em homens	20–50 ng/mL (Robbins); ideal próximo de zero (Kell)	>100 ng/mL sugere inflamação ou vazamento celular	41, 113, 117, 119–125
Saturação de transferrina	20–50%	25–35%	<16% indica ferro indisponível; >45% sobrecarga	15, 18, 19, 112
Cobre sérico total	70–140 µg/dL	90–110 µg/dL	Isoladamente pouco informativo; deve ser pareado à Cp	5, 95–98
Ceruloplasmina (imunoreativa)	20–50 mg/dL	25–45 mg/dL	Valores normais sem ferroxidase ativa configuram apoceruloplasmina	1, 4, 5, 110, 111
Atividade ferroxidase da Cp	Sem padronização internacional consolidada	>35% da atividade específica	Marcador funcional de cobre, ainda subutilizado	1, 111, 131
Razão Cu:Cp (µg/mg)	<3	<2,5	>3 sugere cobre não-ceruloplasmínico potencialmente tóxico	94, 108
Magnésio eritrocitário	4,2–6,8 mg/dL	5,5–6,5 mg/dL	Reflete pool intracelular; mais fiel que magnésio sérico	60–65
Razão Zn:Cu sérica	~1,0 (média populacional)	0,8–1,0	>1,3 sugere depleção de cobre por excesso de zinco	86, 87
Retinol sérico	30–80 µg/dL	50–70 µg/dL	Cofator transcricional obrigatório da Cp e ATP7A/B	51–54
Hemograma completo	Padrão	—	Microcitose + leucopenia + neuropatia sugere cuprodeficiência	11–14

Cp: ceruloplasmina; Cu: cobre; Zn: zinco. As faixas convencionais refletem os intervalos de referência laboratoriais habituais; os alvos funcionais foram derivados das proposições de Morley M. Robbins (Root Cause Protocol) e Douglas B. Kell, integradas à literatura bioquímica e clínica revisada. A razão Cu:Cp expressa o cobre sérico total (µg/dL) dividido pela ceruloplasmina imunoreativa (mg/dL); valores acima de 3 sugerem fração não-ceruloplasmínica (NCC) elevada. **Fonte:** os Autores.

Adicionalmente, doses ≥ 60 mg de ferro elementar elevam abruptamente os níveis séricos de hepcidina, reduzindo a absorção das doses subsequentes — paradoxo farmacocinético que tem motivado a transição

para esquemas em dias alternados, com melhor absorção fracionada e menor toxicidade luminal¹⁴⁴. A meta-análise de Tolkien *et al.* (2015)¹⁴⁴ confirmou, ademais, que o sulfato ferroso oral aumenta significativamente os efeitos adversos gastrointestinais em comparação ao placebo.

Sob esta luz, a prescrição de suplementação empírica de primeira linha de ferro em pacientes inflamados constitui intervenção potencialmente iatrogênica, em vez de curativa. Nesses indivíduos, a "anemia" observada frequentemente decorre de sequestro inflamatório do ferro mediado pela hepcidina (Seção “*Diferenciação entre anemia ferropriva absoluta e anemia da inflamação crônica*”), e não de deficiência absoluta do elemento¹¹². Tal observação reforça a centralidade da avaliação cupro-funcional integrada (Seção “*Padrão diagnóstico problemático da apoceruloplasmina*”, Tabela 4) antes da prescrição de ferro em quadros refratários.

IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS

Diferenciação entre anemia ferropriva absoluta e anemia da inflamação crônica

A anemia da inflamação (também denominada anemia da doença crônica) resulta da ação central da hepcidina hepática — induzida por citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 —, que se liga à ferroportina enterocítica e macrofágica, induzindo sua internalização e degradação proteossomal, com conseqüente bloqueio do efluxo de ferro para o plasma. Esse mecanismo opera simultaneamente em três compartimentos: (1) enterócitos duodenais — reduzindo a absorção de ferro novo da dieta; (2) macrófagos do sistema retículo-endotelial — sequestrando o ferro reciclado das hemácias senescentes; e (3) hepatócitos — limitando a mobilização das reservas hepáticas^{15–22, 112}.

Neste cenário, a suplementação de ferro não apenas é ineficaz — pois o ferro absorvido permanece sequestrado — como pode agravar a inflamação subjacente. A diferenciação entre essas duas entidades exige avaliação simultânea de ferritina (interpretada à luz da hipótese de Kell — Seção “*A HIPÓTESE DA “FERRITINA-ZERO” E A REINTERPRETAÇÃO SISTÊMICA*”), saturação de transferrina, proteína C-reativa e, idealmente, dos marcadores cupro-funcionais propostos na Tabela 4. Em pacientes inflamados, conforme detalhado na Seção “*Suplementação oral de ferro: risco iatrogênico em contextos inflamatórios*”, a abordagem cupro-cêntrica recomenda a investigação e correção das causas inflamatórias subjacentes — bem como a restauração da funcionalidade do cobre — antes da prescrição de primeira linha de ferro oral.

Pannel laboratorial proposto: avaliação cobre–ferro funcional

A transição de uma medicina ferro-cêntrica para uma avaliação cupro-integrada exige marcadores mais refinados do que os hoje rotineiramente solicitados. A Tabela 4 apresenta uma proposta integrada que articula

faixas de referência convencionais, alvos funcionais fundamentados na literatura revisada e interpretação clínica orientada à tomada de decisão terapêutica.

Estratégias nutricionais do Root Cause Protocol: cautela científica

As recomendações nutricionais derivadas do *Root Cause Protocol* de Robbins são coerentes com a fisiologia do eixo cobre-ferro revisada nas seções anteriores^{41,113}. Contudo, nenhuma delas foi validada, até o momento, por ensaios clínicos randomizados de larga escala desenhados especificamente para testar o protocolo como intervenção integrada. Devem, portanto, ser apresentadas com o devido equilíbrio entre plausibilidade mecanística e prudência clínica, reservando-se a aplicação individualizada à avaliação por profissional habilitado:

- **Ingestão de cobre dietético entre 2 e 6 mg/dia**, priorizando fontes biodisponíveis como fígado bovino orgânico, ostras, cacau cru e sementes de gergelim^{5,95-98}. Tal faixa situa-se acima do *Recommended Dietary Allowance* atual (0,9 mg/dia para adultos), mas permanece abaixo do *Tolerable Upper Intake Level* de 10 mg/dia estabelecido pelo Institute of Medicine^{97,98}. A escolha por fontes alimentares — em detrimento de suplementos isolados de sulfato ou óxido de cobre — fundamenta-se na presença concomitante de cofatores transcricionais (retinol hepático) e na cinética de absorção mais fisiológica, mediada por CTRL enterocitário^{5,95}.

- **Razão dietética Zn:Cu ≤ 10:1**, parâmetro derivado da observação de que ingestões crônicas com razões superiores induzem metalotioneína intestinal e sequestram cobre alimentar, configurando hipocupremia funcional iatrogênica^{86,87}. A recomendação é particularmente relevante em usuários crônicos de suplementos de zinco isolado, cuja prevalência tem crescido após a pandemia de COVID-19⁸⁶.

- **Preferência por retinol pré-formado** (fígado, gema de ovo, manteiga de pasto) em adultos, em detrimento da conversão do β-caroteno, cuja eficiência é limitada por polimorfismos do gene BCO1 — presentes em até 45% da população — e pela competição com outros carotenoides na clivagem intestinal⁵¹⁻⁵⁴. O retinol hepático atua como cofator transcricional obrigatório do *Cp gene* e dos transportadores ATP7A/B, tornando sua adequação indispensável para a ferroxidase ceruloplasmínica funcional^{51,52}.

- **Magnésio bisglicinato 200–400 mg/dia**, conforme avaliação clínica individualizada⁶⁰⁻⁶⁵. A forma quelada com glicina apresenta biodisponibilidade superior aos sais inorgânicos (óxido, sulfato), menor efeito laxativo e melhor tolerância digestiva, o que favorece a adesão de longo prazo^{60,61}. O magnésio é cofator obrigatório de mais de 600 reações enzimáticas, incluindo as ATPases que sustentam a homeostase do cobre intracelular⁶²⁻⁶⁵.

- **Vitamina C preferencialmente de fontes integrais** (frutas e vegetais frescos), em vez de megadoses isoladas de ácido ascórbico¹⁴⁰⁻¹⁴⁴. Em

presença de ferro lábil intracelular elevado, o ácido ascórbico em altas doses pode atuar como pró-oxidante, reduzindo Fe³⁺ a Fe²⁺ e amplificando a reação de Fenton com consequente peroxidação lipídica^{140,142}. As matrizes alimentares integrais fornecem ascorbato em conjunto com bioflavonoides, polifenóis e quelantes naturais, configurando ambiente redox mais estável^{141,143}.

Doação terapêutica de sangue: remoção fisiológica do excesso de ferro

A doação regular de sangue, particularmente em homens adultos e mulheres pós-menopausa, foi associada à redução mensurável de eventos isquêmicos miocárdicos em estudos epidemiológicos clássicos. Salonen *et al.* (1998)⁸⁸, Meyers *et al.* (1997)⁸⁹, Ascherio *et al.* (2001)⁹⁰ e Zheng *et al.* (2005)⁹¹ documentaram este efeito, atribuído à depleção do pool de ferro lábil tissular — convergência epidemiológica que sustenta a *iron heart hypothesis* originalmente formulada por Zargar *et al.* (1998)⁷³ e que se mostra plenamente compatível com o paradigma cupro-cêntrico aqui discutido.

O ganho terapêutico, contudo, transcende a simples aritmética da remoção. Cada bolsa coletada — aproximadamente 450 mL — retira do organismo cerca de 200 a 250 mg de ferro elementar^{73,88}. Mais relevante que essa subtração direta é o sinal fisiológico desencadeado. A queda transitória da hemoglobina ativa a eritropoiese medular, demanda metabólica que mobiliza ferro de seus principais reservatórios — hepatócitos, macrófagos esplênicos e células de Kupffer. Nesses compartimentos, o ferro permanecia sequestrado pela hepcidina elevada característica da inflamação crônica^{15,18,19,112}. Trata-se, portanto, menos de uma extração líquida e mais de uma redistribuição forçada: o ferro estagnado, antes fonte silenciosa de geração contínua de espécies reativas de oxigênio via reação de Fenton, retorna ao circuito funcional da hematopoiese.

A eficácia e a segurança dessa intervenção, todavia, dependem de uma condição inegociável: a presença de cobre biodisponível em quantidade suficiente para sustentar a ferroxidase ceruloplasmínica ativa^{1,4,5,110,111}. Sem ceruloplasmína holoenzimática funcional, o ferro mobilizado dos depósitos não pode ser oxidado a Fe³⁺ nem carregado com segurança pela transferrina, permanecendo na forma reduzida Fe²⁺ — potencialmente catalisadora da química de Fenton em tecidos sensíveis. Em termos clínicos pragmáticos, a doação isolada, desacompanhada de reposição cúprica adequada, tende a perpetuar a recirculação do ferro lábil como espécie redox-ativa, em vez de promover sua efetiva conversão à forma transportável pela transferrina. O benefício epidemiológico observado nas coortes de doadores⁸⁸⁻⁹¹ pressupõe, portanto, status cuproceruloplasmínico preservado — premissa raramente verificada nos desenhos originais desses estudos e que constitui hipótese relevante para reanálises futuras.

Recomenda-se, em consequência, que a doação terapêutica seja precedida da avaliação laboratorial integrada proposta na Tabela 4, com atenção particular à

ceruloplasmina imunorreativa, à atividade ferroxidase e à razão Cu:Cp. Os intervalos mínimos entre doações estabelecidos pelos órgãos reguladores (no Brasil, 60 dias para homens e 90 dias para mulheres, conforme RDC ANVISA 34/2014) devem ser estritamente respeitados, e a indicação individualizada cabe ao médico assistente, especialmente em pacientes com comorbidades cardiovasculares, renais ou hematológicas.

LIMITAÇÕES, CONTROVÉRSIAS E LACUNAS

A síntese aqui apresentada deve ser interpretada à luz de limitações metodológicas explícitas, cuja delimitação é parte integrante do rigor científico:

- **Predomínio de evidência mecanística e observacional:** a maioria dos dados que sustentam a tese cupro-cêntrica deriva de estudos bioquímicos, modelos animais e séries clínicas observacionais^{5,95-98}. Ensaio clínico randomizado (ECRs) testando intervenções cobre-centradas em desfechos clínicos relevantes são escassos. Esta lacuna é especialmente crítica para os desfechos cardiovasculares, neurodegenerativos e oncológicos discutidos nas seções anteriores, e constitui a prioridade investigativa mais imediata.

- **Extrapolação de modelos animais para humanos:** modelos murinos de deficiência de cobre apresentam variabilidade metodológica significativa quanto à idade dos animais, sexo, composição da dieta de depleção, duração do protocolo e linhagem genética^{95,96}. Tal heterogeneidade limita a generalização direta de seus achados à clínica humana e dificulta a metanálise quantitativa entre estudos pré-clínicos.

- **Ausência de biomarcadores tissulares validados:** a homeostase do cobre é compartimentalizada — sérica, hepática, cerebral e mitocondrial —, mas a prática clínica atual mensura apenas o pool sérico, indiretamente^{5,95,96}. A ausência de métodos não-invasivos validados para quantificar cobre intracelular ou tissular *in vivo* constitui obstáculo metodológico relevante para a translação clínica do paradigma.

- **Natureza narrativa da revisão:** embora criteriosa, esta revisão narrativa não segue protocolos sistemáticos formais (PRISMA, Cochrane), e a seleção das 144 referências envolve necessariamente algum grau de viés editorial, mitigado pela amplitude disciplinar consultada — da bioquímica estrutural à epidemiologia clínica. Reconhece-se, ademais, a possibilidade de viés de publicação, fenômeno transversal à literatura biomédica que tende a sub-representar resultados negativos ou neutros.

- **Variabilidade dos métodos laboratoriais:** a mensuração da atividade ferroxidase da ceruloplasmina e da atividade plasmática da PAM carece de padronização internacional^{1,111,131}. Os pontos de corte propostos na Tabela 4 — em particular para a razão Cu:Cp e para a atividade ferroxidase percentual — refletem síntese da literatura disponível e da experiência clínica de Robbins, mas ainda não foram validados em

ensaios prospectivos de larga escala. Sua aplicação deve, portanto, ser entendida como proposta heurística aberta à revisão.

- **Controvérsias bioquímicas em aberto:** o papel patológico exato da apoceruloplasmina circulante — mero marcador de deficiência funcional ou efector independente em processos inflamatórios — permanece em debate^{1,4,110,111}. Igualmente em aberto encontram-se a relevância clínica da fração de cobre não-ceruloplasmínico (NCC) em populações sem doença de Wilson e os mecanismos precisos pelos quais a cuproptose interage com outras formas de morte celular regulada⁹⁹⁻¹⁰⁹.

- **Origem heterogênea do corpus teórico:** a síntese aqui revisada articula contribuições de tradições científicas distintas — a bioquímica acadêmica formal de Kell, com extensa produção indexada^{113,115-118}, e a sistematização clínica integrativa de Robbins, desenvolvida fora do circuito universitário convencional⁴¹. Reconhece-se que esta última, embora mecanisticamente coerente com a literatura revisada, demanda validação independente por equipes acadêmicas, ECRs prospectivos e replicação em populações diversas.

- **Lacunas populacionais específicas:** dados robustos sobre o eixo cobre-ferro são escassos em populações de alto interesse clínico, como gestantes, lactentes, crianças em fase de crescimento, idosos com multimorbidade e atletas de alto rendimento. As interações entre o status cúprico e medicamentos de uso crônico — inibidores da bomba de prótons, metformina, contraceptivos hormonais combinados, antagonistas H2 e quelantes — também permanecem subexploradas e merecem investigação dedicada¹⁰⁵.

- **Distinção entre hipóteses e recomendações universais:** as propostas terapêuticas derivadas da síntese de Robbins e Kell são consideradas plausíveis e mecanisticamente fundamentadas, mas ainda não podem ser elevadas à categoria de recomendações de prática clínica baseadas em evidência de alto nível, pendentes da validação por ensaios clínicos prospectivos^{41,113}.

Em conjunto, as limitações aqui enumeradas não invalidam o valor heurístico do paradigma cupro-cêntrico — ao contrário, delimitam com precisão o terreno em que a hipótese deve ser testada. A consolidação desta agenda dependerá da convergência entre dois eixos complementares. O primeiro é o rigor metodológico clássico, expresso na realização de ECRs, na padronização laboratorial internacional e na validação de biomarcadores tissulares. O segundo é a abertura epistemológica para reavaliar premissas históricas do metabolismo do ferro à luz da química bioenergética do cobre.

PERSPECTIVAS FUTURAS E AGENDA DE PESQUISA

A consolidação científica das hipóteses aqui revisadas exige agenda translacional estratégica, que decorre diretamente das limitações enumeradas na seção

anterior. Tal agenda articula-se em torno de três horizontes temporais: ações imediatas de padronização metodológica, programas de pesquisa clínica de médio prazo e iniciativas estruturais de longo prazo de integração curricular e formação profissional. Os eixos prioritários propostos são:

Curto prazo (padronização e instrumentação metodológica)

- Padronização internacional de ensaios para mensuração da atividade ferroxidase da ceruloplasmina e da atividade plasmática da PAM, viabilizando seu uso rotineiro como biomarcadores funcionais e permitindo comparações interlaboratoriais reprodutíveis^{1,111,131}.

- Desenvolvimento e validação de biomarcadores tissulares não-invasivos do status cúprico, incluindo técnicas de espectroscopia, imagem mitocondrial funcional e ensaios baseados em isótopos estáveis de cobre, capazes de superar a limitação atual da mensuração restrita ao compartimento sérico^{5,95,96}.

- Estudos populacionais multicêntricos para redefinição estatística das faixas de referência laboratoriais da ferritina sérica, da ceruloplasmina imunorreativa e da razão Cu:Cp, com base em coortes operacionalmente estratificadas por marcadores objetivos de inflamação subclínica (PCR ultrasensível, IL-6, fibrinogênio)^{113,117,119-125}.

Médio prazo (ensaios clínicos e investigação mecanística)

- Ensaios clínicos randomizados, duplo-cegos e controlados por placebo, testando suplementação combinada — cobre biodisponível, retinol pré-formado, magnésio quelado e cofatores selecionados — em populações criteriosamente caracterizadas. As condições prioritárias incluem anemia refratária à reposição de ferro convencional, fadiga crônica com ferritina elevada e perfil inflamatório, e insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (HFpEF) — quadros nos quais o paradigma cupro-cêntrico oferece hipótese fisiopatológica testável e distinta dos modelos vigentes^{41,5,113}.

- Investigação translacional sobre estados de insuficiência cuproceruloplasmínica subclínica no adulto, utilizando a Doença de Menkes como modelo paradigmático extremo para compreender a hierarquia de falência das cuproenzimas e definir critérios diagnósticos operacionais para formas atenuadas^{1,5,95,96}.

- Aprofundamento mecanístico da hipótese *Iron Dysregulation and Dormant Microbes* (IDDM), formulada por Kell e colaboradores, em doenças crônicas pós-infecciosas — síndrome pós-COVID, encefalomielite miálgica/síndrome de fadiga crônica e síndromes pós-virais correlatas —, com desenhos longitudinais que integrem perfis microbiológicos, marcadores inflamatórios e status cobre-ferro¹¹³⁻¹¹⁸.

- Investigação do papel da cuproptose como alvo terapêutico em oncologia, particularmente em tumores com fenótipo metabólico dependente de fosforilação oxidativa (OXPHOS), nos quais a maquinaria mitocondrial de sulfetilação por cobre apresenta vulnerabilidade explorável⁹⁹⁻¹⁰⁹.

- Estudos clínicos sobre moduladores naturais da homeostase do ferro lábil — lactoferrina oral, polifenóis dietéticos (quercetina, curcumina, ácido elágico) e compostos quelantes alimentares — em quadros inflamatórios crônicos, com avaliação integrada de desfechos bioquímicos, clínicos e de qualidade de vida.

Médio-longo prazo (medicina personalizada e populações negligenciadas)

- Estudos farmacogenômicos sobre polimorfismos de ATP7A, ATP7B, BCO1, HFE e HAMP em populações com aparente refratariedade ao manejo nutricional convencional, visando estratificação de risco e individualização terapêutica baseada em assinatura genética¹⁰⁹.

- Investigação sistemática das interações entre o status cuproceruloplasmínico e medicamentos de uso crônico — inibidores da bomba de prótons, metformina, contraceptivos hormonais combinados, antagonistas H2 e quelantes terapêuticos —, particularmente em pacientes polimedicados e idosos¹⁰⁵.

- Caracterização do eixo cobre-ferro em populações sub-representadas na literatura atual: gestantes e lactentes, crianças em fase de crescimento somatossensorial, idosos com multimorbidade, atletas de alto rendimento e indivíduos em dietas restritivas (vegetarianas estritas, cetogênicas, jejum prolongado).

- Estudos sobre o papel da microbiota intestinal na absorção e modulação do cobre alimentar, incluindo a influência da disbiose induzida por antibioticoterapia, glifosato e dietas ultraprocessadas sobre a expressão de CTR1 enterocitário¹²⁶⁻¹³⁰.

Longo prazo (translação acadêmica e formação profissional)

- Integração progressiva do paradigma cobre-ferro nos currículos de graduação e pós-graduação em Medicina, Nutrição, Farmácia e Bioquímica Clínica, bem como em programas de educação médica continuada. Essa integração deve ocorrer à medida que a base de evidência translacional amadureça, garantindo equilíbrio entre inovação conceitual e fundamentação por ensaios prospectivos.

A convergência entre essas linhas de pesquisa permitirá, em horizonte previsível, transitar do estatuto atual de hipótese mecanística coerente para o de paradigma clinicamente operacional, com critérios diagnósticos validados, intervenções padronizadas e desfechos clínicos mensuráveis. A conclusão, a seguir, sintetiza o estado atual deste programa científico e suas implicações para a prática clínica contemporânea.

4. CONCLUSÃO

A síntese crítica aqui apresentada converge para uma proposição central, sustentada por cinco décadas de pesquisa bioquímica acumulada. Esta tradição estende-se desde os trabalhos pioneiros de Frieden e Linder sobre ceruloplasmina, passa pela elucidação estrutural do Complexo IV por Yoshikawa e Tsukihara, até alcançar os modelos contemporâneos de biologia de sistemas de Kell^{5,95,96,113,115-118}. Na arquitetura bioenergética humana, o cobre desempenha papel de

condutor regulatório, enquanto o ferro atua como executor subordinado. Esta hierarquia funcional, longe de ser meramente semântica, constitui chave mecanística que contribui para reconciliar paradoxos clínicos persistentes — da anemia refratária à fadiga crônica, das vasculopatias degenerativas à neurodegeneração progressiva.

Os pilares moleculares desta tese são robustos. O Complexo IV mitocondrial, com seus sítios CuA, heme a, heme a₃ e CuB, depende absolutamente do cobre para a redução tetraeletrônica do oxigênio e para a manutenção da força próton-motriz^{6,7,8,9}. A ceruloplasmina, mediante sua atividade ferroxidase, governa a mobilização segura do ferro entre compartimentos teciduais^{1,4,5,110,111}. A enzima peptidilglicina α-amidante (PAM), dependente de dois íons de cobre, é responsável pela ativação por amidação C-terminal de aproximadamente metade dos peptídeos bioativos humanos catalogados na base PeptideAtlas⁴²⁻⁴⁵. A ferritina sérica, sob a ótica da biologia de sistemas de Kell, expressa primariamente vazamento celular e inflamação subclínica, e não reserva fisiológica de ferro^{113,117,119-125}.

A Doença de Menkes constitui experimento natural que evidencia a centralidade do cobre na fisiologia humana, sustentando empiricamente a primazia funcional deste metal sobre o ferro na arquitetura bioenergética^{1,5,95,96}. Em escala atenuada, propõe-se que estados de insuficiência cuproceruloplasmínica subclínica acometam o adulto contemporâneo. Tais estados seriam potencialmente gerados por exposição crônica a múltiplos fatores ambientais e dietéticos — glifosato, suplementação isolada de zinco, excesso de frutose, xenobióticos endócrinos, ferro oral iatrogênico e empobrecimento mineral dos solos agrícolas^{55-59,86,87,126-130,132-134,140-144}. Em conjunto, esses vetores reproduziriam parcialmente o mesmo padrão de comprometimento enzimático observado nas formas genéticas extremas. Tais estados expressam-se em constelações clínicas dispersas que a abordagem ferro-cêntrica habitual frequentemente não articula em diagnóstico unificado.

Defende-se, portanto, uma reapreciação sistêmica dos algoritmos diagnósticos e terapêuticos vigentes: dosar a ceruloplasmina imunorreativa e sua atividade ferroxidase antes de prescrever ferro suplementar; reinterpretar ferritinas séricas elevadas como sinal de vazamento celular e inflamação subclínica, e não como reserva fisiológica segura; incorporar a razão Cu:Cp, a atividade ferroxidase e a razão Zn:Cu ao painel mineral rotineiro, conforme proposto na Tabela 4; e assegurar adequação dos cofatores integrados — retinol pré-formado, magnésio biodisponível, vitamina K₂ e vitamina D₃ em quartis superiores da faixa de suficiência — que sustentam, em conjunto, a homeostase cúprico-férrica e a função enzimática bioenergética^{51-54,55-59,60-65}. Reconhece-se, em consonância com as Seções 10 e 11, que a translação clínica plena desta proposta depende de padronização laboratorial internacional, ensaios randomizados prospectivos e validação populacional

dos pontos de corte propostos.

Conforme observou Szent-Györgyi, "*a vida nada mais é do que um elétron à procura de um lugar para descansar*"^{6,7}. À luz da bioquímica contemporânea, esse lugar é, em última instância, o sítio binuclear heme a₃-CuB do Complexo IV mitocondrial. Reconhecer o cobre como condutor da bioenergética humana — e não apenas como cofator acessório do metabolismo do ferro — constitui, portanto, mais do que ajuste terminológico: representa reorganização paradigmática com implicações diagnósticas, terapêuticas e formativas que esta revisão buscou sistematizar.

5. FINANCIAMENTO

Esta pesquisa não recebeu qualquer financiamento específico de agências dos setores público, comercial ou sem fins lucrativos. O artigo foi conduzido inteiramente com recursos próprios dos autores, sem patrocínio governamental, institucional, industrial ou comercial.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. José Lopez Fernandez Netto pelas discussões críticas e pelas sugestões editoriais oferecidas durante a maturação do manuscrito. Reconhecimento especial é dedicado ao legado intelectual de Albert Szent-Györgyi, Earl Frieden, Leslie M. Klevay, Maria C. Linder, Svetlana Lutsenko, Morley M. Robbins e Douglas B. Kell, cujas obras seminais e contemporâneas inspiraram a presente síntese.

7. REFERÊNCIAS

- [1]. Roeser HP, Lee GR, Nacht S, Cartwright GE. The role of ceruloplasmin in iron metabolism. *J Clin Invest.* 1970; 49(12):2408-17. <https://doi.org/10.1172/JCI106460>
- [2]. Lee GR, Nacht S, Lukens JN, Cartwright GE. Iron metabolism in copper-deficient swine. *J Clin Invest.* 1968; 47(9):2058-69. <https://doi.org/10.1172/JCI105891>
- [3]. Cartwright GE, Lauritsen MA, Jones PJ, Merrill IM, Wintrobe MM. The anemia of infection. I. Hypoferremia, hypercupremia, and alterations in porphyrin metabolism in patients. *J Clin Invest.* 1946; 25(1):65-80. <https://doi.org/10.1172/JCI101690>
- [4]. Harned J, Ferrell J, Nagar S, Goralska M, Fleisher LN, McGahan MC. Ceruloplasmin alters intracellular iron regulated proteins and pathways. *Exp Eye Res.* 2012; 97(1):90-7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2012.02.001>
- [5]. Lutsenko S. Human copper homeostasis: a network of interconnected pathways. *Curr Opin Chem Biol.* 2010; 14(2):211-7. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.01.003>
- [6]. Reeves PG, DeMars LCS, Johnson WT, Lukaski HC. Dietary copper deficiency reduces iron absorption and duodenal enterocyte hephaestin protein. *J Nutr.* 2005; 135(1):92-8. <https://doi.org/10.1093/jn/135.1.92>
- [7]. Chen H, Huang G, Su T, Gao H, Attieh ZK, McKie AT, et al. Decreased hephaestin activity in the intestine of

- copper-deficient mice causes systemic iron deficiency. *J Nutr.* 2006; 136(5):1236-41.
<https://doi.org/10.1093/jn/136.5.1236>
- [8]. Anderson GJ, Frazer DM, McKie AT, Vulpe CD. The ceruloplasmin homolog hephaestin and the control of intestinal iron absorption. *Blood Cells Mol Dis.* 2002; 29(3):367-75.
<https://doi.org/10.1006/bcmd.2002.0576>
- [9]. Sharp P. The molecular basis of copper and iron interactions. *Proc Nutr Soc.* 2004; 63(4):563-9.
<https://doi.org/10.1079/PNS2004386>
- [10]. Collins JF, Prohaska JR, Knutson MD. Metabolic crossroads of iron and copper. *Nutr Rev.* 2010; 68(3):133-47.
<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00271.x>
- [11]. Takami A, Uchino K. Discovering the hidden link: hematological disorders caused by copper deficiency. *Int J Hematol.* 2025; 121(4):483-93.
<https://doi.org/10.1007/s12185-025-04036-7>
- [12]. Gropper SS, Bader-Crowe DM, McAnulty LS, White BD, Keith RE. Non-anemic iron depletion, oral iron supplementation and indices of copper status. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21(6):545-52.
<https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719253>
- [13]. Wazir SM, Ghobrial I. Copper deficiency, a new triad: anemia, leucopenia, and myeloneuropathy. *J Community Hosp Intern Med Perspect.* 2017; 7(4):265-8.
<https://doi.org/10.1080/20009666.2017.1351289>
- [14]. Matak P, Zumerle S, Mastrogiannaki M, El Balkhi S, Olivari V, Brouwer J, *et al.* Copper deficiency leads to anemia, duodenal hypoxia, upregulation of HIF-2 α and altered expression of iron absorption genes in mice. *PLoS One.* 2013; 8(3):e59538.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059538>
- [15]. Ganz T, Nemeth E. Iron sequestration and anemia of inflammation. *Semin Hematol.* 2009; 46(4):387-93.
<https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2009.06.001>
- [16]. Fraenkel PG. Anemia of inflammation: a review. *Med Clin North Am.* 2017; 101(2):285-96.
<https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.005>
- [17]. Ganz T. Macrophages and systemic iron homeostasis. *J Innate Immun.* 2012; 4(5-6):446-53.
<https://doi.org/10.1159/000336423>
- [18]. Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr.* 2010; 30:105-22.
<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104804>
- [19]. Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Hepcidin – central regulator of iron metabolism. *Eur J Haematol.* 2007; 78(1):1-10.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2006.00772.x>
- [20]. Maliken BD, Nelson JE, Kowdley KV. The hepcidin circuits act: balancing iron and inflammation. *Hepatology.* 2011; 53(5):1764-6.
<https://doi.org/10.1002/hep.24267>
- [21]. Klei TRL, Meinderts SM, van den Berg TK, van Bruggen R. From the cradle to the grave: the role of macrophages in erythropoiesis and erythrophagocytosis. *Front Immunol.* 2017; 8:73.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00073>
- [22]. Aigner E, Weiss G, Datz C. Dysregulation of iron and copper homeostasis in nonalcoholic fatty liver. *World J Hepatol.* 2015; 7(2):177-88.
<https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i2.177>
- [23]. Wikström M, Krab K, Sharma V. Oxygen activation and energy conservation by cytochrome c oxidase. *Chem Rev.* 2018; 118(5):2469-90.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00664>
- [24]. Horn D, Barrientos A. Mitochondrial copper metabolism and delivery to cytochrome c oxidase. *IUBMB Life.* 2008; 60(7):421-9.
<https://doi.org/10.1002/iub.50>
- [25]. Musatov A, Robinson NC. Susceptibility of mitochondrial electron-transport complexes to oxidative damage. Focus on cytochrome c oxidase. *Free Radic Res.* 2012; 46(11):1313-26.
<https://doi.org/10.3109/10715762.2012.717273>
- [26]. Kadenbach B, Hüttemann M, Arnold S, Lee I, Bender E. Mitochondrial energy metabolism is regulated via nuclear-coded subunits of cytochrome c oxidase. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29(3-4):211-21.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00305-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00305-1)
- [27]. Klevay LM. Cardiovascular disease from copper deficiency – a history. *J Nutr.* 2000; 130(2S Suppl):489S-92S.
<https://doi.org/10.1093/jn/130.2.489S>
- [28]. Klevay LM. Dietary copper and risk of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(5):1213-4.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/71.5.1213>
- [29]. Klevay LM. Ischemic heart disease as deficiency disease. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2004; 50(8):877-84.
- [30]. Li P, Li Y, Meng Q, Wang J, Wang Q, Li H, *et al.* Copper dyshomeostasis and cardiovascular disease: molecular mechanisms and new strategies for targeted intervention with cuproptosis. *Int J Mol Med.* 2025; 55(6):95.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2025.5690>
- [31]. Fowler DM, Cooper SJ, Stephany JJ, Hendon N, Nelson S, Fields S. Suppression of statin effectiveness by copper and zinc in yeast and human cells. *Mol Biosyst.* 2011; 7(2):533-44.
<https://doi.org/10.1039/c0mb00166j>
- [32]. Killilea DW, Atamna H, Liao C, Ames BN. Iron accumulation during cellular senescence in human fibroblasts in vitro. *Antioxid Redox Signal.* 2003; 5(5):507-16.
<https://doi.org/10.1089/152308603770310158>
- [33]. Killilea DW, Wong SL, Cahaya HS, Atamna H, Ames BN. Iron accumulation during cellular senescence. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1019:365-7.
<https://doi.org/10.1196/annals.1297.063>
- [34]. Atamna H, Killilea DW, Killilea AN, Ames BN. Heme deficiency may be a factor in the mitochondrial and neuronal decay of aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(23):14807-12.

- <https://doi.org/10.1073/pnas.192585799>
- [35]. Xu J, Knutson MD, Carter CS, Leeuwenburgh C. Iron accumulation with age, oxidative stress and functional decline. *PLoS One*. 2008; 3(8):e2865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002865>
- [36]. Arruda LF, Arruda SF, Campos NA, de Valencia FF, Siqueira EM. Dietary iron concentration may influence aging process. *PLoS One*. 2013; 8(4):e61058. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061058>
- [37]. Galaris D, Mantzaris M, Amorgianiotis C. Oxidative stress and aging: the potential role of iron. *Hormones (Athens)*. 2008; 7(2):114-22. <https://doi.org/10.1007/BF03401502>
- [38]. Maus M, López-Polo V, Mateo L, Lafarga M, Aguilera M, De Lama E, *et al*. Iron accumulation drives fibrosis, senescence and the senescence-associated secretory phenotype. *Nat Metab*. 2023; 5(8):1422-39. <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00928-2>
- [39]. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. Hallmarks of aging: an expanding universe. *Cell*. 2023; 186(2):243-78. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>
- [40]. López-Otín C, Pietrocola F, Roiz-Valle D, Galluzzi L, Kroemer G. Meta-hallmarks of aging and cancer. *Cell Metab*. 2023; 35(1):12-35. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.11.001>
- [41]. Finazzi D, Arosio P. Biology of ferritin in mammals: an update on iron storage, oxidative damage and neurodegeneration. *Arch Toxicol*. 2014; 88(10):1787-802. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1329-0>
- [42]. Gorobets O, Gorobets S, Koralewski M. Physiological origin of biogenic magnetic nanoparticles in health and disease: from bacteria to humans. *Int J Nanomedicine*. 2017; 12:4371-95. <https://doi.org/10.2147/IJN.S130565>
- [43]. Gossuin Y, Hautot D, Muller RN, Pankhurst Q, Dobson J, Morris C, *et al*. Looking for biogenic magnetite in brain ferritin using NMR relaxometry. *NMR Biomed*. 2005; 18(7):469-72. <https://doi.org/10.1002/nbm.983>
- [44]. Tiwari AKM, Mahdi AA, Chandyan S, Zahra F, Godbole MM, Jaiswar SP, *et al*. Oral iron supplementation leads to oxidative imbalance in anemic women. *Clin Nutr*. 2011; 30(2):188-93. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.08.001>
- [45]. Agarwal R. Iron, oxidative stress, and clinical outcomes. *Pediatr Nephrol*. 2008; 23(8):1195-9. <https://doi.org/10.1007/s00467-007-0673-1>
- [46]. Ashmore JH, Rogers CJ, Kelleher SL, Lesko SM, Hartman TJ. Dietary iron and colorectal cancer risk: a review of human population studies. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2016; 56(6):1012-20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.749208>
- [47]. Moazzen S, Dastgiri S, Dolatkhah R, Alizadeh BZ, de Bock GH. Staple food fortification with folic acid and iron and gastrointestinal cancers: critical appraisal of long-term national fortification. *Nutr Cancer*. 2021; 73(7):1187-95. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1801778>
- [48]. Bastide NM, Pierre FHF, Corpet DE. Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. *Cancer Prev Res*. 2011; 4(2):177-84. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-10-0113>
- [49]. Chua ACG, Klopčič B, Lawrance IC, Olynyk JK, Trinder D. Iron: an emerging factor in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2010; 16(6):663-72. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i6.663>
- [50]. Luo H, Zhang NQ, Huang J, Zhang X, Feng XL, Pan ZZ, *et al*. Different forms and sources of iron in relation to colorectal cancer risk: a case-control study in China. *Br J Nutr*. 2019; 121(7):735-47. <https://doi.org/10.1017/S0007114519000023>
- [51]. Barber EF, Cousins RJ. Induction of ceruloplasmin synthesis by retinoic acid in rats: influence of dietary copper and vitamin A status. *J Nutr*. 1987; 117(7):1615-22. <https://doi.org/10.1093/jn/117.9.1615>
- [52]. da Cunha MSB, Siqueira EMA, Trindade LS, Arruda SF. Vitamin A deficiency modulates iron metabolism via ineffective erythropoiesis. *J Nutr Biochem*. 2014; 25(10):1035-44. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.05.005>
- [53]. Zimmermann MB, Biebinger R, Rohner F, Dib A, Zeder C, Hurrell RF, *et al*. Vitamin A supplementation in children with poor vitamin A and iron status increases erythropoietin and hemoglobin concentrations without changing total body iron. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84(3):580-6. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.3.580>
- [54]. Zimmermann MB. Interactions between iron and vitamin A, riboflavin, copper, and zinc in the etiology of anemia. In: *Nutritional Anemia*. Basel: Sigh and Life Press; 2007; 199-214.
- [55]. Roodenburg AJC, West CE, Beguin Y, van Dijk JE, Hovenier R, Beynen AC. Indicators of erythrocyte formation and degradation in rats with either vitamin A or iron deficiency. *J Nutr Biochem*. 2000; 11(5):223-30. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(00\)00070-X](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(00)00070-X)
- [56]. Sundaresan PR, Kaup SM, Wiesenfeld PW, Chirtel SJ, Hight SC, Bowers J. Interactions in indices of vitamin A, zinc and copper status when these nutrients are fed to rats at adequate and increased levels. *Br J Nutr*. 1996; 75(6):915-28. <https://doi.org/10.1079/BJN19960097>
- [57]. Smolders J, Peelen E, Thewissen M, Cohen Tervaert JW, Menheere P, Hupperts R, *et al*. Safety and T cell modulating effects of high dose vitamin D3 supplementation in multiple sclerosis. *PLoS One*. 2010; 5(12):e15235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015235>
- [58]. Konijeti GG, Arora P, Boylan MR, Song Y, Huang S, Harrell F, *et al*. Vitamin D supplementation modulates T cell-mediated immunity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101(2):533-8. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3599>

- [59]. Bikle DD. Vitamin D regulation of immune function. *Curr Osteoporos Rep.* 2022; 20(3):186-93. <https://doi.org/10.1007/s11914-022-00732-z>
- [60]. DiNicolantonio JJ, O'Keefe JH. Magnesium and vitamin D deficiency as a potential cause of immune dysfunction, cytokine storm and disseminated intravascular coagulation in COVID-19 patients. *Mo Med.* 2021; 118(1):68-73.
- [61]. Ashique S, Kumar S, Hussain A, Mishra N, Garg A, Gowda BHJ, *et al.* A narrative review on the role of magnesium in immune regulation, inflammation, infectious diseases, and cancer. *J Health Popul Nutr.* 2023; 42(1):74. <https://doi.org/10.1186/s41043-023-00423-0>
- [62]. Pasternak K, Kocot J, Horecka A. Biochemistry of magnesium. *J Elem.* 2010; 15(3):601-16. <https://doi.org/10.5601/jelem.2010.15.3.18>
- [63]. Pilchova I, Klacanova K, Tatarkova Z, Kaplan P, Racay P. The involvement of Mg²⁺ in regulation of cellular and mitochondrial functions. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017:6797460. <https://doi.org/10.1155/2017/6797460>
- [64]. Gout E, Rébeillé F, Douce R, Bligny R. Interplay of Mg²⁺, ADP, and ATP in the cytosol and mitochondria: unravelling the role of Mg²⁺ in cell respiration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111(43):E4560-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1406251111>
- [65]. Ryan MF. The role of magnesium in clinical biochemistry: an overview. *Ann Clin Biochem.* 1991; 28(1):19-26. <https://doi.org/10.1177/000456329102800103>
- [66]. Prohaska JR, Broderius M. Plasma peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase (PAM) and ceruloplasmin are affected by age and copper status in rats and mice. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2006; 143(3):360-6. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.12.010>
- [67]. Prigge ST, Mains RE, Eipper BA, Amzel LM. New insights into copper monooxygenases and peptide amidation: structure, mechanism and function. *Cell Mol Life Sci.* 2000; 57(8-9):1236-59. <https://doi.org/10.1007/PL00000763>
- [68]. Bousquet-Moore D, Ma XM, Nillni EA, Czyzyk TA, Pintar JE, Eipper BA, *et al.* Reversal of physiological deficits caused by diminished levels of peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase by dietary copper. *Endocrinology.* 2009; 150(4):1739-47. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1202>
- [69]. Merkler D, Hawley A, Eipper B, Mains R. Peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase as a therapeutic target or biomarker. *Br J Pharmacol.* 2022; 179(13):3306-24. <https://doi.org/10.1111/bph.15815>
- [70]. Gaier ED, Kleppinger A, Ralle M, Covault J, Mains RE, Kenny AM, *et al.* Genetic determinants of amidating enzyme activity and its relationship with metal cofactors in human serum. *BMC Endocr Disord.* 2014; 14:58. <https://doi.org/10.1186/1472-6823-14-58>
- [71]. Wang C, Wu J, Wang Y, Huang C, Wei M, Xie Y, *et al.* The role of dysregulated copper metabolism in diabetes and its complications: a review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2025; 16:1681001. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1681001>
- [72]. Almajdoub AA, Alzwayi MM, Alremh AS, Mostafa AS, Alshfian SM. Estimated blood levels of zinc and copper among type-2 diabetic patients and their relationship to insulin resistance. *Wadi Alshatti Univ J Pure Appl Sci.* 2023; 1(1):4.
- [73]. Zargar AH, Shah NA, Masoodi SR, Laway BA, Dar FA, Khan AR, *et al.* Copper, zinc, and magnesium levels in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Postgrad Med J.* 1998; 74(877):665-8. <https://doi.org/10.1136/pgmj.74.877.665>
- [74]. Chung SSM, Ho ECM, Lam KSL, Chung SK. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14(8 Suppl 3):S233-6. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000077408.15865.06>
- [75]. Yan LJ. Redox imbalance stress in diabetes mellitus: role of the polyol pathway. *Anim Model Exp Med.* 2018; 1(1):7-13. <https://doi.org/10.1002/ame2.12001>
- [76]. Lee AYW, Chung SSM. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J.* 1999; 13(1):23-30. <https://doi.org/10.1096/fasebj.13.1.23>
- [77]. Mertens M, Höss S, Neumann G, Afzal J, Reichenbecher W. Glyphosate, a chelating agent — relevant for ecological risk assessment? *Environ Sci Pollut Res.* 2018; 25(6):5298-317. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1080-1>
- [78]. Cakmak I, Yazici A, Tutus Y, Ozturk L. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *Eur J Agron.* 2009; 31(3):114-9. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.07.001>
- [79]. Samsel A, Seneff S. Glyphosate, pathways to modern diseases III: manganese, neurological diseases, and associated pathologies. *Surg Neurol Int.* 2015; 6:45. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.153876>
- [80]. Harris WR, Sammons RD, Grabiak RC, Mehrsheikh A, Bleeke MS. Computer simulation of the interactions of glyphosate with metal ions in phloem. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(24):6077-87. <https://doi.org/10.1021/jf3004288>
- [81]. Rucker RB, Kosonen T, Clegg MS, Mitchell AE, Rucker BR, Uriu-Hare JY, *et al.* Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67(5 Suppl):996S-1002S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/67.5.996S>
- [82]. Vallet SD, Ricard-Blum S. Lysyl oxidases: from enzyme activity to extracellular matrix cross-links. *Essays Biochem.* 2019; 63(3):349-64. <https://doi.org/10.1042/EBC20180050>

- [83]. Trackman PC. Enzymatic and non-enzymatic functions of the lysyl oxidase family in bone. *Matrix Biol.* 2016; 52-54:7-18. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2016.01.001>
- [84]. Opsahl W, Zeronian H, Ellison M, Lewis D, Rucker RB, Riggins RS. Role of copper in collagen cross-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. *J Nutr.* 1982; 112(4):708-16. <https://doi.org/10.1093/jn/112.4.708>
- [85]. Nose Y, Kim BE, Thiele DJ. Ctrl drives intestinal copper absorption and is essential for growth, iron metabolism, and neonatal cardiac function. *Cell Metab.* 2006; 4(3):235-44. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.08.009>
- [86]. Osredkar J, Sustar N. Copper and zinc, biological role and significance of copper/zinc imbalance. *J Clin Toxicol.* 2011; S3:001. <https://doi.org/10.4172/2161-0495.S3-001>
- [87]. Hill GM, Link JE. Transporters in the absorption and utilization of zinc and copper. *J Anim Sci.* 2009; 87(14 Suppl):E85-9. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1341>
- [88]. Salonen JT, Tuomainen TP, Salonen R, Lakka TA, Nyssönen K. Donation of blood is associated with reduced risk of myocardial infarction: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Epidemiol.* 1998; 148(5):445-51. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009669>
- [89]. Meyers DG, Strickland D, Maloley PA, Seburg JJ, Wilson JE, McManus BF. Possible association of a reduction in cardiovascular events with blood donation. *Heart.* 1997; 78(2):188-93. <https://doi.org/10.1136/hrt.78.2.188>
- [90]. Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci E, Willett WC, Stampfer MJ. Blood donations and risk of coronary heart disease in men. *Circulation.* 2001; 103(1):52-7. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.103.1.52>
- [91]. Zheng H, Cable R, Spencer B, Votto N, Katz SD. Iron stores and vascular function in voluntary blood donors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(8):1577-83. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000174126.28201.61>
- [92]. Merle U, Weiss KH, Eisenbach C, Tuma S, Ferenci P, Stremmel W. Truncating mutations in the Wilson disease gene ATP7B are associated with very low serum ceruloplasmin oxidase activity and an early onset of Wilson disease. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10:8. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-10-8>
- [93]. Forbes JR, Cox DW. Copper-dependent trafficking of Wilson disease mutant ATP7B proteins. *Hum Mol Genet.* 2000; 9(13):1927-35. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.13.1927>
- [94]. Squitti R, Siotto M, Ariello M, Rossi L. Non-ceruloplasmin bound copper and ATP7B gene variants in Alzheimer's disease. *Metallomics.* 2016; 8(9):863-73. <https://doi.org/10.1039/c6mt00101g>
- [95]. Lutsenko S, Barnes NL, Bartee MY, Dmitriev OY. Function and regulation of human copper-transporting ATPases. *Physiol Rev.* 2007; 87(3):1011-46. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2006>
- [96]. Lutsenko S, Roy S, Tsvetkov P. Mammalian copper homeostasis: physiological roles and molecular mechanisms. *Physiol Rev.* 2025; 105(2):441-91. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2024>
- [97]. Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr.* 1996; 63(5):797S-811S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/63.5.797>
- [98]. Linder MC, Wooten L, Cerveza P, Cotton S, Shulze R, Lomeli N. Copper transport. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67(5 Suppl):965S-71S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/67.5.965S>
- [99]. Ramos D, Mar D, Ishida M, Vargas R, Gaité M, Montgomery A, et al. Mechanism of copper uptake from blood plasma ceruloplasmin by mammalian cells. *PLoS One.* 2016; 11(3):e0149516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149516>
- [100]. Tellez J, Dalphin M, Nguyen A, Nguyen K, Linder MC. Secretion and uptake of copper via a small copper carrier in blood fluid. *Metallomics.* 2022; 14(3):mfac006. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfac006>
- [101]. Freedman JH, Ciriolo MR, Peisach J. The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. *J Biol Chem.* 1989; 264(10):5598-605. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)83589-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)83589-X)
- [102]. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res.* 2016; 61(3):253-78. <https://doi.org/10.1111/jpi.12360>
- [103]. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Tan DX, Jou MJ, Galano A, Xu B. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cell Mol Life Sci.* 2017; 74(21):3863-81. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2609-7>
- [104]. Parmar P, Limson J, Nyokong T, Daya S. Melatonin protects against copper-mediated free radical damage. *J Pineal Res.* 2002; 32(4):237-42. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079X.2002.01859.x>
- [105]. Gábor M. Albert Szent-Györgyi's studies on flavones. Impact of the discovery. In: *The intellectual heritage of Albert Szent-Györgyi*. Szeged: University of Szeged Press; 2010; 95-102.
- [106]. Seigler DS, Friesen JB, Bisson J, Graham JG, Bermudez-Salinas E, Pauli GF. Do certain flavonoid IMPs have a vital function? *Front Nutr.* 2021; 8:762753. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.762753>
- [107]. Grzybowski A, Pietrzak K. Albert Szent-Györgyi (1893-1986): the scientist who discovered vitamin C. *Clin Dermatol.* 2013; 31(3):327-31. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2012.08.001>
- [108]. Geetha A, Saranya P, Jeyachristy SA, Surendran R, Sundaram A. Relevance of non-ceruloplasmin copper to oxidative stress in patients with hepatocellular carcinoma. *Biol Trace Elem Res.* 2010; 133(3):229-35. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8338-5>
- [109]. Menditto A, Pietraforte D, Minetti M. Ascorbic acid in human seminal plasma is protected from iron-

- mediated oxidation, but is potentially exposed to copper-induced damage. *Hum Reprod.* 1997; 12(8): 1699-705. <https://doi.org/10.1093/humrep/12.8.1699>
- [110]. Gitlin JD. Transcriptional regulation of ceruloplasmin gene expression during inflammation. *J Biol Chem.* 1988; 263(13):6281-7. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)68783-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)68783-6)
- [111]. Louro MO, Cocho JA, Tutor JC. Assessment of copper status in pregnancy by means of determining the specific oxidase activity of ceruloplasmin. *Clin Chim Acta.* 2001; 312(1-2):123-7. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(01\)00611-1](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(01)00611-1)
- [112]. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood.* 2019; 133(1):40-50. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-06-856500>
- [113]. Kell DB, Pretorius E. Serum ferritin is an important inflammatory disease marker, as it is mainly a leakage product from damaged cells. *Metallomics.* 2014; 6(4):748-73. <https://doi.org/10.1039/c3mt00347g>
- [114]. Kell DB. Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Med Genomics.* 2009; 2:2. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-2-2>
- [115]. Kell DB, Pretorius E. No effects without causes: the Iron Dysregulation and Dormant Microbes hypothesis for chronic, inflammatory diseases. *Biol Rev.* 2018; 93(3):1518-57. <https://doi.org/10.1111/brv.12407>
- [116]. Kell DB, Heyden EL, Pretorius E. The biology of lactoferrin, an iron-binding protein that can help defend against viruses and bacteria. *Front Immunol.* 2020; 11:1221. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01221>
- [117]. Kell DB. Towards a unifying, systems biology understanding of large-scale cellular death and destruction caused by poorly liganded iron: Parkinson's, Huntington's, Alzheimer's, prions, bactericides, chemical toxicology and others as examples. *Arch Toxicol.* 2010; 84(11):825-89. <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0577-x>
- [118]. DePalma RG, Hayes VW, O'Leary TJ. Optimal serum ferritin level range: iron status measure and inflammatory biomarker. *Metallomics.* 2021; 13(6):mfab030. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfab030>
- [119]. Page MJ, Kell DB, Pretorius E. The role of lipopolysaccharide-induced cell signalling in chronic inflammation. *Chronic Stress (Thousand Oaks).* 2022; 6:24705470221076390. <https://doi.org/10.1177/24705470221076390>
- [120]. Garner J, Cohen S, Watson L, Lu Z, Ward S, Roberts G, *et al.* The origin of ferritin reference intervals: a systematic review. *Lancet Haematol.* 2024; 11(7):e530-9. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(24\)00103-0](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(24)00103-0)
- [121]. Caçado RD, Leite AF, Mattos LRC, Carvalho RM, Naoum FA, Yamashiro Kanashiro EH. Defining global thresholds for serum ferritin: a challenging mission in establishing the iron deficiency diagnosis in this era of striving for health equity. *Diagnostics (Basel).* 2025; 15(3):289. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15030289>
- [122]. Dignass A, Farrag K, Stein J. Limitations of serum ferritin in diagnosing iron deficiency in inflammatory conditions. *Int J Chronic Dis.* 2018; 2018:9394060. <https://doi.org/10.1155/2018/9394060>
- [123]. Khan A, Khan WM, Ayub M, Humayun M, Haroon M. Ferritin is a marker of inflammation rather than iron deficiency in overweight and obese people. *J Obes.* 2016; 2016:1937320. <https://doi.org/10.1155/2016/1937320>
- [124]. Moreira AC, Mesquita G, Gomes MS. Ferritin: an inflammatory player keeping iron at the core of pathogen-host interactions. *Microorganisms.* 2020; 8(4):589. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040589>
- [125]. Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, Dreishpoon M, Verma A, Abdusamad M, *et al.* Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. *Science.* 2022; 375(6586):1254-61. <https://doi.org/10.1126/science.abf0529>
- [126]. Kaler SG. ATP7A-related copper transport diseases — emerging concepts and future trends. *Nat Rev Neurol.* 2011; 7(1):15-29. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.180>
- [127]. Tümer Z, Möller LB. Menkes disease. *Eur J Hum Genet.* 2010; 18(5):511-8. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.187>
- [128]. Vairo FPE, Chwal BC, Perini S, Ferreira MAP, de Freitas Lopes AC, Saute JAM. A systematic review and evidence-based guideline for diagnosis and treatment of Menkes disease. *Mol Genet Metab.* 2019; 126(1):6-13. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.12.005>
- [129]. Kaler SG. Inborn errors of copper metabolism. *Handb Clin Neurol.* 2013; 113:1745-54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59565-2.00045-9>
- [130]. Song M, Vos MB, McClain CJ. Copper-fructose interactions: a novel mechanism in the pathogenesis of NAFLD. *Nutrients.* 2018; 10(11):1815. <https://doi.org/10.3390/nu10111815>
- [131]. Harder NHO, Hieronimus B, Stanhope KL, Shibata NM, Lee V, Nunez MV, *et al.* Effects of dietary glucose and fructose on copper, iron, and zinc metabolism parameters in humans. *Nutrients.* 2020; 12(9):2581. <https://doi.org/10.3390/nu12092581>
- [132]. DiNicolantonio JJ, O'Keefe JH, Lucan SC. Added fructose: a principal driver of type 2 diabetes mellitus and its consequences. *Mayo Clin Proc.* 2015; 90(3):372-81. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.12.019>
- [133]. Caliceti C, Calabria D, Roda A, Cicero AFG. Fructose intake, serum uric acid, and cardiometabolic disorders: a critical review. *Nutrients.* 2017; 9(4):395. <https://doi.org/10.3390/nu9040395>

- [134]. Lanaspa MA, Sanchez-Lozada LG, Choi YJ, Cicerchi C, Kanbay M, Roncal-Jimenez CA, *et al.* Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. *J Biol Chem.* 2012; 287(48):40732-44.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.399899>
- [135]. Arredondo M, Núñez H, López G, Pizarro F, Ayala M, Araya M. Influence of estrogens on copper indicators: in vivo and in vitro studies. *Biol Trace Elem Res.* 2010; 134(3):252-64.
<https://doi.org/10.1007/s12011-009-8475-x>
- [136]. Carruthers ME, Hobbs CB, Warren RL. Raised serum copper and caeruloplasmin levels in subjects taking oral contraceptives. *J Clin Pathol.* 1966; 19(5):498-500. <https://doi.org/10.1136/jcp.19.5.498>
- [137]. Mehta SW, Eikum R. Effect of estrogen on serum and tissue levels of copper and zinc. *Adv Exp Med Biol.* 1989; 258:155-62.
https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0537-8_13
- [138]. Bureau I, Anderson RA, Arnaud J, Raysiguier Y, Favier AE, Roussel AM. Trace mineral status in post menopausal women: impact of hormonal replacement therapy. *J Trace Elem Med Biol.* 2002; 16(1):9-13. [https://doi.org/10.1016/S0946-672X\(02\)80003-7](https://doi.org/10.1016/S0946-672X(02)80003-7)
- [139]. Lee J, Choi K, Park J, Moon HB, Choi G, Lee JJ, *et al.* Effects of octylphenol and bisphenol A on the metal cation transporter channels of mouse placentas. *Int J Environ Res Public Health.* 2016; 13(10):965.
<https://doi.org/10.3390/ijerph13100965>
- [140]. Carrier J, Aghdassi E, Cullen J, Allard JP. Iron supplementation increases disease activity and vitamin E ameliorates the effect in rats with dextran sulfate sodium-induced colitis. *J Nutr.* 2002; 132(10):3146-50.
<https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1462>
- [141]. Carrier J, Aghdassi E, Platt I, Cullen J, Allard JP. Effect of oral iron supplementation on oxidative stress and colonic inflammation in rats with induced colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001; 15(12):1989-99.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.2001.01113.x>
- [142]. Yilmaz B, Li H. Gut microbiota and iron: the crucial actors in health and disease. *Pharmaceuticals (Basel).* 2018; 11(4):98.
<https://doi.org/10.3390/ph11040098>
- [143]. Botta A, Barra NG, Lam NH, Chow S, Pant N, Aaltonen MV, *et al.* Iron supplementation may selectively reprofile the gut microbiome of females of reproductive age. *Blood.* 2022; 140(Suppl 1):2471-2.
<https://doi.org/10.1182/blood-2022-167566>
- [144]. Tolkien Z, Stecher L, Mander AP, Pereira DI, Powell JJ. Ferrous sulfate supplementation causes significant gastrointestinal side-effects in adults: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015; 10(2):e0117383.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117383>