



Perspectives in Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/permed



EINGELADENER ÜBERSICHTSARTIKEL

Risiken und Nutzen von Kupfer im Licht neuer Erkenntnisse zur Kupferhomöostase[☆]



Daniel López de Romaña, Manuel Olivares, Ricardo Uauy, Magdalena Araya^{*}

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Avenida El Líbano 5524, Macul 5540, Macul, Santiago, Chile

Eingegangen am 7. Mai 2010; angenommen am 17. November 2010

SCHLÜSSELWÖRTER

Kupfer;
Mangel;

Zusammenfassung Das essentielle Spurenelement Kupfer ist an einer Vielzahl biologischer Prozesse beteiligt, die für die Erhaltung des Lebens unverzichtbar sind. Im Überschuss kann es jedoch auch toxisch sein, wobei der häufigste chronische Effekt in einer Schädigung der Leber besteht. Die Resorption von Kupfer im Verdauungstrakt sowie seine Ausscheidung über die Galle

DOI von Original Artikel: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2010.11.004>.

Abkürzungen: Cu, Kupfer; ATP7B, Kupfer-transportierende ATPase vom P-Typ, beta-Polypeptid; hCTR1, human copper transport protein 1 (humanes Kupfertransportprotein 1); DMT1, divalenter Metallionentransporter 1; MT, Metallothionein; ATP7A, Kupfer-transportierende ATPase vom P-Typ, alpha-Polypeptid; GSH, reduziertes Glutathion; CCS1, Kupfer-Chaperon für Cu/Zn-Superoxiddismutase; SOD, Superoxid-dismutase; ESADDI, Estimated Safe and Adequate Daily Dietary Intake (Schätzung des unbedenklichen und ausreichenden Tagesbedarfs); NHANES III, Third National Health and Nutrition Examination Survey; EG, Europäische Gemeinschaft; Cp, Ceruloplasmin; ICC, Indian Childhood Cirrhosis (Indische frühkindliche Leberzirrhose); ICT, Idiopathic Chronic Toxicosis (idiopathische chronische Toxikose); WHO, World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation); IOM, Institute of Medicine (US-amerikanisches Medizinisches Institut der National Academy of Sciences); DRI, dietary reference intakes (Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr); EAR, estimated average requirement (geschätzter Durchschnittsbedarf); RDA, recommended dietary allowance (empfohlene Tagesdosis); AI, adequate intake (ausreichende Zufuhrmenge); UL, tolerable upper intake level (tolerable höchste Zufuhrmenge); SCF, Scientific Committee for Food (Wissenschaftlicher Lebensmittelausschuss der Europäischen Kommission); LTI, lowest threshold intake (niedrigste Zufuhrschwelle); AR, average requirement (mittlerer Tagesbedarf); PRI, population reference intake (Referenzaufnahmemenge für die Bevölkerung); IPCS, International Programme on Chemical Safety (Internationales Programm für chemische Sicherheit); AROI, adequate range of oral intake (adäquater Bereich für die orale Zufuhr); RNI, recommended nutrient intake (empfohlene Nährstoffzufuhrmenge); ATSDR, Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (Agentur zur Registrierung toxischer Substanzen und Krankheiten); MRL, oral minimum risk level (Richtwert für die orale Zufuhr); NOAEL, no observed adverse effect level (höchste Konzentration, bei der keine gesundheitsschädlichen Effekte beobachtet werden); LOAEL, lowest observed adverse effect level (niedrigste Konzentration, bei der noch gesundheitsschädliche Effekte beobachtet werden).

[☆] Dieser Artikel wurde in Englisch als Invited Review im Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 25 (2011) 3-13 publiziert. Aus dem Englischen von: Cornelia Schmutzler. E-Mail-Adresse: CABSchmutzler@aol.com. Deutsche Version online verfügbar seit: 15. November 2013.

^{*} Korrespondierender Autor.

E-Mail-Adresse: maraya@inta.uchile.cl (M. Araya).

Überschuss;
Bedarf;
Biomarker

werden durch wirkungsvolle Regulationsmechanismen kontrolliert. Beim Menschen wird Kupfer, abhängig von der Kupferzufuhr, dem Vorliegen weiterer Faktoren in der Nahrung, die seine Resorption fördern oder hemmen können, und dem Kupferstatus, zu 12 bis 60 % resorbiert. Aktuelle Daten lassen vermuten, dass Kupfermangel mit höherer Prävalenz vorkommen könnte als bisher angenommen wurde, wohingegen Kupfertoxizität unter normalen Lebensumständen eher selten ist. Das Menkes-Syndrom und die Wilson-Krankheit sind genetische Störungen, die mit schwerem Kupfermangel bzw. mit Kupfertoxizität assoziiert sind.

Die Auswirkungen eines milden Kupfermangels oder -überschusses sind bisher noch nicht ausreichend beschrieben, was hauptsächlich auf das Fehlen sensitiver und spezifischer Indikatoren zurückzuführen ist. Die am häufigsten verwendeten Indikatoren sind die Kupferkonzentration und die Ceruloplasminspiegel im Serum, jedoch lassen sich mit ihnen nur vergleichsweise starke Änderungen des Kupferstatus nachweisen. Von den vielen Proteinen, die als potenzielle Marker für den Kupferstatus untersucht werden, hat das Chaperon der Cu/Zn-Superoxiddismutase (CCS1) vielversprechende Ergebnisse geliefert. Um seine Eignung als Indikator für Kupfermangel im Frühstadium zu bestätigen, sind jedoch noch weitere Daten zu seinem Verhalten unter verschiedenen Bedingungen erforderlich. Die Bestimmung des Kupferbedarfs sowie einer Obergrenze für die unbedenkliche Zufuhr (Tolerable Upper Intake Level, UL) ist ein komplexer Prozess, da Kupfermangel und Kupferüberschuss gleichermaßen zu Gesundheitsschäden führen (U-förmige Kurve). Im Regelwerk für die Risikobewertung essentieller Spurenelemente, das im Rahmen des Internationalen Programms für Chemikaliensicherheit (International Programme on Chemical Safety, IPCS) geschaffen wurde, wird ein homöostatisches Modell zur Ermittlung des adäquaten Bereichs für die orale Zufuhr (Adequate Range of Oral Intake, AROI) essentieller Spurenelemente vorgeschlagen. Der Tiefpunkt der sich ergebenden U-Kurve dient zur Definition des AROI. In diesem Bereich wird durch physiologische Mechanismen eine normale Homöostase aufrechterhalten und es sind im Grunde keine gesundheitsschädlichen Auswirkungen nachweisbar. Derzeit werden Werte für die empfohlene tägliche Zufuhr mit der Nahrung (RDI) und die ausreichende Zufuhrmenge (AI) herangezogen, um Empfehlungen für die Kupferzufuhr in verschiedenen Lebensphasen und -umständen zu formulieren. Die hier vorgelegten Daten, die am Menschen und an nicht-menschlichen Primaten erhoben wurden, weisen darauf hin, dass der aktuelle UL-Wert für Kupfer überprüft werden sollte. Die Entwicklung einer wissenschaftlichen Grundlage für den UL-Wert für Kupfer und die Bewertung der Relevanz des Kupfermangels im globalen Rahmen sind die zentrale Herausforderung bei zukünftigen Forschungsarbeiten zum Thema Kupfer.

© 2014 Published by Elsevier GmbH. Cet article est publié en Open Access sous licence [CC BY-NC-ND](#)

Inhalt

Einleitung	41
Kupferhomöostase und -metabolismus	42
Kupferzufuhr mit der Nahrung	43
Kupfermangel	44
Kupfertoxizität und Gesundheitsschäden durch Kupferüberschuss	45
Wilson-Krankheit	45
Indische frühkindliche Leberzirrhose und idiopathische chronische Toxikose	45
Notwendigkeit neuer Biomarker	46
Nährstoffzufuhr, Bedarf und Empfehlungen	46
Risikobewertung und Sicherheitsabwägungen für die Kupferzufuhr	48
Offenlegung von Interessenkonflikten	51

Einleitung

Das essentielle Spurenelement Kupfer ist Bestandteil verschiedener Proteine, die an einer Vielzahl für die Erhaltung des Lebens unabdingbarer biologischer Prozesse beteiligt sind [1–6]. Im Überschuss kann es jedoch auch toxisch sein, wobei der häufigste chronische Effekt in einer Schädigung der Leber besteht. Ernährungsempfehlungen für bestimmte Personengruppen, bei denen ein Risiko für Gesundheitsschäden durch mäßigen Kupfermangel oder -überschuss besteht, stellen eine Herausforderung dar und setzen eine genauere Kenntnis der relevanten frühen Veränderungen

voraus, die mit niedriger oder hoher Kupferzufuhr verbunden sind. Die Wichtigkeit von Kupfer einerseits und seine Toxizität andererseits werden durch zwei seltene genetische Krankheiten illustriert: das Menkes-Syndrom und die Wilson-Krankheit. Erstere führt zu schwerem Mangel [7–9], wobei die Folge in der Regel der Tod des Betroffenen ist, letztere führt zu schwerer Leberzirrhose aufgrund kupferinduzierter oxidativer Schädigung der Leber und anderer Gewebe [10–12]. Die Auswirkungen, die bei nur geringgradigem Kupfermangel oder -überschuss auftreten, sind bisher jedoch nicht ausreichend bekannt. Der Hauptgrund dafür liegt darin, dass die verfügbaren Kupferindikatoren nicht

sensitiv und spezifisch genug sind, um frühe Veränderungen nachzuweisen [13–15].

Während der letzten beiden Jahrzehnte herrschten Bedenken unter den Forschern und bei den Gesundheitsbehörden, die normale tägliche Versorgung mit Kupfer (hauptsächlich über das Trinkwasser und die Nahrung) könnte bei bestimmten Untergruppen in der Bevölkerung zu einem Gesundheitsrisiko führen, insbesondere bei Kindern [16] sowie bei Personen, die für das mutierte beta-Polypeptid der Kupfer-transportierenden ATPase vom P-Typ (ATP7B), auch bekannt als Wilson-Protein, heterozygot sind (schätzungsweise 1:90) [17]. Obwohl die Auswirkungen eines Kupfermangels auf die Bevölkerung erheblich sein können, liegen derzeit keine ausreichenden Daten hierzu vor. In diesem Artikel geben wir eine Übersicht über wichtige Aspekte des Kupfermetabolismus im gesamten Körper sowie die zellulären und molekularen Grundlagen der Kupferhomöostase. Wir diskutieren außerdem die verfügbaren Daten über gesundheitsschädliche Auswirkungen sowohl des Kupfermangels als auch des Kupferüberschusses sowie die Notwendigkeit von Biomarkern zur Definition früher gesundheitsschädlicher Effekte hoher und niedriger Kupferzufuhr auf die menschliche Gesundheit. Schließlich geben wir eine Übersicht über die Daten, die die Grundlage für die aktuellen Empfehlungen zur Kupferzufuhr mit der Nahrung bilden, einschließlich der Festlegung sicherer Obergrenzen für die Kupferaufnahme.

Kupferhomöostase und -metabolismus

Kupfer wird hauptsächlich im Duodenum resorbiert, jedoch geht man davon aus, dass die Resorption zu einem geringen Teil auch im Magen und im distalen Teil des Dünndarms erfolgt [18]. Die Effizienz der Kupferresorption beim Menschen beträgt schätzungsweise 12 bis 60% [19], abhängig von der Kupferzufuhr, dem Vorliegen von Nahrungsmittelbestandteilen, die seine Resorption fördern oder hemmen, sowie dem Kupferstatus einer Person. Wie in Studien unter Anwendung von Stabilisotopentechniken gezeigt wurde, nimmt die fraktionelle Absorption von Kupfer ab, wenn die Kupferaufnahme zunimmt [19]. Die Gesamtmenge des zurückgehaltenen Kupfers nimmt mit steigender Aufnahme zu und erreicht bei einer Kupferzufuhr von etwa 7–8 mg/Tag ein Plateau von etwa 1 mg/Tag [19]. Verschiedene Nahrungsmittelbestandteile werden als mögliche Modifikatoren der Kupferresorption beim Menschen diskutiert. Proteine [20,21] und bestimmte Präbiotika, wie z. B. kurzkettige Fruktio-Oligosaccharide und Inulin, fördern die Kupferresorption [22,23]. Ascorbinsäure, Zink, Phytat, NaFeEDTA und Polyphenole dagegen scheinen die Kupferresorption nicht zu beeinflussen [24–30]. Aus den beiden einzigen bisher am Menschen durchgeführten Studien kann nicht geschlossen werden, ob Eisen einen negativen Einfluss auf die Kupferresorption hat [31,32].

Die Aufnahme von Kupfer in die Enterozyten, so wird angenommen, erfolgt hauptsächlich durch das humane Kupfertransportprotein 1 (hCTR1). Der Prozess wird durch die Aktivität von Reduktasen (Steap2 und Dyctb [33–35]) in der apikalen Membran vermittelt, die das Cu^{2+} aus der Nahrung zu Cu^{1+} reduzieren, der Oxidationsstufe, in der hCTR1 Kupfer transportiert. Bis vor wenigen Jahren galt hCTR1 noch als

das einzige für den Kupfer-Uptake verantwortliche Protein. Aktuelle Daten zeigen jedoch, dass der divalente Metalionentransporter 1 (DMT1), ein in der apikalen Membran der Enterozyten lokalisiertes Eisentransportprotein, ebenfalls Cu^{1+} transportieren könnte [36,37]. Sobald sich das Kupfer im Zytoplasma befindet, wird es entweder durch Metallothionein (MT) chelatiert oder an ein Kupfer-Chaperon gebunden. So transferiert Atox1 beispielsweise Kupfer zum alpha-Polypeptid der Kupfer-transportierenden ATPase vom P-Typ (ATP7A), das den basolateralen Efflux vermittelt [38]. Dies unterstreicht die wichtige Rolle der Enterozyten beim Uptake und möglicherweise auch bei der kurzfristigen Speicherung von Kupfer im Körper (Abb. 1A)

Nach der Resorption im Darm wird Kupfer in den Pfortaderkreislauf sezerniert. Hierbei ist es als Cu^{2+} an Albumin, Transcuprein, niedermolekulare Kupfer-Histidin-Komplexe oder eine Kombination daraus gebunden [39–41]. Hat das Kupfer die Leber erreicht, wird es über hCTR1 rasch von den Hepatozyten aufgenommen (Abb. 1B), wobei auch an diesem Schritt Reduktasen beteiligt sind. Befindet sich das Kupfer im Zytoplasma, wird es wahrscheinlich an reduziertes Glutathion (GSH) und MT gebunden, die als intrazelluläre Kupferspeicher dienen. Von einem Molekül MT können bis zu 12 Kupferatome in einem stabilen Komplex gebunden werden, der sich offenbar mit dem an GSH gebundenen Kupfer im Austausch befindet [42]. Da an GSH gebundenes Kupfer einem rascheren Turnover unterliegt als das an MT gebundene, wird Kupfer auf diese Weise für andere Zwecke verfügbar und kann von Chaperonen übernommen werden. Das Kupfer-Chaperon für die Cu/Zn-Superoxiddismutase (CCS1) transferiert das Kupfer zur Superoxiddismutase (SOD) [43,44], die an der Abwehr von oxidativem Stress im Zytoplasma beteiligt ist. Cox17 ist ein weiteres Kupfer-Chaperon. Es transferiert Kupfer zur Cytochrom-c-Oxidase in der inneren Mitochondrienmembran, die eine wichtige Rolle beim Elektronentransport innerhalb der zellulären Atmungskette spielt [45,46]. Atox1 transferiert das Kupfer zum Transmembranprotein ATP7B im Trans-Golgi-Netzwerk, wo Kupfer in Ceruloplasmin eingebaut wird, woraufhin seine Sezernierung ins Blut oder in die Galle erfolgt [2,47].

Kupfer wird, entweder über die Galle oder als nicht resorbiertes Kupfer, in den Gastrointestinaltrakt exkretiert [48]. Andere Wege des Kupferverlusts, z. B. über den Schweiß, Urin oder bei der Menstruation, machen im Allgemeinen weniger als 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht pro Tag aus. Die Exkretion über die Galle stellt den Hauptweg der endogenen Kupferelimination dar [48]. Nur 10–15% des Kupfers in der Galle werden, abhängig vom Kupferstatus, reabsorbiert, wobei jedoch der Anteil des reabsorbierten Kupfers aus nicht biliären gastrointestinalen Sekreten höher sein dürfte. Damit im Plasma in physiologischer Kupferspiegel aufrecht erhalten bleibt, wird Kupfer durch die Leber aus dem Blutkreislauf entfernt. Es wurde vorgeschlagen, dass hCTR1 auch in der basolateralen Membran der Hepatozyten vorliegt und so den Uptake von Kupfer in die Hepatozyten ermöglicht [49]. Wenn der intrazelluläre und/oder der systemische Kupferspiegel erhöht ist, wird ATP7B in Vesikel verlagert, die mit Kupfer angefüllt sind und mit der apikalen Membran fusionieren, um das Kupfer in die Galle zu exportieren [50].

Es haben sich zelluläre und molekulare Mechanismen zur Regulation des Uptake, des Efflux, der Speicherung und der Verwendung von Kupfer entwickelt, so dass die

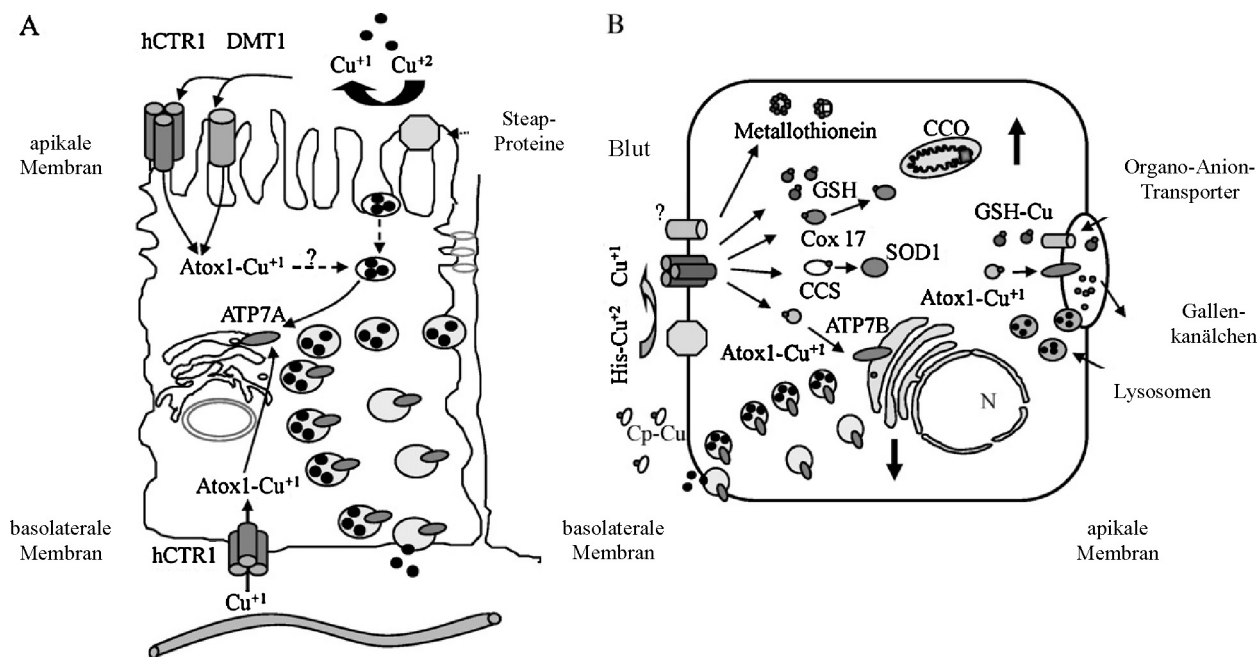


Abb. 1 Schematische Darstellung der Kupferhomöostase in Enterozyten (A) und Hepatozyten (B). (A) Cu^{2+} aus der Nahrung wird von Steap-Proteinen in der apikalen Membran der Hepatozyten zu Cu^{+} reduziert, der Oxidationsstufe, in der hCTR1 Kupfer importiert (möglicherweise auch DMT1). Im Zytoplasma bindet Cu an Atox1, das Cu zum ATP7B transferiert, welches den basolateralen Efflux vermittelt. (B) Nach Erreichen der Leber wird an Histidin gebundenes Cu^{2+} über hCTR1 in die Hepatozyten aufgenommen, wieder unter Beteiligung von Reduktasen. Befindet sich das Kupfer im Zytoplasma, wird es wahrscheinlich an reduziertes GSH und MT gebunden, die als intrazelluläre Kupferspeicher dienen. CCS transferiert Cu zur SOD1. Cox17 leitet Cu zur CCO in der inneren Mitochondrienmembran, die eine wichtige Rolle bei der zellulären Atmungskette spielt, und Atox1 leitet Cu zum ATP7B im Trans-Golgi-Netzwerk, wo es in Cp eingebaut wird. Daraufhin erfolgt seine Sezernierung ins Blut oder in die Galle.

Abkürzungen: Cu: Kupfer; hCTR1: humanes Kupfertransportprotein 1; DMT1: divalenter Metallionentransporter 1; ATP7A: kupfertransportierendes Alpha-Polypeptid; Cp: Ceruloplasmin; His: Histidin; CCS: Kupfer-Chaperon für Cu/Zn-Superoxiddismutase; SOD1: Superoxiddismutase; ATP7B: kupfertransportierendes Beta-Polypeptid; GSH: reduziertes Glutathion; CCO: Cytochrom-c-Oxidase; OAT-Organ-Anion-Transporter.

Konsequenzen eines Mangels oder Überschusses vermieden werden. Die Kupferhomöostase und damit der Kupferstatus werden auf der Ebene des gesamten Körpers sowohl durch die Resorption im Duodenum als auch durch die biliäre Exkretion reguliert (Abb. 1). In Situationen niedriger Kupferzufuhr steigt die Retention von resorbiertem Kupfer an und die Exkretion über die Galle geht zurück [19]. Umgekehrt wird bei hoher Kupferzufuhr eine Abnahme der Resorption und eine Zunahme endogener Verluste beobachtet. Die Hepatozyten sind sowohl für die Exkretion von Kupfer als auch für die Kontrolle der systemischen Kupferhomöostase von entscheidender Bedeutung. Bei Überlegungen zur Kupferzufuhr und zum Kupferbedarf sowie zu diesbezüglichen Empfehlungen (siehe folgende Abschnitte) muss berücksichtigt werden, dass die Menge an Kupfer, die vom Körper selbst letztendlich verwendet wird, nicht durch die Kupferzufuhr bestimmt wird. Die Bioverfügbarkeit ergibt sich vielmehr aus der Menge an Kupfer, die tatsächlich für die Resorption zur Verfügung steht, relativ zu der in der Nahrung vorhandenen Menge [51].

Kupferzufuhr mit der Nahrung

Der Mensch hat nur beschränkten Zugang zu Kupfer in der Umwelt. Nahrungsmittel, Trinkwasser und kupferhaltige

Nahrungsergänzungsmittel sind die Hauptquellen für Kupfer. Die Mengen, die durch Inhalation oder über die Haut aufgenommen werden, können vernachlässigt werden. Der Kupfergehalt in der Nahrung variiert beträchtlich, da sich verschiedene Nahrungsmittel in ihrem natürlichen Kupfergehalt stark unterscheiden [52]. Faktoren wie die Jahreszeit (die Kupferkonzentration ist in grünen Pflanzenanteilen höher), die Bodenqualität, die geographische Lage, die Herkunft des Wassers und der Einsatz von Dünger beeinflussen den Kupfergehalt in Nahrungsmitteln [52,53]. Bei normaler Versorgung übersteigt die Kupfermenge, die mit der Nahrung aufgenommen wird, deutlich die Menge an Kupfer, die aus anderen Quellen stammt. Trotzdem stellt diese Zufuhr kein Gesundheitsrisiko dar, da leistungsfähige und redundante Mechanismen die Resorption, Speicherung und Exkretion von Kupfer über einen breiten Bereich mit der Nahrung angebotener Kupfermengen wirkungsvoll kontrollieren. Nahrungsmittel, die reichlich Kupfer enthalten, sind z. B. Organe (Leber), bestimmte Meeresfrüchte (Austern), Kakaoprodukte, Nüsse (insbesondere Cashew-Kerne) und Körner. Milch (insbesondere Kuhmilch) und Molkereiprodukte enthalten dagegen nur wenig Kupfer.

Neben Nahrungsmitteln kann auch das Trinkwasser eine wichtige Quelle für Kupfer sein, wobei dies jedoch von Land zu Land unterschiedlich ist. Auch ist der Mineraliengehalt in Trinkwasser sehr variabel. Faktoren wie

der natürliche Mineraliengehalt, der pH-Wert und ob ein Installationssystem mit oder ohne Kupferrohrleitungen vorliegt, bestimmen die Kupferkonzentration im Wasser [54]. Weiches, saures Wasser, insbesondere wenn es durch Kupferrohre geleitet wird, weist eine hohe Kupferkonzentration auf [55]. In einer schwedischen Studie wurden Kinder im Alter von 9-21 Monaten untersucht [55], die Trinkwasser mit einem Kupfergehalt von 0,03-2,1 mg/l zu sich nahmen. Die mediane tägliche Zufuhr von Kupfer über das Trinkwasser betrug 0,46 mg in Uppsala und 0,26 mg in Malmö. In Ontario, Kanada, wurde ein durchschnittlicher Kupfergehalt im Trinkwasser von 0,176 mg/l gemessen [56]. Somit würde eine Person, die pro Tag 1,5 l Wasser trinkt, 0,264 mg Kupfer pro Tag aus dem Trinkwasser erhalten. Bei der schwedischen Studie betrug die mediane tägliche Kupferaufnahme aus dem Trinkwasser bei den 9-21 Monate alten Kindern 0,32 mg [55]. In einem kleinen Prozentsatz von Wohnungen wies das Trinkwasser eine Kupferkonzentration von mehr als 5 mg/l auf [55]. Obwohl Trinkwasser einen erheblichen Beitrag zur täglichen Kupferzufuhr leisten kann, überschreitet die gesamte Kupferaufnahme (aus Wasser und Nahrungsmitteln) bei den meisten Personen die tolerable Höchstzufuhrmenge wahrscheinlich nicht.

Es wird angenommen, dass bei Erwachsenen mehr als 90 % des zugeführten Kupfers aus Nahrungsmitteln stammen können, wenn der Kupfergehalt des Trinkwassers gering ist (< 0,1 mg/l). Bei höherem Kupfergehalt (> 1-2 mg/l) kann das Trinkwasser bis zu 50 % des gesamten zugeführten Kupfers beitragen. Bei Kindern ist der Anteil des Trinkwassers an der Kupferzufuhr u. U. höher, da sie im Verhältnis mehr Wasser zu sich nehmen als Erwachsene. Wenn Säuglinge mit Kupfer angereicherte Flaschennahrung erhalten, kann der Beitrag des Trinkwassers zur Kupferzufuhr auf unter 10 % absinken. Ist die Flaschennahrung dagegen nicht mit Kupfer angereichert, können mehr als 50 % des pro Tag aufgenommenen Kupfers aus dem Trinkwasser stammen, insbesondere, wenn der Kupfergehalt im Wasser weniger als 1-2 mg/l beträgt [57].

Zur Untersuchung der tatsächlichen Kupferzufuhr wurden verschiedene Studien durchgeführt, die meisten davon in den USA [58–62]. Bei der „Total Diet“-Studie (1982 - 1986) wurde festgestellt, dass die mittlere tägliche Zufuhr von Kupfer bei Erwachsenen (0,9 mg/Tag) unter dem geschätzten unbedenklichen und ausreichenden Tagesbedarf lag (Estimated Safe and Adequate Daily Dietary Intake, ESSADI) (0,5-1,18 mg/Tag) [59]. Die „Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)“ in den USA ergab, dass die mittlere Zufuhr von Kupfer allein über die Nahrung bei Männern und Frauen im Alter von 19-70 Jahren zwischen 1,54 und 1,70 mg/Tag bzw. 1,13 und 1,18 mg/Tag betrug [63]. Im Jahr 1986 nahmen etwa 15 % der Erwachsenen in den USA kupferhaltige Nahrungsergänzungsmittel ein. Den NHANES-III-Daten zufolge hatte sich die mittlere Zufuhr von Kupfer über die Nahrung und Nahrungsergänzungsmittel bei allen Personen (einschließlich schwangerer und stillender Frauen) auf 1,50 mg/Tag erhöht [63]. Vergleichbare Werte zur Kupferaufnahme wurden auch für die Europäische Gemeinschaft (EG) angegeben. Hier lag die Kupferzufuhr aus der Nahrung in verschiedenen Ländern in einem Bereich von 1,0 bis 2,3 mg/Tag bei erwachsenen Männern und von 0,9 bis 1,8 mg/Tag bei Frauen [64]. In der EG nimmt nur ein geringer Teil der Bevölkerung kupferhaltige

Nahrungsergänzungsmittel ein, wobei diese zusätzlich 0,1 bis 0,5 mg Cu/Tag liefern.

Kupfermangel

Das Konzept, Gruppen, bei denen ein Risiko für Kupfermangel besteht, mit Kupfer zu supplementieren, wird bereits seit einiger Zeit auf internationalen Tagungen diskutiert. Mögliche günstige Auswirkungen von Kupfer auf die Knochengesundheit und bei kardiovaskulären Erkrankungen werden derzeit untersucht [65–67]. Wenn sich solche Effekte bestätigen ließen, wäre die Kupfersupplementierung bei Risikogruppen eine sinnvolle Strategie, die näher geprüft werden sollte. Jedoch werden weitere Studien erforderlich sein, um zu klären, wie effizient sich das Gallensystem an die höhere Kupferzufuhr anpasst [68].

Die Auswirkungen eines erworbenen Kupfermangels sind zahlreich. Kupfermangel tritt mit höherer Wahrscheinlichkeit in jüngerem Alter auf, insbesondere bei Frühgeborenen, die aufgrund raschen Wachstums einen erhöhten Kupferbedarf haben, deren Kupferspeicher in der Leber jedoch reduziert sind. Klinisch wurde Kupfermangel bei Säuglingen beschrieben, die ohne geeignete Supplementierung von Mineralstoffen ausschließlich parenteral ernährt wurden sowie bei Malabsorptionssyndromen oder persistenten nephrotischen Syndromen, die zu erhöhtem Verlust von Kupfer führen [69]. Ein niedriger Kupferstatus wurde mit Knochenmissbildungen während der Entwicklung, dem Risiko für Osteoporose im Alter, gestörter Melaninsynthese, geschwächter Immunantwort und erhöhter Infektanfälligkeit, schlechtem kardiovaskulärem Gesundheitszustand sowie Veränderungen des Cholesterinmetabolismus in Verbindung gebracht. Störungen des Metabolismus anderer Spurenelemente, z. B. der Eisenmobilisierung, können zu sekundärem Eisenmangel und Anämie führen. Unterernährung im Säuglingsalter tritt sehr häufig auf und betrifft mehrere Millionen Kinder in Entwicklungsländern [70–72]. Über eisenresistente Anämie bei Säuglingen, die von niedrigen Kupferspiegeln im Plasma begleitet wird, wurde 1956 erstmals berichtet [72], und 1964 beschrieben Cordano et al. das gesamte Spektrum des Kupfermangels bei Säuglingen, die sich von einer Unterernährung erholten [73]. In jüngerer Zeit wurde Kupfermangel bei 100 % schwer unterernährter Kinder während der Verbesserung ihres Ernährungszustands nachgewiesen [74]. Die Schwierigkeiten, bei unterernährten Kindern zur Verbesserung ihres Ernährungszustands den Bedarf an Kupfer und anderen Mineralstoffen durch ein speziell zugeschnittenes Nahrungsmittelangebot zu decken, sind bereits diskutiert worden [75]. Heutzutage ist ein spezieller Verweis auf die langfristige Einnahme von Zinksupplementen erforderlich, die sekundären Kupfermangel auslösen kann [76]. Kupfermangel infolge übermäßiger Aufnahme von Zink ist in mehreren Fallstudien beschrieben worden [77–81]. Darüber hinaus wurde oxidativer Stress infolge von Kupfermangel mit einer beschleunigten Abnahme kognitiver Fähigkeiten bei der Alzheimer-Krankheit in Verbindung gebracht; hier besteht allerdings noch weiterer Klärungsbedarf [82].

Kupfertoxizität und Gesundheitsschäden durch Kupferüberschuss

Toxische Effekte im Zusammenhang mit Kupfer sind bei Personen, die nicht an der Wilson-Krankheit leiden, selten. Akute Toxizität wurde mehrfach bei Personen beschrieben, die versehentlich oder in Selbstmordabsicht höhere Dosen an Kupfer eingenommen hatten. Je nach der Kupferdosis kann das Ausbleiben einer geeigneten und rechtzeitigen Behandlung zum Tode führen [83–88]. Bei niedrigeren Dosen gehen die ersten Reaktionen auf eine akute Exposition gegenüber Kupfer vom Magen aus und führen zu vagaler Stimulation, wodurch als Reflexantwort Übelkeit und Erbrechen ausgelöst werden [89–91]. Ist die eingenommene Kupferdosis etwas höher, wird Erbrechen zusätzlich durch direkte Stimulation des Brechzentrums im Hypothalamus ausgelöst. Der Mechanismus, der im Zusammenhang mit höheren Kupferdosen zu Durchfall führt, ist jedoch noch nicht ausreichend aufgeklärt. Bei klinischen Studien an gesunden Männern und Frauen unter Einsatz verschiedener Kupfersalze, Wasserquellen und Kupferdosen wurde Übelkeit als der erste negative Effekt einer kontrollierten, akuten Exposition gegenüber Kupfer beschrieben [92–95]. Daten, die zu den akuten negativen Auswirkungen von Kupfer vorliegen, haben dazu geführt, dass die Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine Kupferkonzentration von 2 mg Cu/l im Trinkwasser als sicher für den menschlichen Konsum festgelegt hat.

Wilson-Krankheit

Das wichtigste und bekannteste Beispiel für chronische Kupfertoxizität ist die Wilson-Krankheit, eine autosomal rezessiv vererbte Krankheit, die auf eine Mutation im ATP7B-Gen zurückgeht [96]. Die Wilson-Krankheit ist beim Menschen die Hauptursache für die Akkumulation von Kupfer in der Leber und stellt ein natürliches Modell für die schwerwiegenden toxischen Wirkungen eines Kupferüberschusses dar [10–12]. Aufgrund der genetischen Heterogenität der Veränderungen an dem auf Chromosom 13 gelegenen ATP7B-Gen kommt es zu einer Vielzahl unterschiedlicher und unterschiedlich schwerwiegender klinischer Manifestationen [17,97]. Die Inzidenz des Defekts beträgt 1:30.000 bei Lebendgeborenen, während die Trägerfrequenz bei schätzungsweise 1:90 liegt [17]. Die Symptome treten selten vor dem 7. Lebensjahr auf und das klinische Erscheinungsbild hängt vom Ausmaß der Kupferansammlung in bestimmten Organen ab, hauptsächlich der Leber, dem Gehirn und der Hornhaut (Kayser-Fleischer-Ring). Die häufigsten Manifestationen bei Wilson-Patienten sind eine chronische Lebererkrankung und/oder neurologische oder psychiatrische Beeinträchtigungen, die oft von Störungen der Nierenfunktion begleitet sind. In manchen Fällen zeigen sich auch ophthalmologische, hämatologische oder das Skelett betreffende Symptome. Trotz erhöhter Kupferwerte in der Leber sind der Ceruloplasmin-(Cp-) und der Kupferspiegel im Blut niedrig, wohingegen die Ausscheidung von Kupfer im Urin erhöht ist [17]. Einschränkung der Kupferzufuhr über die Nahrung hat nur wenig Einfluss auf den Krankheitsverlauf. Die derzeit angewandte Behandlungsstrategie sieht vor, die Kupferresorption durch orale Einnahme pharmakologischer Dosen von Zink (40–50 mg/Tag) zu senken

und/oder die Kupferexkretion durch Einsatz chelierender Substanzen wie D-Penicillamin [17], BAL [17] oder Thiomolybdat [98] anzukurbeln. Aus den derzeit vorliegenden Daten geht nicht hervor, ob heterozygote Träger einer ATP7B-Mutation ein gesteigertes Risiko haben, bei hohen Expositionen gegenüber Kupfer Symptome eines Kupferüberschusses zu entwickeln.

Indische frühkindliche Leberzirrhose und idiopathische chronische Toxikose

Indische frühkindliche Leberzirrhose (Indian Childhood Cirrhosis, ICC) [99] und idiopathische chronische Toxikose (Idiopathic Chronic Toxicosis, ICT) sind weitere Beispiele für chronische Kupfertoxizität. Erstere wurde mit einer hohen Kupferexposition durch den Verzehr von Kuhmilch in Verbindung gebracht, die in Behältern aus Kupfer oder Kupferlegierung gelagert oder erhitzt worden war. Die Kupferzufuhr, die bei den betroffenen Kindern zur Zirrhose führte, war 50- bis 100-mal höher als die normale Zufuhr bei einem gestillten Säugling. Tanner errechnete, dass diese Kinder pro Tag bis zu $930 \pm 36 \mu\text{g Cu/kg}$ Körpergewicht erhalten haben könnten. Eine Kupferzufuhr in dieser Höhe könnte für sich allein, also in Abwesenheit genetischer Defekte des Kupfermetabolismus, das Auftreten von Leberschäden erklären [100,101]. Einige Autoren haben vorgeschlagen, dass das Kupfer in diesen Fällen synergistisch mit Toxinen aus der Umwelt gewirkt haben könnte. Bei diesen ungewöhnlichen Fällen spielten entweder eine extrem hohe Exposition gegenüber Kupfer (ICC und ICT) oder unkonventionelle Ernährungsweisen eine Rolle, wie z. B. bei einem 26-jährigen Mann, der, nachdem er zunächst 30 Monate lang 30 mg und danach weitere 12 Monate lang 60 mg Kupfer pro Tag eingenommen hatte (zur „Leistungssteigerung“), eine Lebertransplantation benötigte [102]. Da nähere Einzelheiten zum letztgenannten Fallbericht nicht bekannt sind, kann der mögliche Einfluss genetischer Faktoren nicht beurteilt werden. Die kupferassoziierte frühkindliche Zirrhose ist eine äußerst seltene Erkrankung. Die auf der Grundlage prospektiver Daten aus Deutschland geschätzte Inzidenz der ICT beträgt 1:500.000 bis 1:1.000.000 [13]. Hinsichtlich der Prävalenz der ICC-Fälle in Indien liegen keine Daten vor, jedoch ging die Krankheit dramatisch zurück, nachdem der Bevölkerung geraten worden war, keine Kupfergefäße mehr zum Aufbewahren und Erhitzen von Milch zu verwenden. Aktuellen Beobachtungen zufolge, die auf Krankenhausweisungen im Distrikt Pune beruhen, sind seit 1974 keine neuen Fälle mehr diagnostiziert worden [103]. In ländlichen Regionen Tirols in Österreich, wo ebenfalls Kupfergefäße zur Zubereitung von Säuglingsnahrung verwendet wurden, starben 138 Säuglinge und Kleinkinder zwischen 1900 und 1974 an Leberzirrhose, die einer chronisch hohen Exposition gegenüber Kupfer zugeschrieben wurde [104]. Die Krankheit folgte dem typischen Muster eines rezessiven Mendelschen Erbgangs. Nachdem die Gemeinden die Verwendung von Kupfergegenständen aufgegeben hatten, wurden keine weiteren Fälle mehr beobachtet. Sporadische Fälle frühkindlicher Zirrhose wurden auch aus anderen Ländern berichtet, und in einigen dieser Fälle wurden im Nachhinein hohe Kupferkonzentrationen im Trinkwasser festgestellt [105]. Da jedoch manche dieser Fälle in

konsanguinen Ehen auftraten, die Krankheit unter Jungen häufiger war und einige der Patienten keine erhöhten Kupfermengen mit der Nahrung (einschließlich des Trinkwassers) aufgenommen hatten, ist zu vermuten, dass hier eine besondere genetische Suszeptibilität vorgelegen haben könnte [100,106,107]. Diese Annahme wird weiter gestützt durch die Tatsache, dass alle anderen Kleinkinder, die in derselben geographischen Region lebten, denselben Kupfermengen ausgesetzt waren, jedoch keine Leberschäden entwickelten. Um die Ätiologie der ICC und der ICT sowie deren Zusammenhang mit der Kupferaufnahme aufzuklären, ist ein tieferes Verständnis der Kupferresorption und -exkretion im frühen Kindesalter und deren Anpassung an eine hohe Kupferzufuhr von entscheidender Bedeutung. Darüber hinaus sollten bei diesen Krankheiten eventuelle epigenetische Veränderungen untersucht werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ätiologie der ICC und der ICT immer noch unbekannt ist. Die wahrscheinlichste Erklärung für diese Krankheiten scheint jedoch die Kombination eines genetischen Defekts des Kupfermetabolismus mit einer hohen Kupferzufuhr zu sein. Der relative Beitrag der beiden Faktoren ist nicht bekannt.

Notwendigkeit neuer Biomarker

Die diskutierten Daten zeigen, dass trotz der in den letzten Jahrzehnten gewonnenen, umfangreichen Kenntnisse immer noch Bedarf besteht, unser Verständnis der frühen Effekte sowohl einer ungenügenden Kupferzufuhr als auch einer übermäßigen Exposition gegenüber Kupfer weiter zu verbessern. Der Kupferstatus wird strikt reguliert: Sowohl die intestinale Resorption von Kupfer einerseits als auch die biliäre Exkretion des Kupfers andererseits werden über einen breiten Bereich unterschiedlicher Expositionsgrade hinweg durch effektive Mechanismen herunter- bzw. hochreguliert [31,108]. Da die Exposition gegenüber Kupfer oder dessen Aufnahme nicht den Gehalt des Körpers an Kupfer zu einem bestimmten Zeitpunkt repräsentiert, kann der Kupferstatus nicht anhand der Aufnahme oder der Exposition bestimmt werden. Der verlässlichste Indikator des Kupferstatus ist daher der in der Leber gemessene Kupfergehalt [15,109,110]. Interessanterweise führt eine hohe Kupferkonzentration in der Leber allein nicht unbedingt zur Gewebeschädigung. Es ist bekannt, dass gesunde, reife Neugeborene bei der Geburt Kupferkonzentrationen in der Leber aufweisen können, wie sie auch bei Patienten mit Wilson-Krankheit beobachtet werden. Wie Neugeborene mit solch hohen Kupferkonzentrationen umgehen, ohne gesundheitliche Schäden zu erleiden, ist nicht bekannt.

Die am häufigsten verwendeten Marker des Kupfermetabolismus im Blut sind der Serum-Kupferspiegel und die Cp-Konzentration, die sich bei der Diagnose der Menkes- und der Wilson-Krankheit sowie eines mäßigen bis schweren Kupfermangels als nützlich erwiesen haben [111,112]. Jedoch fungieren diese Marker auch als Akut-Phase-Proteine, weshalb ihre Konzentration bei Entzündungen, während der Schwangerschaft, im Alter und bei einer Reihe von Erkrankungen ansteigt. Daher kann unter diesen Bedingungen ein vorliegender Kupfermangel leicht übersehen werden. Darüber hinaus sind diese Marker bekanntermaßen nicht empfindlich genug, um damit kleinere Änderungen des

Kupferstatus nachweisen zu können. Die Aktivitäten kupferabhängiger Enzyme, wie z. B. der SOD aus Erythrozyten, der Cytochrom-c-Oxidase aus Thrombozyten, der Diaminoxidase aus Plasma, der Lysyloxidase aus Gewebe und der Peptidylglycin-amidierenden Monooxygenase aus Plasma und Gewebe sind als mögliche Marker für einen Kupfermangel vorgeschlagen worden [113]. Bei entsprechenden Tests haben sie sich jedoch als nicht sensitiv und reproduzierbar genug erwiesen, um damit frühen Kupfermangel nachweisen zu können [112]. Superoxiddismutase 3, die vorherrschende Form der SOD im Serum, hat kürzlich als möglicher Indikator des Kupferstatus die Aufmerksamkeit auf sich gezogen. Die Aktivität des Enzyms nimmt ab bei Ratten, die kupferdefizientes Futter erhalten, und zeigt über einen breiten Bereich der Kupferzufuhr aus der Nahrung hinweg eine starke positive Korrelation mit der Kupferkonzentration in der Leber [114]. Obwohl die vorliegenden Daten vielversprechend sind, ist es noch zu früh, um endgültige Schlüsse zu ziehen.

Was Kupferüberschuss angeht, so gibt es derzeit trotz verschiedener Bemühungen keine geeigneten Kandidaten für Biomarker. In den letzten Jahren sind eine Reihe von Proteinen und Enzymen, die im Blut vorliegen, unter verschiedenen Bedingungen der Kupferexposition gemessen worden, jedoch konnte bei keiner dieser Untersuchungen ein potenzieller Indikator für frühe Auswirkungen eines Kupferüberschusses identifiziert werden [111]. Die Suche nach Indikatoren konzentriert sich nun auf spezielle zelluläre Reaktionen, die in leicht zugänglichen Zellen beobachtet werden können. Diese Marschrichtung erweist sich als erfolgversprechend. In kürzlich durchgeführten Untersuchungen an Ratten und Mäusen zeigte sich, dass CCS1 bei Ratten unter Kupfermangel in Geweben und Erythrozyten signifikant und spezifisch ansteigt [115–120]. Ergebnisse, die anhand von mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut unterernährter Kinder erhalten wurden, bestätigen diese Daten (Araya et al., unveröffentlicht). CCS1 nahm ebenfalls signifikant und spezifisch ab in den mononukleären Zellen gesunder Erwachsener, die einem mäßigen Kupferüberschuss ausgesetzt waren: 8 mg Cu/Tag für 6 Monate [121,122] oder 10 mg Cu/Tag für 2 Monate [123]. Obwohl diese Ergebnisse vielversprechend scheinen, ist es noch ein weiter Weg bis zur endgültigen Bestätigung, dass dieses Protein ein Indikator früher Effekte eines Kupferüberschusses oder -mangels beim Menschen sein könnte.

Nährstoffzufuhr, Bedarf und Empfehlungen

Das Konzept des Nährstoffbedarfs hat sich über einen längeren Zeitraum entwickelt. Eine Definition des Nährstoffbedarfs stammt von der Expert Consultation on Trace Elements in Human Nutrition and Health (Expertenkommission für Spurenelemente in der menschlichen Ernährung und Gesundheit) der Weltgesundheitsorganisation, der Organisation für Ernährung und Landwirtschaft der UNO und der Internationalen Atomenergie-Organisation (WHO/FAO/IAEO): die bei einer bestimmten Nutzungseffizienz zur Aufrechterhaltung eines gegebenen Versorgungsniveaus erforderliche niedrigste, dauerhafte Nährstoffzufuhr [124]. Das Konzept des Grundbedarfs wurde definiert als die Mindestzufuhrmenge, die erforderlich ist, um pathologisch

relevante und klinisch nachweisbare Anzeichen für Funktionsstörungen aufgrund des Mangels an einem Nährstoff zu verhindern. Der Grundbedarf reicht jedoch nicht aus, um Nährstoffreserven im Körper aufrechtzuerhalten oder um sicherzustellen, dass Resorption und Retention nicht bei maximaler Kapazität ablaufen. Daher wurde der sog. normative Bedarf definiert als die Zufuhrmenge, mit der der Grundbedarf und der zusätzliche Bedarf für die Aufrechterhaltung von Reserven im Gewebe oder anderen Speichern abgedeckt werden können [125]. Diese letzteren Konzepte entsprechen der Definition von Gesundheit der WHO (2003) [125] und des IOM (US-amerikanisches Institute of Medicine der National Academy of Sciences) [126], nach der Gesundheit nicht nur das Fehlen von Krankheiten bedeutet, sondern auch ein reduziertes Risiko, Krankheiten oder chronische Leiden zu entwickeln. Der Kupferbedarf wurde anhand verschiedener Methoden abgeschätzt, darunter Untersuchungen zur metabolischen Bilanz bei unterschiedlich hoher Zufuhr, faktorielle Modellierung, Depletions-/Repletionsstudien und/oder epidemiologische Studien [125, 127–131]. Die vom IOM ausgesprochenen Empfehlungen gründen sich auf eine Untersuchung an sieben erwachsenen Probanden, die 12 Wochen lang 10 mg Kupfer pro Tag erhielten und deren Leberenzyme keine veränderte Aktivität aufwiesen [127]. Bei der Extrapolation auf schwangere Frauen wurde mittels faktorieller Berechnung der im Zusammenhang mit der Schwangerschaft erhöhte Bedarf, bei stillenden Frauen auch der zusätzliche Verlust über die Milch berücksichtigt [127]. Obwohl alle diese Methoden auf ein gewisses Maß an Kritik gestoßen sind, herrscht jedoch Konsens darüber, dass sie vernünftige Schätzungen erlauben. Die Hauptursache für Verzerrungen bei den ersten drei Ansätzen ist die Anpassung der Resorption an kurzfristige Änderungen der Nahrungszusammensetzung. Darüber hinaus gibt es bei diesen Methoden weitere mögliche Störfaktoren, wie z. B. der ungeplante Einfluss der Kupferspeziation bei den Versuchsdiäten oder der Nahrungsmittelmatrix, in der das Kupfer angeboten wird (Bioverfügbarkeit). Aufgrund des inzwischen besseren Verständnisses des zellulären Kupfermetabolismus scheint es geraten, bei den traditionellen Untersuchungen biochemischer und fäkaler Parameter, von denen bekannt ist, dass mit ihnen eher grobe Veränderungen erfasst werden, auch molekulare Indikatoren einzubeziehen. Die Berücksichtigung genetischer Marker bei epidemiologischen Ansätzen zur Messung von Effekten eines adäquaten oder veränderten Kupferstatus ist sicher sinnvoll, jedoch werden solche Untersuchungen durch hohe Kosten und den Mangel an sensitiven, reproduzierbaren Markern für Kupfer erschwert.

Die Daten, die Schätzungen zum Bedarf an essentiellen Spurenelementen zugrunde liegen, sind häufig ungenügend, v. a. in Bezug auf spezielle Altersgruppen, das Geschlecht und besondere physiologische Zustände. Das IOM hat kürzlich Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr (dietary reference intakes, DRI) entwickelt, die den geschätzten Durchschnittsbedarf (Estimated Average Requirement, EAR), die empfohlene Tagesdosis (Recommended Dietary Allowance, RDA), die ausreichende Zufuhrmenge (Adequate Intake, AI) und die tolerable höchste Zufuhrmenge (Tolerable Upper Intake Level, UL) einschließen [126]. Die Werte für EAR, RDA und AI geben die Kupfermenge an, die täglich mit der Nahrung zugeführt werden sollte. Der EAR-Wert

gibt die tägliche Zufuhrmenge eines Nährstoffs an, von der angenommen wird, dass sie den Bedarf von 50% der gesunden Personen in einer Bevölkerungsgruppe mit gegebenem Geschlecht und in einem bestimmten Altersbereich deckt. Der RDA-Wert gibt die durchschnittliche tägliche Zufuhrmenge eines Nährstoffs an, die den Bedarf von 97,5% der gesunden Personen in einer Bevölkerungsgruppe mit gegebenem Geschlecht und in einem bestimmten Altersbereich deckt. Dieser Wert versteht sich als Zielwert für die tägliche Zufuhr, die im Durchschnitt innerhalb einer festgelegten Spanne von Wochen oder Monaten erreicht werden sollte. Wenn die Daten nicht ausreichen, um einen EAR-Wert zu berechnen, können AI-Werte verwendet werden. AI-Werte basieren auf experimentell ermittelten Zufuhrmengen oder Schätzungen der üblichen mittleren Nährstoffzufuhr bei Gruppen gesunder Personen. Die DRI-Werte für Kupfer sind in [Tabelle 1](#) zusammengefasst.

1993 hat der Wissenschaftliche Lebensmittelausschuss der Europäischen Kommission (Scientific Committee for Food, SCF) [128] die sog. niedrigste Zufuhrschwelle (Lowest Threshold Intake, LTI) definiert: die Zufuhrmenge, unterhalb derer nahezu alle Angehörigen einer Gruppe ihre Stoffwechselfunktionen entsprechend den für die jeweiligen Nährstoff gewählten Kriterien nicht mehr adäquat aufrechterhalten können. Der mittlere Tagesbedarf (Average Requirement, AR) wurde definiert als die durchschnittliche tägliche Zufuhrmenge eines Nährstoffs, die entsprechend den gewählten Kriterien ausreicht, um den Bedarf von 50% der Angehörigen einer bestimmten Bevölkerungsgruppe zu decken. Die Referenzaufnahmemenge für die Bevölkerung (Population Reference Intake, PRI) wurde definiert als die Zufuhrmenge eines bestimmten Nährstoffs pro Tag, die ausreicht, um den Bedarf der meisten (97,5%) Angehörigen einer bestimmten Bevölkerungsgruppe zu decken. 2001 wurde vom Internationalen Programm für chemische Sicherheit (International Programme on Chemical Safety, IPCS) eine Methodik vorgeschlagen, die die Homöostase in das Risikobewertungsmodell einbezieht: das Konzept des adäquaten Bereichs für die orale Aufnahme (Adequate Range of Oral Intake, AROI) von Spurenelementen [132]. Der AROI-Wert wird ermittelt, indem Endpunkte mit vergleichbarer Relevanz für die Gesundheit auf der linken (Mangel) und der rechten (Überschuss) Seite der Kurve gegeneinander ausbalanciert werden.

WHO/FAO/IAEO legen so eine mittlere sichere Zufuhrmenge fest, mit der gewährleistet wird, dass nur für wenige Personen das Risiko einer inadäquaten oder exzessiven Aufnahme besteht [124]. Die Untergrenze der mittleren Zufuhrmenge für die Bevölkerung versteht sich als die niedrigste mittlere Zufuhrmenge, bei der das Risiko einer Depletion für die Bevölkerung akzeptabel bleibt, wenn es nach normativen Kriterien beurteilt wird, während die UL die höchste mittlere Zufuhrmenge darstellt, bei der das Risiko der Toxizität für die Bevölkerung akzeptabel bleibt. Innerhalb dieser beiden Grenzwerte besteht ein akzeptables Risiko für nachteilige Auswirkungen eines Mangels oder eines Überschusses. Schließlich haben die FAO/WHO die empfohlene Nährstoffaufnahme (recommended nutrient intake, RNI) definiert (ein Konzept ähnlich der RDA) als die Zufuhrmenge aus Nahrungsmitteln und Trinkwasser, die den Nährstoffbedarf von 97,5% der gesunden Personen einer Bevölkerungsgruppe mit festgelegtem

Tabelle 1 Empfohlene tägliche Zufuhr von Kupfer mit der Nahrung (RDI) und ausreichende Zufuhrmenge (AI) in verschiedenen Lebensphasen, in mg/Tag, entsprechend den Angaben der IOM und Australiens/Neuseelands.

	IOM (2004): Empfohlene tägl. Zufuhr (RDI) (mg/Tag)		Australien/Neuseeland (2004): Ausreichende Zufuhrmenge (AI) (mg/Tag)
SÄUGLINGS*		SÄUGLINGS	
0-6 Monate	0,20	0-2 Monate	0,20-0,2
7-12 Monate	0,22		
KINDER		KINDER	
1-3 Jahre	0,34	1-8 Jahre	0,7-1,0
4-8 Jahre	0,44	9-13 Jahre, männlich	1,3
9-13 Jahre	0,70	9-13 Jahre, weiblich	1,1
14-18 Jahre	0,89	14-18 Jahre, männlich	1,5
		14-18 Jahre, weiblich	1,1
ERWACHSENE		ERWACHSENE	
19-70+ Jahre männl./weibl.	0,90	19-70+ Jahre, männlich	1,7
		19-70+ Jahre, weiblich	1,2
SCHWANGERSCHAFT		SCHWANGERSCHAFT	
14-50 Jahre	1	14-50 Jahre	1,2-1,3
LAKTATION		LAKTATION	
14-50 Jahre	1,3	14-50 Jahre	1,4-1,5

* Die AI für Säuglinge im Alter von 0 bis 12 Monaten basiert auf der ermittelten Kupferzufuhr bei Säuglingen, die vorwiegend gestillt wurden. Im Zeitraum von 0 bis 6 Monaten stellt dies die Kupfermenge dar, die normalerweise über die Muttermilch zugeführt wird. Es ist jedoch bekannt, dass die Muttermilch bei längerer Stillzeit ihre Zusammensetzung ändert.

Geschlecht und in einem bestimmten Altersbereich deckt [133,134].

2004 hat die Agentur zur Registrierung toxischer Substanzen und Krankheiten (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry, ATSDR) zum Schutz vor Toxizität durch sowohl akute als auch mittelfristige Exposition gegenüber Kupferüberschuss einen Richtwert für die orale Kupferzufuhr (MRL) von 0,01 mg/kg Körpergewicht pro Tag abgeleitet. Bei Annahme eines Körpergewichts von 70 kg beträgt der MRL-Wert 0,7 mg/Tag. Dieser Wert ist niedriger als der RDI-Wert von 0,9 und 1 mg pro Tag, den das IOM (2001) [127] bzw. der SCF (2003) [128] als ausreichend für die Deckung des Kupferbedarfs über die Nahrung festgelegt haben. Derartige Widersprüche zeigen, dass eine bessere Koordination zwischen den Gremien, die Empfehlungen zur Prävention von Mangelzuständen aussprechen, und denen, die auf den Schutz vor Toxizität hinarbeiten, dringend erforderlich ist.

Historisch gesehen erfolgten diese Schätzungen auf der Grundlage von Studien, die in den USA durchgeführt wurden. 2005 gaben die Gesundheitsministerien von Australien und Neuseeland ihre eigenen Empfehlungen heraus [135]. Auf der Grundlage der medianen Kupferaufnahme durch die Bevölkerung, die in nationalen Ernährungsumfragen in Australien und Neuseeland ermittelt worden war, wurde ein AI-Wert für alle Altersgruppen formuliert [135]. Dies ist wahrscheinlich der Grund dafür, dass alle diese Werte höher liegen als die RDI-Werte für sämtliche Altersgruppen, außer für Säuglinge (Tabelle 1).

Zusammengefasst zeigen die große Zahl vorgeschlagener Kriterien und die Widersprüche, wie z. B. die Formulierung eines MRL-Werts, der niedriger liegt als der RDI-Wert, dass wir derzeit nicht in der Lage sind, zu

definieren, was ein normaler Kupferstatus ist und wann Änderungen in Richtung Kupferüberschuss und Kupfermangel ein gesundheitliches Risiko darstellen. Eine Haupteinschränkung in diesem Zusammenhang ist der Mangel an sensitiven Indikatoren für den Nachweis früher gesundheitsschädlicher Auswirkungen. Die oben erwähnten Einschränkungen erschweren Schlussfolgerungen hinsichtlich des aktuellen Bedarfs an Kupfer sowie Empfehlungen für die Zufuhr. Bei jeder einzelnen Analyse müssen wir, abhängig von den lokal jeweils verfügbaren Daten, weiterhin zwischen den vielen unterschiedlichen Konzepten wählen, die in der vorliegenden Übersicht aufgeführt sind. Es besteht eindeutig ein Bedarf, unsere Kenntnisse über die Regulation des Kupferstatus, dessen physiologische Variationen und daraus resultierende Änderungen von Biomarkern zu verbessern, dem wir dringend nachkommen müssen.

Risikobewertung und Sicherheitsabwägungen für die Kupferzufuhr

Die Grundannahme der traditionellen Risikobewertung im Hinblick auf Spurenelemente besteht darin, dass es sich um toxische Elemente handelt, die für das Leben nicht erforderlich sind und die, wie z. B. Blei, keine Funktion haben. In solchen Fällen ist die beste Empfehlung, eine Aufnahme ganz zu vermeiden [136]. Da jedoch sowohl ein Mangel als auch ein Überschuss an essentiellen Spurenelementen zu Gesundheitsschäden führt, ist klar, dass diese Empfehlung für essentielle Spurenelemente nicht gelten kann. Die Festlegung eines MRL-Werts für Kupfer von 0,7 mg/Tag durch den SCF ist ein Beispiel für das Dilemma, das sich auftut, wenn

die üblichen Methoden der Risikoabschätzung zur Bewertung der Toxizität von Kupfer angewendet werden: Das Ergebnis können Gesundheitsschäden durch Kupfermangel sein.

Im Regelwerk für die Risikobewertung essentieller Spurenelemente, das vom IPCS formuliert wurde, wird ein homöostatisches Modell zur Bestimmung des AROI für essentielle Spurenelemente vorgeschlagen [132]. Das Ergebnis ist eine U-förmige Dosis-Wirkungs-Kurve, bei der der mittlere Bereich den AROI-Wert repräsentiert, der die Gruppen an den beiden Extremen der Kurve ausschließt, Mangel und Überschuss. Innerhalb des Bereichs der akzeptablen Aufnahme erlauben die physiologischen homöostatischen Mechanismen einen Spielraum unterschiedlicher Zufuhrmengen, die nicht zu nachweisbaren gesundheitlichen Schäden führen. Im Gegensatz dazu basieren klassische Modelle der Risikoabschätzung auf (a) Toxizitätsstudien zur Definition von No-effect- oder Benchmark-Dosen, oberhalb derer schädliche und bereits vorliegende Effekt nachweisbar sind und (b) die Anwendung von Unsicherheitsfaktoren, die umso größer werden, je weniger Daten vorliegen oder je weniger aussagekräftig diese sind. Beim homöostatischen Modell werden die Belege für Risiken, die aus einem Mangel resultieren, gegen die Belege für Risiken abgewogen, die mit einem Überschuss verbunden sind, wobei Endpunkte für Mangel und Überschuss berücksichtigt werden, die im Hinblick auf das Alter, das Geschlecht und die physiologischen Bedingungen relevant sind. Darüber hinaus werden die

Wahrscheinlichkeit eines Risikos und der Schweregrad verschiedener Effekte quantifiziert, und es werden diejenigen ausgewählt, die für die Bestimmung von Cutoff-Werten für Mangel und Toxizität entscheidend sind.

Die Festlegung einer UL für einen Nährstoff erfordert: (1) Risikoerkennung (d. h. Identifizierung aller bekannten gesundheitsschädlichen Wirkungen des Nährstoffs); (2) Analyse der Dosis-Wirkungs-Studien zur Bestimmung der höchsten Konzentration, bei der keine gesundheitsschädlichen Effekte (no observed adverse effect level, NOAEL) bzw. der niedrigsten Konzentration, bei der noch gesundheitsschädliche Effekte beobachtet werden (lowest observed adverse effect level, LOAEL), im Hinblick auf alle identifizierten Risiken und (3) die Anwendung eines Unsicherheitsfaktors als Korrektur für die Extrapolation von der untersuchten Population auf die allgemeine Bevölkerung [127,128]. Durch den Unsicherheitsfaktor werden verschiedene Probleme berücksichtigt, die das mit dem beurteilten Element verbundene Risiko modifizieren könnten, wie z. B.: Variationen zwischen Individuen; Unsicherheiten bei der Extrapolation von Tiermodellen auf den Menschen; die Durchführung von subchronischen Studien als repräsentativ für Untersuchungen zur chronischen Exposition; die Bedeutung von gesundheitsschädlichen Effekten; die Unsicherheit in Bezug auf den Spielraum zwischen LOAEL und NOAEL, wenn der LOAEL verwendet wird, und der mögliche Ausgleich von Risiken durch vorteilhafte Wirkungen

Tabelle 2 Studien an Menschen und nicht-menschlichen Primaten zur Untersuchung gesundheitsschädlicher Effekte der Exposition gegenüber einem Überschuss von Cu.

Design	Alter und Geschlecht	Darreichungsform des Cu	Cu-Salz	Einnahmezeitraum	Literatur
1. Doppelt verblindeter, placebokontrollierter Provokationstest an Menschen (n = 24)	22-45 Jahre, m und w	3 und 6 mg Cu/Tag als orales Supplement	Cu-Glycin-Chelat	6 Wochen	[139]
2. Kohortenstudie in Gemeinde, an Menschen (n = 240)	20-55 Jahre, m und w	0-15 mg Cu/l in Wasser	Sulfat	9 Wochen	[14]
3. Klinische Studie an Menschen (n = 800)	18-50 Jahre, m und w	10 mg Cu/Tag als orale Kapsel („Bolus“)	Sulfat	2 Monate	[140]
4. Klinische Studie an Menschen (n = 68)	18-50 Jahre, m	8 mg Cu/Tag als orale Kapsel	Sulfat	6 Monate	[121]
5. Klinische Studie an Menschen (n = 76)	20-50 Jahre, w untersucht an Tag 7 und 21 des Monatszyklus	8 mg Cu/Tag als orale Kapsel	Sulfat	6 Monate	[141]
6. Tierexperiment an Rhesusaffen (n = 4)	Neugeborene, m und w	900 µg Cu/kg pro Tag in Flaschenmilch	Sulfat	6 Monate	[142]
7. Tierexperiment an <i>Cebus apella</i> (n = 8)	Neugeborene, m und w	5,5 g Cu/kg pro Tag in Flaschenmilch	Gluconat	3 Jahre	[143]
8. Tierexperiment an <i>Cebus apella</i> (n = 8)	≥ 3,5 Jahre, m und w	7,5 mg Cu/kg pro Tag im Futter	Gluconat	3 Jahre	[144]

Tabelle 3 Ergebnisse der Studien an Menschen und nicht-menschlichen Primaten zur Untersuchung gesundheitsschädlicher Effekte der Exposition gegenüber einem Überschuss von Cu.

Studie [Literatur]	Leberfunktion	Oxidativer Stress	Indikatoren des Cu-Status
1. Doppelt verblindeter, placebokontrollierter Provokationstest an erwachsenen menschlichen Probanden; 3 und 6 mg Cu/Tag über 6 Wochen [139]		K. E. auf SOD in Erythrozyten	K. E. auf Serum-Cp (Protein und Aktivität), Serum-DAO, Cyt-c-Ox. in Leukozyten
2. Kohortenstudie in Gemeinde an erwachsenen menschlichen Probanden; 0-15 mg Cu/l über 9 Wochen [14]	K. E. auf AST, ALT, GGT	K. E. auf Cu/Zn-SOD in Erythrozyten	K. E. auf Cu (Serum, Erythrozyten, MNZ), Serum-Cp-Protein, nicht-Cp-gebundenes Cu
3. Klinische Studie an erwachsenen menschlichen Probanden; 10 mg Cu/Tag über 2 Monate [15,140]	↑ AST, ALT, GGT	K. E. auf Cu/Zn-SOD in Erythrozyten, Glutathion in MNZ, Homocystein	K. E. auf Serum-Cu, Serum-Cp-Protein, nicht-Cp-gebundenes Cu
4. Klinische Studie an erwachsenen menschlichen Probanden; 8 mg Cu/Tag über 6 Monate [121,122]	K. E. auf AST, ALT, GGT	K. E. auf Cu/Zn-SOD in Erythrozyten, Glutathion in MNZ, Homocystein	K. E. auf Serum-Cu, nicht-Cp-gebundenes Cu ↓ CCS-mRNA (MNZ) ↑ MT2-mRNA (MNZ) [*]
5. Klinische Studie an erwachsenen menschlichen Probanden; 8 mg Cu/Tag über 6 Monate [141]	K. E. auf AST, ALT, GGT	K. E. auf Cu/Zn-SOD in Erythrozyten	K. E. auf Serum-Cu, Serum-Cp, nicht-Cp-gebundenes Cu
6. Tierexperiment an neugeborenen Kapuzineraffen; 5,5 mg Cu/kg pro Tag über 6 Jahre [142]	K. E. auf AST, ALT, GGT, Leberhistologie, Immunhistochemie	K. E. auf Leberhistologie, Immunhistochemie	K. E. auf Serum-Cu, Serum-Cp-Protein
7. Tierexperiment an neugeborenen Kapuzineraffen (<i>Cebus apella</i>); 5,5 mg Cu/kg pro Tag über 3 Jahre [143]	K. E. auf AST, ALT, GGT, Leberhistologie, Immunhistochemie	K. E. auf Leberhistologie, Immunhistochemie	K. E. auf Serum-Cu, Serum-Cp (Protein und Aktivität)
8. Tierexperiment an erwachsenen Kapuzineraffen (<i>Cebus apella</i>); 7,5 mg Cu/kg pro Tag über 3 Jahre [144]	K. E. auf AST, ALT, GGT, Leberhistologie, Immunhistochemie	K. E. auf Leberhistologie, Immunhistochemie	K. E. auf Serum-Cu, Serum-Cp (Protein und Aktivität), k. E. auf hCTR1-, DMT1- und MT2-mRNA (MNZ)

AST: Aspartataminotransferase; ALT: Alaninaminotransferase; GGT: Gammaglutamyltranspeptidase; MNZ: mononukleäre Zellen; Cp: Ceruloplasmin; DAO: Diaminoxidase; Cyt-c-Ox.: Cytochrom-c-Oxidase; hCTR1: humanes Kupfertransportprotein 1; DMT1: divalenter Metallionentransporter 1; MT2: Metallothionein; k. E.: kein Effekt.

^{*} Unveröffentlichte Ergebnisse.

[84,137,138]. Historisch gesehen wurden die UL-Werte für die Kupferzufuhr vom US-IOM festgelegt, und zwar auf der Grundlage einer Kupfersupplementationsstudie sowohl an Männern wie an Frauen [127]. Der Kupfer-UL-Wert für Erwachsene beiderlei Geschlechts liegt bei 10 mg/Tag, während der Schwangerschaft und der Stillzeit variiert er (8-10 mg/Tag), bei Jugendlichen wurde er auf 8 mg/Tag festgesetzt und bei Kindern beträgt er 1-3 mg/Tag. Da keine Studiendaten zur Sicherheit von Kupfer während des ersten Lebensjahres vorliegen, wurde auf der Grundlage der Kupfermenge, die Säuglinge normalerweise über die Muttermilch erhalten, eine Schätzung vorgenommen [127].

Daten aus den letzten zehn Jahren weisen darauf hin, dass über den UL-Wert für Kupfer diskutiert werden muss. In den Tabellen 2 und 3 sind acht Studien an Menschen und nicht-menschlichen Primaten zusammengefasst, bei denen mögliche toxische Effekte von Kupfer untersucht wurden. Bei diesen Studien lagen sowohl die Dosen als auch die Expositionszeiten unterhalb der Obergrenzen, die als sicher

für die Aufnahme durch den Menschen gelten, d. h. unterhalb des derzeit gültigen UL-Werts von 10 mg/Tag, oder sie repräsentierten Dosen, die u. U. zur Supplementierung von Risikogruppen eingesetzt werden könnten. In den Studien wurden die Grenzwerte der Exposition untersucht, bei denen frühe gesundheitsschädliche Effekte nachgewiesen werden können. Keine der angewandten Dosen oder Regime induzierten signifikante Funktionsänderungen, die sich anhand der Blutchemie, der Leberfunktion oder Indikatoren für oxidativen Stress hätten nachweisen lassen. Dieser Befund zeigt, dass der Dosisbereich, innerhalb dessen die ersten negativen gesundheitlichen Auswirkungen zu beobachten sind, über den Dosen und Expositionszeiten liegt, die in den zitierten Studien angewandt wurden [14,15,139–144].

In den Tabellen 2 und 3 zusammengefassten Daten scheinen anzudeuten, dass der aktuelle, als UL festgelegte Wert von 10 mg Kupfer pro Tag u. U. nicht hoch genug ist [127]. Bei einer Studie an Kapuzineraffen wurden 3,5

bis 7 Jahre alten Tieren 3 Jahre lang 7,5 mg Cu/kg pro Tag verabreicht, was zu keinerlei Änderungen bei klinischen oder biochemischen Indikatoren oder hinsichtlich der Leberhistologie führte ([143], zur Publikation eingereicht). Bei Verwendung dieser Zahlen zur Berechnung eines NOAEL wären 7,5 mg Cu/kg pro Tag äquivalent zu 487 mg Cu/Tag bei einer erwachsenen Person mit einem Körpergewicht von 65 kg. Nach Einführen eines Sicherheitsfaktors von 10 (für die Extrapolation von Tieren auf Menschen) läge der UL-Wert bei 49 mg/Tag, also 5-mal höher als der derzeit vom IOM festgelegte, gültige Wert. Berücksichtigt, man dass es sich bei dem Tiermodell um einen nicht-menschlichen Primaten handelt, dürfte der Sicherheitsfaktor sogar noch kleiner sein.

Säuglinge werden allgemein als vulnerable Risikogruppe angesehen, da sich während des ersten Lebensjahres das biliäre Exkretionssystem entwickelt und weil sie in dieser Zeit höhere Mengen an Flüssigkeit zu sich nehmen als in jeder anderen Lebensspanne. Wenn sie nicht gestillt werden und das Wasser, das zur Zubereitung der Flaschennahrung verwendet wird, eine hohe Kupferkonzentration aufweist, kann sich ein erhöhtes Risiko für eine Kupferintoxikation ergeben. Die derzeit vorliegenden Daten erlauben nicht, einen UL-Wert für diese Altersgruppe zu berechnen, es können jedoch Schätzungen vorgenommen werden. Rhesusaffen wurden ad libitum mit Flaschennahrung gefüttert, die zusätzlich 6,6 mg Kupfer pro Liter enthielt [142]. Obwohl der Kupfergehalt in der Leber während der ersten 4 Monate dramatisch anstieg, wurden keinerlei Änderungen bei klinischen oder biochemischen Indikatoren oder hinsichtlich der Leberhistologie beobachtet. Im Alter von 6 Monaten hatte die Kupferretention von 75 % (im Alter von 1 Monat) auf 11 % abgenommen. Nach Beenden der Kupfersupplementation stieg die Resorption wieder an und erreichte 3 Monate später 23 %. In einer zweiten Studie an einem nicht-menschlichen Primatenmodell (Kapuzineraffen) erhielten die Tiere von Geburt an 5,5 mg Cu/kg pro Tag [144]. Wie bei der Studie an erwachsenen Tieren wurden auch hier keine gesundheitsschädlichen Effekte beobachtet und die Tiere wuchsen und entwickelten sich wie die gleichaltrigen Kontrolltiere. Bei Anwendung derselben Schätzung wie im Fall der Erwachsenen ergäbe sich für einen Säugling mit 10 kg Körpergewicht eine tägliche Zufuhr von 55 mg Cu/Tag bzw. ein NOAEL von 5,5 mg Cu/Tag. Schließlich wurde eine Studie an Säuglingen durchgeführt, die im Alter von 3 bis 12 Monaten beobachtet wurden. Sie erhielten Flaschennahrung, die mit Wasser zubereitet wurde, das 2 mg Cu/l enthielt. Die mittlere Kupferzufuhr bei diesen Säuglingen betrug im Alter von 4 bis 6, 6 bis 9 bzw. 9 bis 12 Monaten 319 ± 107 g/kg, 305 ± 85 g/kg bzw. 248 ± 44 g/kg, jeweils pro Tag [145]. Wachstum und biochemische Indikatoren blieben zu allen untersuchten Zeitpunkten normal. Bei Verwendung dieser Daten läge der NOAEL für einen Säugling mit 10 kg Körpergewicht bei 2,5 mg Cu/Tag [146].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die vorgestellten Daten interessante Ansatzpunkte für alle diejenigen aufzeigen, die sich als Forscher oder im Rahmen regulatorischer Aktivitäten mit dem Thema Kupfer befassen. Im Lichte neuer Daten sollte der UL-Wert für Kupfer neu bewertet werden, neue Marker zum Nachweis früher Effekte des Kupfermangels- bzw. -überschusses stehen immer noch aus und die Relevanz des Kupfermangels für die Weltbevölkerung muss geklärt werden.

Offenlegung von Interessenkonflikten

Bei keinem der Autoren besteht ein Interessenkonflikt.

Literatur

- [1] 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;67:996S–1002S.
- [2] Linder MC, Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr* 1996;63:797S–811S.
- [3] Sánchez-Ferrer A, Rodríguez-López JN, García-Cánovas F, García-Carmona F. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochim Biophys Acta* 1995;1247:1–11.
- [4] Tainer JA, Getzoff ED, Richardson JS, Richardson DC. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature* 1983;306:284–7.
- [5] Yoshikawa S, Mochizuki M, Zhao XJ, Caughey WS. Effects of overall oxidation state on infrared spectra of heme a₃ cyanide in bovine heart cytochrome c oxidase Evidence of novel mechanistic roles for CuB. *J Biol Chem* 1995;270:4270–9.
- [6] Kaplan J, O'Halloran TV. Iron metabolism in eukaryotes: Mars and Venus at it again. *Science* 1996;271:1510–2.
- [7] Danks DM. Disorders of copper transport. In: Scriver CL, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill; 1995. p. 2211–35.
- [8] Vulpe C, Levinson B, Whitney S, Packman S, Gitschier J. Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase. *Nat Genet* 1993;3:7–13.
- [9] Mercer JFB, Livingston J, Hall B, Paynter JA, Begy C, Chandrasekharappa S, et al. Isolation of a partial candidate gene for Menkes disease by positional cloning. *Nat Genet* 1993;3:20–5.
- [10] Yamaguchi Y, Heiny ME, Gitlin JD. Isolation and characterization of a human liver cDNA as a candidate gene for Wilson disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 November 1;197:271–7.
- [11] Petrukhin KE, Lutsenko S, Chernov I, Ross BM, Kaplan JH, Gillian TC. Characterization of the Wilson disease gene encoding a P-type copper transporting ATPase: genomic organization, alternative splicing, and structure/function predictions. *Hum Mol Genet* 1994;3:1647–56.
- [12] Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nat Genet* 1993;5:327–36.
- [13] Zietz BP, Dieter HH, Lakomek M, Schneider H, Kessler-Gaedtke B, Dunkelberg H. Epidemiological investigation on chronic copper toxicity to children exposed via the public drinking water supply. *Sci Total Environ* 2003;302(January 1-3):127–44.
- [14] Araya M, Olivares M, Pizarro F, González M, Speisky H, Uauy R. Gastrointestinal symptoms and blood indicators of copper load in apparently healthy adults undergoing controlled copper exposure. *Am J Clin Nutr* 2003;77(March 3):646–50.
- [15] Araya M, Olivares M, Pizarro F, Méndez M, González G, Uauy R. Supplementing copper at the upper level of the adult dietary recommended intake induces detectable but transient changes in healthy adults. *J Nutrition* 2005;135(10):2367–71.
- [16] Araya M, Koletzko, Uauy R. Copper deficiency and excess in infancy: developing a research agenda. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003 October 4;37:422–9.
- [17] Scheinberg IH, Sternlieb I. Wilson disease and idiopathic copper toxicosis. *Am J Clin Nutr* 1996;63, 842S–55S.
- [18] Mason KE. A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *J Nutr* 1979;109:1979–2066.

- [19] Turnlund JR, Keyes WR, Anderson HL, Acord LL. Copper absorption and retention in young men at three levels of dietary copper by use of the stable isotope ^{65}Cu . *Am J Clin Nutr* 1989 May 5;49:870–8.
- [20] Greger JL, Snedeker SM. Effect of dietary protein and phosphorus levels on the utilization of zinc, copper and manganese by adult males. *J Nutr* 1980;110:2243–53.
- [21] Sandstead HH. Copper bioavailability and requirements. *Am J Clin Nutr* 1982;35:809–14.
- [22] Coudray C, Feillet-Coudray C, Gueux E, Mazur A, Rayssiguier Y. Dietary inulin intake and age can affect intestinal absorption of zinc and copper in rats. *J Nutr* 2006;136:117–22.
- [23] Ducros V, Arnaud J, Tahiri M, Coudray C, Bornet F, et al. Influence of short-chain fructo-oligosaccharides (sc-FOS) on absorption of Cu Zn, and Se in healthy postmenopausal women. *J Am Coll Nutr* 2005;24:30–7.
- [24] Afsana K, Shiga K, Ishizuka S, Hara H. Reducing effect of ingesting tannic acid on the absorption of iron, but not of zinc, copper and manganese by rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004;68:584–92.
- [25] August D, Janghorbani M, Young VR. Determination of zinc and copper absorption at three dietary Zn-Cu ratios by using stable isotope methods in young adult and elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1989;50:1457–63.
- [26] Coudray C, Bousset C, Tressol JC, Pepin D, Rayssiguier Y. Short-term ingestion of chlorogenic or caffeic acids decreases zinc but not copper absorption in rats, utilization of stable isotopes and inductively-coupled plasma mass spectrometry technique. *Br J Nutr* 1998;80:575–84.
- [27] Coudray C, Tressol JC, Feillet-Coudray C, Bellanger J, Pepin D, Mazur A. Long-term consumption of red wine does not modify intestinal absorption or status of zinc and copper in rats. *J Nutr* 2000;130:1309–13.
- [28] Davidsson L, Ziegler E, Zeder C, Walczyk T, Hurrell R. Sodium iron EDTA [NaFe(III)EDTA] as a food fortificant: erythrocyte incorporation of iron and apparent absorption of zinc, copper, calcium, and magnesium from a complementary food based on wheat and soy in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 2005;81:104–9.
- [29] Jacob RA, Skala JH, Omaye ST, Turnlund JR. Effect of varying ascorbic acid intakes on copper absorption and ceruloplasmin levels of young men. *J Nutr* 1987;117:2109–15.
- [30] Turnlund JR, King JC, Keyes WR, Gong B, Michel MC. A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and alpha-cellulose. *Am J Clin Nutr* 1984;40:1071–7.
- [31] Haschke F, Ziegler EE, Edwards BB, Fomon SJ. Effect of iron fortification of infant formula on trace mineral absorption. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986;5:768–73.
- [32] Troost FJ, Brummer RJ, Dainty JR, Hoogewerff JA, Bull VJ, Saris WH. Iron supplements inhibit zinc but not copper absorption in vivo in ileostomy subjects. *Am J Clin Nutr* 2003;78:1018–23.
- [33] Georgatsou E, Mavrogiannis LA, Fragiadakis GS, Alexandraki D. The yeast Fre1p/Fre2p cupric reductases facilitate copper uptake and are regulated by the copper-modulated Mac1p activator. *J Biol Chem* 1997;272:13786–92.
- [34] Dancis A, Roman DG, Anderson GJ, Hinnebusch AG, Klausner RD. Ferric reductase of *Saccharomyces cerevisiae*: molecular characterization, role in iron uptake, and transcriptional control by iron. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:3869–73.
- [35] McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001;291:1755–9.
- [36] Tennant J, Stansfield M, Yamaji S, Srari SK, Sharp P. Effects of copper on the expression of metal transporters in human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett* 2002;527:239–44.
- [37] Arredondo M, Uauy R, González M. Regulation of copper uptake and transport in intestinal cells monolayers by copper supply. *Biochim Biophys Acta* 2000;1474:169–76.
- [38] Greenough M, Pase L, Voskoboinik I, Petris MJ, O'Brien AW, Camakaris J. Signals regulating trafficking of Menkes (MNK; ATP7A) copper-translocating P-type ATPase in polarized MDCK cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004;287(5):C1463–71.
- [39] Weiss KC, Linder MC. Copper transport in rats involving a new plasma protein. *Am J Physiol* 1985;249:E77–88.
- [40] McArdle HJ, Gross SM, Danks DM, Wedd AG. Role of albumin's copper binding site in copper uptake by mouse hepatocytes. *Am J Physiol* 1990;258:G988–91.
- [41] Liu N, Lo LSL, Askary H, et al. Transcuprein is a macroglobulin regulated by copper and iron availability. *J Nutr Biochem* 2007;18:597–608.
- [42] Freedman JH, Ciriolo MR, Peisach J. The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. *J Biol Chem* 1989 April 10;264:5598–605.
- [43] Culotta VC, Klomp LWJ, Strain J, Casareno RLB, Krems B, Gitlin JD. The copper chaperone for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1997;272:23469–72.
- [44] Amaravadi R, Glerum DM, Tzagoloff A. Isolation of a cDNA encoding the human homolog of COX17, a yeast gene essential for mitochondrial copper recruitment. *Hum Genet* 1997;99:329–33.
- [45] Glerum DM, Shtanko A, Tzagoloff A. Characterization of COX17, a yeast gene involved in copper metabolism and assembly of cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 1997;271:14504–9.
- [46] Casareno RL, Waggoner D, Gitlin JD. The copper chaperone CCS1 directly interacts with copper/zinc superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1998;273:23625–8.
- [47] Dijkstra M, Vonk RJ, Kuipers F. How does copper get into bile? New insights into the mechanism(s) of hepatobiliary copper transport. *J Hepatol* 1996;24:109–20.
- [48] Aggett PJ. An overview of the metabolism of copper. *Eur J Med Res* 1999;4:214–6.
- [49] Zimnicka A, Maryon E, Kaplan J. Human copper transporter hCTR1 mediates basolateral uptake for copper into enterocytes Implications for copper homeostasis. *J Biol Chem* 2007;282:26471–80.
- [50] Prohaska JR. Role of copper transporters in copper homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2008 September 3;88, 826S–9S.
- [51] Mertz W. A perspective on mineral standards. *J Nutr* 67 1998;128(Suppl 5), 375S–8S.
- [52] Greaves JE, Andersen A. Influence of soil and variety on the copper content of grains. *J Nutr* 1936;11:111–8.
- [53] Pennington JT, Calloway DH. Copper content of foods. *J Am Diet Assoc* 1973;63:143–53.
- [54] National Research Council. Copper in drinking water. Washington, DC: National Academy Press; 2000.
- [55] Pettersson R, Rasmussen F. Daily intake of copper from drinking water among young children in Sweden. *Environ Health Perspect* 1999;107:441–6.
- [56] Health Canada. Copper. In: Guidelines for Canadian drinking water quality - supporting documents. http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/doc_sup-appui/index_e.html. [accessed 4/9/07].
- [57] Uauy R, Olivares M. Health significance of copper. In: Moore MR, Imray P, Dameron C, Callan P, Langley A, Mangas S, editors. Copper: report of an international meeting National Environmental Health Forum monographs. Metal series no. 3. Australia: National Environmental Health Forum; 1997. p. 7–15.
- [58] Patterson KY, Holbrook JT, Bodner JE, Kelsay JL, Smith JC, Veillon C. Zinc copper and manganese intake and balance

- for adults consuming self-selected diets. *Am J Clin Nutr* 1984;40:1397–403.
- [59] Wright HS, Guthrie HA, Qi Wang M, Bernardo V. The 1987-88 nationwide food consumption survey: an update on the nutrient intake of respondents. *Nutr Today* 1991;26:21–7.
- [60] Pennington JAT, Wilson DB. Daily intakes of nine nutritional elements: analyzed vs. calculated values. *J Am Diet Assoc* 1990;90:375–81.
- [61] Pennington JAT, Young BE, Wilson DB, Johnson RD, Vanderveen JE. Mineral content of foods and total diets: the selected minerals in food survey, 1982-1984. *J Am Diet Assoc* 1986;86:876–91.
- [62] Swerts J, Benemariya H, Robberecht H, van Cauwenbergh R, Deelstra H. Daily dietary intake of copper and zinc by several population groups in Belgium: preliminary results. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1993;7:165–9.
- [63] Food, Nutrition Board. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press; 2001.
- [64] Scientific Committee on Food, European Food Safety Authority. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Parma, Italy: European Commission Publications Office; 2006.
- [65] Cashman KD, Baker A, Ginty F, Flynn A, Strain JJ, Bonham MP, et al. No effect of copper supplementation on biochemical markers of bone metabolism in healthy young adult females despite apparently improved copper status. *Eur J Clin Nutr* 2001;55:525–31.
- [66] Jones AA, DiSilvestro RA, Coleman M, Wagner TL. Copper supplementation of adult men effects on blood copper enzyme activities indicators of cardiovascular disease risk. *Metabolism* 1997;46:1380–3.
- [67] Lowe NM, Lowe NM, Fraser WD, Jackson MJ. Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis? *Proc Nutr Soc* 2002;61:181–5.
- [68] Kaler SG. Wilson disease. In: Goldman L, Ausiello D, editors. Cecil's textbook of medicine, 23rd ed. Philadelphia: Saunders [Chapter 230], in press.
- [69] Olivares M, Uauy R. Copper as an essential element. *Am J Clin Nutr* 1996;63, 791S–65S.
- [70] Nhien NV, Khan NC, Ninh NX, Huan PV, Hop le T, Lam NT, et al. Micronutrient deficiencies and anemia among preschool children in rural Vietnam. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17(1):48–55.
- [71] Weisstaub G, Araya M, Uauy R. Childhood malnutrition: prevention and control at the national level. Walker W.A. Nutrition in pediatrics. 3rd ed. Hamilton: Canada: B. C. Decker; 2003.
- [72] Sturgeon P, Brubaker C. Copper deficiency in infants. *Am J Dis Child* 1956;92:254–65.
- [73] Cordano A, Baertl JM, Graham G. Copper deficiency in infancy. *Pediatrics* 1964;34:324–6.
- [74] Weisstaub G, Medina M, Pizarro F, Araya M. Copper, iron and zinc status in moderately and severely malnourished children recovered following WHO protocols. *Biol Trace Elem Res* 2008;124(July (1)):1–11.
- [75] Ferguson EL, Briend A, Darmon N. Can optimal combinations of local foods achieve the nutrient density of the F100 catch-up diet for severe malnutrition? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46(April (4)):447–52.
- [76] Maret W, Sandstead HH. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 2006;20(1):3–18.
- [77] Prasad AS, Brewer GJ, Schoemaker EB, Rabbani P. Hypocupremia induced by zinc therapy. *J Am Med Assoc* 1978;1978:2166–8.
- [78] Williams DM. Copper deficiency in humans. *Semin Hematol* 1983;20:118–28.
- [79] Broun ER, Greist A, Tricot G, Hoffman R. Excessive zinc ingestion. A reversible cause of sideroblastic anemia and bone marrow depression. *J Am Med Assoc* 1990;264:1441–3.
- [80] Kumar N, Gross Jr JB, Ahlskog JE. Myelopathy due to copper deficiency. *Neurology* 2003;61:273–4.
- [81] Sugiura T, Goto K, Ito K, Ueta A, Fujimoto S, Togari H. Chronic zinc toxicity in an infant who received zinc therapy for atopic dermatitis. *Acta Paediatr* 2005;94:1333–5.
- [82] Klevay LM. Alzheimer's disease as copper deficiency. *Med Hypotheses* 2008;70(4):802–7.
- [83] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological evaluation of certain food additives. WHO Tech Rep Ser 683. Geneva: WHO; 1982.
- [84] US Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office. Summary review of the health effects associated with copper. Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency. EPA 600/8-87/190-1; 1987.
- [85] National Institute of Public Health and US Environmental Protection. Integrated criteria document copper, appendix to report 758474009. The Netherlands, Bilthoven: National Institute of Public health, Environmental Protection, 1989.,.
- [86] Spitalny KC, Brondum J, Vogt RL, Sargent HE, Kappel S. Drinking water induced intoxication in a Vermont family. *Pediatrics* 1984;74:1103–6.
- [87] National Research Council. Copper in drinking water. Washington DC: National Academy Press; 2000. US Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office. Drinking water criteria document for copper (final draft). Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency, EPA 600/X-84/190-1; 1995.
- [88] World Health Organization (WHO). Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits. Environmental Health Criteria 170. Geneva: WHO; 1994.
- [89] Wang SC, Borison HL. Copper sulfate emesis: a study of afferent pathways for the gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1951;164:520–6.
- [90] Nijijima A, Jiang ZY, Dauton NG, Fox RA. Effect of copper sulfate on the rate of afferent discharge in gastric branch of the vagus nerve in the rat. *Neurosci Lett* 1987;80:71–4.
- [91] Kayashima N, Tanka M, Iwasaki M, Hayama T. Site of oral copper sulfate in dogs I. Threshold of various portions of gastrointestinal tract to locally applied copper sulfate. *Jpn J Pharmacol* 1978;28:775–81.
- [92] Araya M, Olivares M, Pizarro F, Llanos A, Figueroa G, Uauy R. Community-based randomized double-blind study of gastrointestinal effects and copper exposure in drinking water. *Environ Health Perspect* 2004 July;112(10):1068–73.
- [93] Araya M, McGoldrick MC, Klevay L, Strain JJ, Robson P, Neilsen, et al. Determination of an acute No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL) for copper in water. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001;34:137–45.
- [94] Olivares M, Araya M, Pizarro F, Uauy R. Nausea threshold in apparently healthy individuals who drink fluids containing graded concentrations of copper. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001;33:271–5.
- [95] Araya M, Bingheng Ch, Klevay LM, Strain JJ, Johnson L, Robson P, et al. Confirmation of an acute No-Observed-Adverse-Effect Level (NOAEL) and Low-Observed-Adverse-Effect Level (LOAEL) for copper in bottled drinking water in a multi-site international study. *Regul Toxicol Pharmacol* 2003;38:389–99.
- [96] Tanner S. Disorders of copper metabolism. In: Kelly DA, editor. Diseases of the liver and biliary system in children. Blackwell: Oxford. p. 167-85.

- [97] Roberts EA, Schilsky ML. A practice guideline on Wilson disease. *Hepatology* 2003;37:1475–92.
- [98] Brewer GJ. The use of copper-lowering therapy with tetra-thiomolybdate in medicine. *Expert Opin Investig Drugs* 2009 January 1;18:89–97.
- [99] O'Neill NC, Tanner MS. Uptake of copper from brass vessels by bovine milk and its relevance to Indian childhood cirrhosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;9:167–72.
- [100] Tanner MS. Role of copper in Indian childhood cirrhosis. *Am J Clin Nutr* 1998;67, 1074S–81S.
- [101] Tanner MS, Kantarjian AH, Bhavé SA, Pandit AN. Early introduction of copper-contaminated animal milk as possible cause of Indian childhood cirrhosis. *Lancet* 1983;2:992–5.
- [102] O'Donohue JW, Reid MA, Varghese A, Portmann B, Williams R. Micronodular cirrhosis and acute liver failure due to chronic copper self-intoxication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993;5, 561–2.8.
- [103] Pandit A, Bhavé S. Present interpretation of the role of copper in Indian childhood cirrhosis. *Am J Clin Nutr* 1996;63, 830S–5S.
- [104] Müller T, Feichtinger H, Berger H, Müller W. Endemic Tyrolean Cirrhosis: an ecogenetic disorder. *Lancet* 1996;347:877–80.
- [105] Müller-Höcker J, Meyer U, Wiebeche B, Hübner G. Copper storage disease of the liver and chronic dietary copper intoxication in two further German infants mimicking Indian childhood cirrhosis. *Path Res Pract* 1988;183:39–45.
- [106] Olivares M, Uauy R. Limits of metabolic tolerance to copper and biological basis for present recommendations and regulations. *Am J Clin Nutr* 1996;63, 846S–52S.
- [107] Müller T, Müller W, Feichtinger H. Idiopathic copper toxicosis. *Am J Clin Nutr* 1998;67, 1082S–6S.
- [108] Turnlund JR, Keen CL, Smith RG. Copper status and urinary and salivary copper in young men at three levels of dietary copper. *Am J Clin Nutr* 1990;51:658–64.
- [109] Hambidge M. Biomarkers of trace mineral intake and status. *J Nutr* 2003;133(Suppl 3), 948S–55S.
- [110] Araya M, Olivares M, Pizarro F, González M, Speisky H, Uauy R. Copper exposure and potential biomarkers of copper metabolism. *Biomarkers* 2003;16(1):199–204.
- [111] Danzeisen R, Araya M, Harrison B, Keen C, Solioz M, Thiele D, et al. How reliable and robust are current biomarkers for copper status? *Br J Nutr* 2007;98(4):676–83109.
- [112] Olivares M, Méndez M, Astudillo P, Pizarro F. Present situation of biomarkers for copper status. *Am J Clin Nutr* 2008;88, 859S–62S.
- [113] Rinaldi AC. Meeting report—copper research at the top. *Biomarkers* 2000;13:9–13.
- [114] Johnson WT, Johnson LA, Lukaski HC. Serum superoxide dismutase 3 (extracellular superoxide dismutase) activity is a sensitive indicator of Cu status in rats. *J Nutr Biochem* 2005;16:682–92.
- [115] Bertinato J, Iskandar M, L'Abbe MR. Copper deficiency induces the upregulation of the copper chaperone for Cu/Zn superoxide dismutase in weanling male rats. *J Nutr* 2003;133:28–31.
- [116] Prohaska JR, Broderius M, Brokate B. Metallochaperone for Cu Zn-superoxide dismutase (CCS) protein but not mRNA is higher in organs from copper-deficient mice and rats. *Arch Biochem Biophys* 2003;417:227–34.
- [117] West EC, Prohaska JR. Cu Zn-superoxide dismutase is lower and copper chaperone CCS is higher in erythrocytes of copper-deficient rats and mice. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004;229:756–64.
- [118] Iskandar M, Swist E, Trick KD, Wang B, L'Abbe MR, Bertinato J. Copper chaperone for Cu/Zn superoxide dismutase is a sensitive biomarker of mild copper deficiency induced by moderately high intakes of zinc. *Nutr J* 2005;4:35.
- [119] Prohaska JR, Brokate B. Lower copper, zinc-superoxide dismutase protein but not mRNA in organs of copper-deficient rats. *Arch Biochem Biophys* 2001;393:170–6.
- [120] Prohaska JR, Geissler J, Brokate B, Broderius M. Copper, zinc-superoxide dismutase protein but not mRNA is lower in copper-deficient mice and mice lacking the copper chaperone for superoxide dismutase. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003;228:959–66.
- [121] Suazo M, del Pozo T, Méndez M, González M, Araya M. Is copper chaperone for Cu/Zn superoxide dismutase a potential biomarker of mild copper supplementation? 13th international meeting on trace elements in man and animals (TEMA 13). 2008.
- [122] Suazo M, Méndez M, Olivares F, Pizarro F, Arredondo M, Olivares M, et al. Search for molecular markers to assess copper status in humans. In: 14th Latin American congress of nutrition. 2006.
- [123] Suazo M, Olivares F, Méndez MA, Pulgar R, Prohaska JR, Arredondo M, et al. CCS and SOD1 mRNA are reduced after copper supplementation in peripheral mononuclear cells of individuals with high serum Ceruloplasmin concentration. *J Nutr Biochem* 2008;19:269–74.
- [124] WHO/FAO/IAEA. Trace elements in human nutrition and health. Geneva: World Health Organization; 1996.
- [125] World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: WHO; 2003.
- [126] National Research Council (NRC). Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances, 10th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1989.
- [127] Institute of Medicine (IOM), Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press; 2001.
- [128] Scientific Committee for Food (SCF). Nutrient and energy intakes for the Euro-pean Community. Reports of the Scientific Committee for Food, Thirty-first Series. Luxembourg: European Commission; 1993.
- [129] Lukaski HC, Penland JG. Functional changes appropriate for determining mineral element requirements. *J Nutr* 1996;126, 2354S–64S.
- [130] Beaton GH. Statistical approaches to establish mineral element recommendations. *J Nutr* 1996;126, 2320S–8S.
- [131] Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1989.
- [132] International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. Principles and methods for the assessment of risk from essential trace elements. Environmental Health Criteria 228. Geneva: World Health Organization; 2002.
- [133] FAO/WHO. Human vitamin and mineral requirements. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bangkok, Thailand. Rome: World Health Organization and Food and Nutrition Organization of the United Nations; 2002.
- [134] Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the tolerable upper intake of copper; 2003.
- [135] Australia. Nutrient reference values for Australia and New Zealand. Melbourne: Ministry of Health, Government of Australia; 2004.
- [136] Stern BR. Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: overview, update and regulatory considerations. *J Toxicol Environ Health A* 2010;73:114–27.
- [137] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in foods. Environmental Health Criteria 70. Geneva: WHO; 1987.
- [138] Hathcock JN. Safety limits for nutrient intakes: concepts and data requirements. *Nutr Rev* 1993;51:275–8.

- [139] Kehoe CA, Turley E, Bonham MP, O'Connor JM, McKeown A, Faughnan MS, et al. Response of putative indices of copper status to copper supplementation in human subjects. *Br J Nutr* 2000;84:151–6.
- [140] Mendez MA, Araya M, Olivares M, Pizarro F, González M. Sex and ceruloplasmin modulate the response to copper exposure in healthy individuals. *Environ Health Perspect* 2004 December 17;112:1654–7.
- [141] 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 June 3;134:252–64.
- [142] Araya M, Kelleher SL, Arredondo M, Sierralta W, Vial MT, Uauy R, et al. Effects of chronic copper exposure during early life in infant rhesus monkeys. *Am J Clin Nutr* 2005;81:1065–71.
- [143] Araya M, Núñez H, Arredondo M, Pizarro F, Méndez M, Olivares M. Chronic copper toxicity in a nonhuman primate model: preliminary results. *Cell Biol Toxicol* 2008;24(Suppl 1). S61–S62.
- [144] Núñez H, Arredondo M, Méndez M, Pizarro F, Araya M. Chronic exposure to high copper doses in non-human primates: a model of copper loading. In: 13th international meeting on trace elements in man and animals (TEMA 13). 2008.
- [145] Olivares M, Pizarro F, Speisky H, Lönnerdal B, Uauy R. Copper in infant nutrition: safety of WHO provisional guideline value for copper content of drinking water. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:251–7.
- [146] Olivares M, Araya M, Uauy R. Copper homeostasis in infant nutrition: deficit and excess. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2000;31:102–11.