

Ausgabe: Mai 2014

Stand: November 2013

Cobalt-Metall

Erläuterung zum Eintrag zu Cobalt-Metall in der TRGS 905

Gegenwärtig ist Co-Metall in der EU nicht gemäß Annex VI der CLP-Verordnung (EC No. 1272/2008) hinsichtlich der kanzerogenen Wirkung eingestuft; in der TRGS 905 war Co-Metall in Form atembarer Stäube/Aerosole bisher der Kategorie 3 (DSD; RL 67/548/EWG) zugeordnet.

Die zwischenzeitlich vorliegenden positiven Ergebnisse der Co-Metallstudie von NTP 1* lagen zum Zeitpunkt der Festsetzung der EU und des bisherigen Eintrages in der TRGS 905 noch nicht vor. Da eine Aufnahme des aus Sicht des UAll notwendigen Einstufungsverfahrens in der EU einen zeitlich langen Rahmen beansprucht und ein langwieriger Prozess ist, wird Co-Metall in Form atembarer Stäube/Aerosole bis zur Legaleinstufung in der EU in die TRGS 905 mit einer Einstufung in Kategorie 2 (DSD) bzw. 1B (CLP-VO) aufgenommen.

* http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/about_ntp/trpanel/2013/october/draft_tr-581.pdf

Ausgabe: September 2001**Cobalt-Metall und Cobalt-Verbindungen****(CAS-Nr.: 7440-48-4)**

(mit Ausnahme von Hartmetallen, cobalthaltigen Spinellen und organischen Cobalt-Sikkativen wie Cobaltoctoat und Cobaltnaphthenat).

1. Allgemeines:

In der Tabelle I sind die gegenwärtigen Einstufungen von Cobalt und Cobaltverbindungen durch die EU und den AGS sowie die hier begründeten Einstufungsvorschläge zusammengefasst. Alle Einstufungen beziehen sich auf die einatembaren Fraktionen. Die wichtigsten Änderungen sind die Einstufung löslicher Cobalt(II)-Salze in die Kategorie 2 krebserzeugend (C: 2) aufgrund der neuen NTP-Tierversuche (NTP 1998), in die Kategorie 3 erbgutverändernd (M: 3) und in die Kategorie 2 fortpflanzungsgefährdend (Fruchtbarkeit) (R_F:2).

Tabelle I. Bisherige Einstufungen und Einstufungsvorschläge des BK Tox ¹⁾

| Stoff (CAS-Nr.) | EU | MAK | AGS | BK Tox | | |
|--|-------------|-----|-------------------|---------------------------|-------------------|--------------------------------|
| Cobalt und seine bioverfügbaren Verbindungen | | K2 | | | | |
| Cobaltmetall (7440-48-4) | | | C 3 ²⁾ | C 3 b | | |
| Cobalt(II)oxid (1307-96-6) | | | C 3 ²⁾ | C 3 b | | |
| Cobalt(II)chlorid (7646-79-9) | C 2 R 49 | | | C 2 R 49 | M 3 | R _F 2 |
| Cobalt(II)sulfat·7 H ₂ O (10026-24-1) | C 2 R 49 | | | C 2 R 49 | M 3 ⁴⁾ | R _F 2 ⁵⁾ |
| Cobalt(II)nitrat·6 H ₂ O (10026-22-9) | | | | C 2 ³⁾ R 49 | M 3 ⁴⁾ | R _F 2 ⁵⁾ |
| Cobalt(II)carbonat (137506-60-6) | | | | C 2 ³⁾ R 49 | M 3 ⁴⁾ | R _F 2 ⁵⁾ |
| Cobalt(II)acetat·4 H ₂ O (6147-53-1) | | | | C 2 ³⁾ R 49 | M 3 ⁴⁾ | R _F 2 ⁵⁾ |
| Cobalt(II)sulfid (1317-42-6) | | | C 3 ²⁾ | C 3 b | | |

¹⁾ Alle Einstufungen beziehen sich auf einatembare Stäube oder Aerosole

²⁾ Der Grenzwert (Luft, einatembare Fraktion) beträgt 0,5 mg/m³ bei der Herstellung von Cobaltpulver und Katalysatoren, Hartmetall- und Magnetherstellung (Pulveraufbereitung, Pressen und mechanisches Bearbeiten nicht gesinterter Werkstücke), im übrigen 0,1 mg/m³.

³⁾ Einheitliche Einstufung aller gut wasserlöslichen Cobaltverbindungen (Löslichkeit > 0,1 g/l) in Kategorie C2 in Angleichung an Cobaltchlorid und Cobaltsulfat.

⁴⁾ Einheitliche Einstufung aller gut wasserlöslichen Cobaltverbindungen in M3 in Angleichung an Cobaltchlorid

⁵⁾ Einheitliche Einstufung aller gut wasserlöslichen Cobaltverbindungen in R_F2 in Angleichung an Cobaltchlorid.

Hartmetallstäube werden wegen ihrer besonderen physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften in einem gesonderten Positionspapier behandelt. Organische Cobalt-Sikkative wie Cobaltoctoat und Cobaltnaphthenat sollen wegen der noch nicht abgeschlossenen Bioverfügbarkeitsstudien ebenfalls in einem separaten Positionspapier behandelt werden. Die Einstufungen des AGS für Cobaltmetall, oxidische und sulfidische Cobaltverbindungen in Kategorie C3 werden beibehalten, weil Anhaltspunkte für eine krebserzeugende Wirkung aus Tierversuchen vorliegen und nach der Aufnahme dieser Verbindungen Cobaltionen freigesetzt werden können. Cobaltmetall, oxidische und sulfidische Cobaltverbindungen werden in die Unterkategorie C3b eingestuft, weil sie unzureichend untersucht sind, jedoch Anlass zu Besorgnis für den Menschen geben.

2. Löslichkeitsdaten (Tabelle II):

Wegen der Kanzerogenität des löslichen Cobaltsulfats, also des Co^{2+} -Ions, ist die Berücksichtigung der Löslichkeiten anderer Cobaltverbindungen in Wasser und biologischen Flüssigkeiten wichtig. Aus pragmatischen Gründen wird für Cobaltverbindungen eine Abschneidegrenze für die Einstufung wie Cobaltsulfat angewendet. Cobaltverbindungen, die sich mit mehr als 0,1 g/l Wasser lösen, werden als „gutlöslich“ bezeichnet, die übrigen als „schwerlöslich“. Die gutlöslichen anorganischen Salze werden in dieselbe Kategorie (C2) wie Cobaltsulfat eingestuft. Cobaltmetall, Cobaltoxide, -hydroxide und Cobaltsulfid sind nach der genannten Abschneidegrenze in Wasser schwerlöslich. Diese pragmatische Grenze wird als ein Kriterium für Bioverfügbarkeit genommen, das aber nicht ohne Einschränkung angewandt werden kann. Denn es wurden für Cobaltmetall-Pulver, Cobalt(II)oxid und Cobalt(III)oxid-Hydrat in Blutserum im Vergleich zu Wasser leicht erhöhte Löslichkeiten gefunden.

Dem entsprechen die Daten zur Resorption von Cobalt aus inhaliertem Hartmetall und Cobaltmetall bei exponierten Arbeitern in der Hartmetallherstellung, in Cobalt-Gießereien und Cobalt-Elektrolyse-Betrieben (Angerer et al., 1989; IARC, 1990).

Tabelle II. Löslichkeit von Cobalt und Cobaltverbindungen

| Stoff | Formel | CAS-Nr. | Löslichkeit in H ₂ O | Löslichkeit in Serum |
|-------------------------------------|--|------------|---------------------------------|----------------------|
| Cobaltmetall | Co | 7440-48-4 | schwerlöslich ¹⁾ | 200 mg/l (37°) |
| Cobalt(II)oxid | CoO | 1307-96-6 | 3,13 mg/l | 273 mg/l (37°) |
| Tricobalttetraoxid | Co ₃ O ₄ | 1308-06-1 | schwerlöslich ¹⁾ | |
| Cobalt(III)oxid | Co ₂ O ₃ | 1308-04-9 | schwerlöslich ¹⁾ | |
| Cobalt(III)oxid·H ₂ O | Co ₂ O ₃ ·H ₂ O | 12016-80-7 | 0,84 mg/l (37°) | 53,9 mg/l (37°) |
| Cobalt(II)hydroxid | Co(OH) ₂ | 21041-93-0 | 3,2 mg/l (18°) | |
| Cobalt(III)hydroxid | Co(OH) ₃ | 1307-86-4 | 3,2 mg/l (20°) | |
| Cobalt(II)chlorid | CoCl ₂ | 7646-79-9 | 529 g/l (20°) | |
| Cobalt(II)sulfat | CoSO ₄ | 10124-43-3 | 393 g/l (25°) | |
| Cobalt(II)nitrat·6 H ₂ O | Co(NO ₃) ₂ | 10026-22-9 | 134 g/l (0°) | |
| Cobalt(II)carbonat | CoCO ₃ | 513-79-1 | 1,1 g/l (15°) | |
| Cobalt(II)acetat | Co(CH ₃ COO) ₂ | 71-48-7 | gutlöslich | |
| Cobalt(II)sulfid | β-CoS | 1317-42-6 | 3,8 mg/l (18°) | |
| Cobaltcarbonyl | Co ₂ (CO) ₈ | 10210-68-1 | schwerlöslich ¹⁾ | |

¹⁾Löslichkeit < 0,1 g/l; genaue Zahlenwerte nicht verfügbar

3. Aufnahme und Verteilung:

Metallisches Cobalt:

Elementares Cobalt wird im Lungengewebe des Menschen solubilisiert und führt zu erhöhten Konzentrationen an löslichem Cobalt in Blut und Urin (Angerer et al., 1989). Im Versuch an Ratten lösen sich ultrafeine Cobaltpartikel (20 nm) in der Lunge innerhalb von Stunden, größere Partikel (11 µm) haben Halbwertszeiten in der Lunge von 3-4 Tagen (Edel et al., 1994).

Oxidische Cobaltverbindungen:

Das schwerlösliche Co₃O₄ wird von Menschen- und Hunde-Makrophagen in vitro gut aufgenommen und intrazellulär solubilisiert, wobei die Auflösung bei 0,3 µm-Partikeln mit einer Halbwertszeit von 14 Tagen etwa zehnmal schneller abläuft als bei 0,8 µm-Partikeln (Kreyling et al., 1990). In vivo wurden bei Hunden Halbwertszeiten für die Auflösung von Cobaltoxiden in Makrophagen der Lunge zwischen 6 und 80 Tagen gemessen (Kreyling et al., 1986). Das solubilisierte Cobalt wird in das Blut überführt, während der partikuläre Teil über den Kehlkopf ausgeschieden wird (Kreyling et al., 1993).

Sulfidische Cobaltverbindungen

Die Phagocytose von Cobaltsulfiden in Syrische-Hamster-Embryo-Zellen ist von der Kristallform und der Oberflächenladung abhängig. Kristalline, negativ geladene Partikel werden schneller aufgenommen als amorphe, positiv geladene (Abracchio et al., 1982).

Lösliche Cobalt-Verbindungen

Cobalt(II)chlorid wurde nach oraler Applikation (33,3 mg Co/kg KG) im Rattendarm nur schlecht resorbiert nach einem überwiegend passiven Transportmechanismus, und die Ausscheidung war verhältnismäßig schnell: 75% der oralen Dosis wurden innerhalb von 36 h ausgeschieden (Ayala-Fierro et al. 1999). Nach intravenöser Injektion von CoCl_2 , ebenfalls bei Ratten, wurden Cobaltionen rasch aus dem Blut ausgeschieden mit einer anfänglichen Halbwertszeit von nur 1,3 h (a.a.O.). Auch nach subkutaner Applikation von CoCl_2 bei Ratten wurde Cobalt aus dem Blutplasma rasch ausgeschieden mit einer Halbwertszeit von ca. 25 h (Rosenberg, 1993).

Bei männlichen Ratten einmalig intravenös injiziertes [^{57}Co]- CoCl_2 verteilte sich auf Blut, Leber, Lunge, Milz und Epididymis, wurde aber nicht in Keimzellen gefunden (Edel et al., 1994).. Für die Gentoxizität bedeutsam ist die deutliche Aufnahme von Cobalt in die Zellkerne von Leber (24,0%) und Niere (19,5%). In vitro mit [^{57}Co]- CoCl_2 behandelte Rattenspermien waren nicht gegen Cobalt-aufnahme geschützt (a.a.O.)

Nach längerfristiger Gabe der vergleichsweise hohen Konzentration von 400 ppm Co in Form von CoCl_2 im Trinkwasser über 10 Wochen wurde bei männlichen Mäusen ein Anstieg der Gewebskonzentrationen von Cobalt gemessen: 1,9fach in der Leber, 2,2-fach in der Niere, 2,5-fach im Hoden und 1,7-fach im Nebenhoden (Pedigo & Vernon, 1993). Einschränkend ist anzumerken, dass die erhöhte Cobaltkonzentration wahrscheinlich nicht auf eine erhöhte Cobaltmasse in den Hoden zurückzuführen ist, sondern auf eine durch Co induzierte Abnahme des Hodengewichts.

In einer anderen Studie wurde Cobaltchlorid mit dem festen Futter vermischt über 14 Tage verteilt an männliche Ratten verfüttert (Nation et al., 1983). Je sechs Tiere erhielten eine Gesamtdosis von 0, 5 und 20 mg/kg KG. Nach 69 Tagen wurden in den 5 und 20 mg/kg-Gruppen erhöhte Cobaltkonzentrationen in Blut, Hirn, Darm, Niere, Leber und Hoden gefunden. Die Hodengewichte in der 5 mg/kg-Gruppe waren normal, in der 20 mg/kg-Gruppe auf 42% vermindert. Die Cobaltkonzentrationen im Hoden waren dosisabhängig auf etwa das Zehn- bis Hundertfache der Kontrolle (0,2 bzw. 2 $\mu\text{g Co/g Gewebe}$) erhöht.

In einer Studie an Schafen wurden je vier männliche Tiere 70 Tage lang täglich mit 0, 3,0 und 4,5 mg Co/kg in Form von mit Cobaltchlorid gefüllten Gelatinekapseln gefüttert (Corrier et al., 1986). 38 weitere Tage lang wurden die Cobaltdosen auf 0, 10 und 15 mg/kg erhöht. Am Ende dieser Periode wurden die Tiere getötet und in Leber, Niere und Hoden die Cobaltkonzentrationen gemessen. Sie waren in allen drei Organen in den belasteten Gruppen signifikant erhöht, aber ohne signifikante Unterschiede zwischen der niedrigeren und der höheren Dosisgruppe.

4. Erfahrungen beim Menschen:

4.1. Fallbeschreibung:

Ein Arbeiter einer Mineralöl-Raffinerie hatte beim versehentlichen Öffnen eines Beutels mit pulverförmigem Cobalt-Phthalocyanin (Merox-Katalysator) eine größere Menge davon in den Mund bekommen. Er entwickelte fünf Monate später einen Riesenzell-Tumor im Mund (Schulz, 1978).

4.2. Epidemiologie (Tabelle V):

Hartmetalle:

Hartmetalle sind Gemenge aus Wolframcarbid und metallischem Cobalt. Wegen der besonderen physikalisch-chemischen und biologischen Eigenschaften dieser Stoffe werden die epidemiologischen Daten zu Hartmetallexposition in einem gesonderten Positionspapier behandelt.

Cobaltverbindungen bei der Verhüttung:

In den Jahren 1983/1984 wurde in einer Goslarer Metallhütte eine Feldstudie an einem Kollektiv von 40 Cobalt-exponierten Hüttenarbeitern durchgeführt (Wegner et al., 1986). Das mittlere Lebensalter lag bei $42,7 \pm 9,3$ Jahren und die mittlere Gesamtdauer der Cobaltexposition betrug $11,3 \pm 8,04$ Jahre; eine zusätzliche Nickelexposition konnte aufgrund der räumlichen Gegebenheiten nicht ausgeschlossen werden. Die mittlere Cobaltkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz lag bei $313,6 \pm 451,40 \mu\text{g}/\text{m}^3$; die Luftkonzentrationen und die entsprechenden Blutspiegel für verschiedene Arbeitsbereiche sind in der Tabelle III zusammengestellt. Die an den Hüttenarbeitern durchgeführten Untersuchungen (u.a. Blutbild, Lungenfunktionsanalytik und Röntgenuntersuchung der Thoraxorgane) erbrachten keine Hinweise auf ein Cobalt-spezifisches Krankheitsbild.

Tabelle III. Cobaltkonzentrationen in der Luft und im Blut bei Exponierten in einer Metallhütte (aus Wegner et al. 1986)

| Arbeitsbereich | Fallzahl | Cobalt in der Luft ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | | Cobalt im Blut ($\mu\text{g}/\text{dl}$) | |
|----------------|----------|---|-------|--|------|
| | | \bar{x} | s | \bar{x} | s |
| Reduktion | 12 | 49,1 | 84,0 | 0,49 | 0,26 |
| Elektrolyse | 11 | 238,8 | 133,8 | 1,86 | 1,02 |
| Mahlen/Sieben | 6 | 1045,7 | 692,2 | 5,22 | 6,47 |
| Salze | 9 | 338,9 | 349,3 | 1,77 | 1,08 |

Bei 67 von insgesamt 70 verstorbenen ehemaligen Hüttenarbeitern, die mindestens 10 Jahre Cobalt-exponiert waren, konnte die Todesursache noch eruiert werden (Tabelle IV). Das Lebensalter der an Lungenkrebs verstorbenen Hüttenarbeiter lag bei 63,6 + 10,03 Jahren und war damit etwas niedriger als das mittlere Lebensalter des Gesamtkollektivs (65,7 + 10,23 Jahre); die Beschäftigungszeit in der Hütte lag mit 27,3 + 9,07 Jahren deutlich über dem Mittelwert des Gesamtkollektivs (20,9 + 8,04 Jahre).

Tabelle IV. Todesursachen und Inzidenzen bei Beschäftigten einer Metallhütte (aus Wegner et al., 1986)

| Todesursache | Inzidenz | davon Raucher |
|---------------------------|----------------|----------------|
| Bronchialkarzinom | 13/67 (19,4 %) | 12/13 (92,3 %) |
| Magenkarzinom | 6/67 (9,0 %) | 5/6 (83,3 %) |
| Sonstige Malignome | 10/67 (14,9 %) | |
| Malignome insgesamt | 29/67 (43,3 %) | |
| Atemwegserkrankungen | 5/67 (7,5 %) | |
| Herz-/Kreislaufkrankungen | 30/67 (44,8 %) | |
| Sonstige Erkrankungen | 3/67 (4,5 %) | |

Die Krebsmortalität in dem Kollektiv mit 43,3 % liegt deutlich über dem Wert für die Bevölkerung der BRD für 1981 (23 %). Als Ursache für die erhöhte Krebsmortalität kommt nicht nur die Cobaltexposition in Betracht, da einige der Hüttenarbeiter bei früheren Tätigkeiten in der Pflanzenschutzabteilung erhebliche Arsenexpositionen aufwiesen und da außerdem bis 1957 eine Arsenexposition durch die Verarbeitung arsenhaltiger Cobalterze bestand. Weiterhin kann eine gleichzeitige Nickel-Exposition nicht ausgeschlossen werden. Schließlich war der Anteil an Rauchern bei den an Lungen- oder Magenkarzinomen verstorbenen Arbeitern extrem hoch.

Insgesamt zeigt diese Studie, dass in diesem Kollektiv die Krebsmortalität deutlich erhöht ist gegenüber der Normalbevölkerung. Die Studie stützt den Verdacht, dass Cobaltverbindungen kanzerogen sind. Sie kann aber nicht zur Einstufung von Cobaltverbindungen in die Kategorie C2 verwendet werden, weil erstens das Kollektiv zu klein ist, zweitens kein angepasstes Vergleichskollektiv erfasst wurde und drittens die direkte Korrelation zur Cobaltexposition aufgrund von erheblichen Confoundern (Arsen, Nickel, Rauchen) nicht abgeleitet werden kann.

Cobaltmetall:

Eine Studie von Mur et al. (1987) an einer Kohorte von 1143 französischen Arbeitern in der elektrochemischen Cobaltproduktion ergab zunächst eine erhöhte Lungenkrebs-Inzidenz (siehe Tabelle V). Die Aussagekraft der Studie bezüglich Cobalt ist wegen der geringen Fallzahl (n=4) und der in den Rohstoffen vorhandenen Nickel- und Arsen-Kontaminationen begrenzt (IARC, 1990). Überdies ergab eine wegen der geringen Fallzahl durchgeführte Follow-up-Studie an 1148 Arbeitern keine weiteren Krebsfälle über die Kontrollgruppe hinaus (Moulin et al., 1993).

Auch eine Studie zur Mortalität an Lungenkrebs bei einer Kohorte von 4897 Beschäftigten in der Herstellung von Edelstahl und anderen Stahllegierungen ergab keine erhöhte Mortalität im Zusammenhang mit Exposition gegenüber Cobaltstaub (Moulin et al., 2000). Es wurde eine eingebettete Fall-Kontroll-Studie aufgeschlüsselt nach Stoffexpositionen innerhalb der Gesamtkohorte durchgeführt. Die Aussagekraft dieser Studie ist begrenzt, weil die Expositionsabschätzung auf einer subjektiven Einschätzung in Experteninterviews beruht. Die bisherigen epidemiologischen Ergebnisse sind für eine Einstufung von Cobaltmetall als Kanzerogen nicht aussagekräftig.

Tabelle V. Epidemiologische Daten zur Frage der Lungen-Kanzerogenität von Cobalt und Cobaltverbindungen

| Exposition | Tätigkeiten | Exposition | Krebsfälle | Referenz |
|---|---|--|--|--------------------|
| Cobaltverbindungen in einer Metallhütte | Erz-Reduktion, Elektrolyse, Mahlen/Sieben und Umgang mit Cobaltsalzen | 313,6 + 451,4 µg/m ³ Confounder: Tabakrauchen und Arsen | 29/67 (43,3 %) der Verstorbenen, Es fehlt ein passendes Vergleichskollektiv | Wegner et al. 1986 |
| Cobaltmetall | Elektrochemische Cobaltproduktion Follow-up 1950-1980 | Dosis unbekannt, Confounder: Tabakrauchen, Arsen, Nickel Exposition > 1 Jahr, Kohorte von 1143 Arbeitern | 4 Fälle, SMR=4,66 95%-CI=1,46-10,46 (signifikant) | Mur et al. 1987 |
| | Dieselbe Kohorte, Follow-up 1950-1988 | Gleiche Kohorte, 1148 Arbeiter | 3 Fälle, SMR=0,85, 95%-CI=10,18-2,5 Keine neuen Lungenkrebsfälle | Moulin et al. 1993 |
| | Cobaltexponierte in Stahllegierungs-Produktion | Eingebettete Fall-Kontroll-Studie | 17 Fälle, 67 Kontr., OR=0,64, 95%-CI=0,33-1,25 | Moulin et al. 2000 |

5. Tierversuche zur Kanzerogenität (Tabellen VI und VII):

Metallisches Cobalt (Tab. VI):

Durch Cobalt-Implantate und intramuskuläre Injektion von Cobaltpulver wurden lokalen Sarkome erzeugt (Heath 1954, 1956). Diese Befunde werden nur als ergänzende Hinweise auf eine krebserzeugende Wirkung von Cobaltmetall gewertet, aber nicht als ausreichend für eine Einstufung in die Kategorie Carc. 2 angesehen.

Oxidisches Cobalt (Tab. VI):

Nach Inhalation von Cobalt(II)oxid wurde bei männlichen Hamstern keine signifikante Erhöhung der Zahl von Tieren mit Lungentumoren gefunden (Wehner et al., 1977). Nach intramuskulärer Injektion erzeugte Cobalt(II)oxid bei weiblichen Mäusen keine lokalen Tumoren (Gilman & Ruckerbauer 1962). Cobalt(II)oxid erzeugte bei männlichen und weiblichen Ratten nach intraperitonealer Injektion lokale maligne Tumoren und nach intratrachealer Instillation in geringem Umfang Lungentumoren (Steinhoff & Mohr 1991). Diese Befunde werden als Hinweise auf eine mögliche krebserzeugende Wirkung von Cobalt(II)oxid gewertet und führen im Zusammenhang mit mechanistischen Argumenten zur Einstufung in die Kategorie Carc. 3.

Eine Teilstudie zur Untersuchung der Kombinationswirkung von Cobaltoxid und Benz(a)pyren wurde mit kleinerer Tierzahl (20 pro Gruppe) und nur an weiblichen Tieren durchgeführt (Steinhoff & Mohr 1991). Das Ergebnis weist auf eine Verstärkung der Benz(a)pyren-Kanzerogenese durch Cobalt hin und ist im Zusammenhang mit der Hemmung der DNA-Reparatur durch Cobaltionen zu sehen (s.u.).

Sulfidisches Cobalt (Tab. VI):

Zu Cobalt(II)sulfid liegt nur eine Studie an Ratten mit intramuskulärer Injektion vor, bei der bei 35 von 48 Tieren lokale Sarkome beobachtet wurden (Gilman, 1962). Es fehlt eine unbehandelte Kontrolle. Diese Daten reichen nicht aus für eine Einstufung in die Kategorie Carc. 2.

Wasserlösliche Cobalt(II)-Salze (Tab. VI und VII):

Cobaltchlorid erzeugte nach subkutaner Injektion bei Ratten in hohen, toxischen Dosen lokale Sarkome (Shabaan, 1977). Stoner et al. (1976) beschreiben die Induktion von Lungentumoren bei der Maus durch intraperitoneale Injektion von Cobalt(II)acetat. Da aber die Tumorinzidenz in der Kontrolle schon 7/19 beträgt, ist diese Untersuchung nicht aussagefähig. Im NTP-Programm der USA wurde mit Cobalt(II)sulfat eine umfassende Inhalationsstudie durchgeführt (NTP 1998 und Bucher et al. 1999; Tabelle VII). Es ergab sich einige Evidenz für eine Lungenkanzerogenität bei männlichen F344/N-Ratten und eine klare Evidenz für Lungenkanzerogenität bei weiblichen F344/N-Ratten, männlichen und weiblichen B6C3F₁-Mäusen. In derselben Studie erzeugte Cobaltsulfat bei männlichen Ratten Phäochromocytoeme in der Niere. Dieser Befund zeigt, daß lösliches Cobalt auch fern vom Einwirkungsort Tumoren zu erzeugen vermag. In den nach Inhalation von Cobaltsulfat erzeugten Lungen-Neoplasien wurden bei 9 von 26 Mäusen Mutationen im K-ras-Onkogen gefunden. Dabei wurde eine hohe Frequenz von G-T-Transversionen im Codon 12 (GGT-GTT) beobachtet, eine in spontanen Lungen-Neoplasien seltene Mutation.

Tabelle VI. Tierversuche zur Kanzerogenität von Cobaltverbindungen (nach IARC, 1990)

| Spezies | Applikation | Dosis pro Applikation | Tumor tragende Tiere | Tumortyp | Referenz |
|-----------------------|--|----------------------------------|----------------------|---|--------------------------------|
| Cobaltmetall | | | | | |
| Ratte, m | Intramuskuläre Inj. | 0 mg | 0/10 | kein Befund | Heath (1954, 1956) |
| | | 28 mg | 4/10 | lokale Sarkome | |
| Ratte, f | Intramuskuläre Inj. | 0 mg | 0/10 | kein Befund | |
| | | 28 mg | 5/10 | lokale Sarkome | |
| Ratte, f | Intrarenale Injektion | 0 mg | 0/16 | kein Befund | Heath & Daniel (1962) |
| | | 5 mg | 0/18 | kein Befund | |
| Cobalt(II)oxid | | | | | |
| Hamster, m | Inhalation 7h/Tag ; 5 Tage/W | 0 µg/L | 1/51 2/51 | maligner Tumor benigne Tumoren | Wehner et al. (1977) |
| | 17-21 Monate | 10 µg/L | 2/51 1/51 | maligne Tumoren benigne Tumoren | |
| Maus, f | i.m. Injektion | 0 mg | 0/48 | kein Befund | Gilman & Ruckerbauer (1962) |
| | | 10 mg | 0/46 | kein Befund | |
| Ratte, m | i.p. Injektion | 0 mg/kg KG | 0/20 | kein Befund | Steinhoff & Mohr (1991) |
| | 1x/W, 2 Jahre | 2 mg/kg KG | 5/10 | lokale maligne Tumoren | |
| | | 10 mg/kg KG | 4/10 | lokale maligne Tumoren | |
| Ratte, m | i.t. Instillation | 0 mg/kg KG | 0/100 | | |
| | 1x/2 W., 2 Jahre | 2 mg/kg KG | 1/50 | benigne Plattenepitheltum. | |
| | | 10 mg/kg KG | 5/50 | 3 Adenokarzinome, 2 Adenome | |
| Ratte, f | i.t. Instillation | 0 mg/kg KG | 0/100 | | |
| | 1x/2 W., 2 Jahre | 2 mg/kg KG | 1/50 | Adenom | |
| | | 10 mg/kg KG | 1/50 | Karzinom | |
| Ratte, f | intratracheale Instill. 1x alle 14 Tage | 0 mg/kg CoO, 0 mg/kg B(a)P | 0/20 | | Steinhoff & Mohr (1991) |
| | für 2 Jahre | 10 mg/kg CoO + 20 mg/kg B(a)P | 8/20 1/20 | Plattenepithel-Tumoren Adenokarzinom | |
| | | 0 mg/kg CoO + 20 mg/kg B(a)P | 1/20 | Plattenepithel-Tumor | |

| Spezies | Applikation | Dosis pro Applikation | Tumor tragende Tiere | Tumortyp | Referenz |
|---------------------------|---|-----------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| Cobalt(II)-sulfid | | | | | |
| Ratte, m+f | intramuskuläre Inj. | 0 mg | keine Angabe | | Gilman (1962) |
| | | 20 mg | 35/48 | Lokale Sarkome | |
| Cobalt(II)-chlorid | | | | | |
| Ratte, m | subkutan, 2 x 5 d, mit 9 d Intervall | 0 mg/kg | 0/19 | | Shabaan (1977) |
| | | 40 mg/kg | 6/16 nach 8 Monaten | lokale Sarkome | |
| | | 40 mg/kg | 8/11 nach 12 Monaten | lokale Sarkome | |

Versuch mit Cobaltsulfat siehe folgende Tabelle VII

Tabelle VII. Inhalationsstudie mit Cobaltsulfat-Heptahydrat (NTP, 1998):

Der besseren Vergleichbarkeit wegen sind die Konzentrationen von Massen Cobaltsulfat-Heptahydrat in Massen elementares Co umgerechnet.

| Tumortypen | Cobalt-Konzentration ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | F344/N-Ratten mit Tumoren | | B6C3F ₁ -Mäuse mit Tumoren | |
|-----------------------------------|---|---------------------------|--------|---------------------------------------|--------|
| | | männl. | weibl. | männl. | weibl. |
| Lungenadenom | 0 | 1/50 | 0/50 | 9/50 | 3/50 |
| | 60 | 4/50 | 1/49 | 12/50 | 6/50 |
| | 200 | 1/48 | 10/50 | 13/50 | 9/50 |
| | 600 | 6/50 | 9/50 | 18/50 | 10/50 |
| Lungencarcinom | 0 | 0/50 | 0/50 | 4/50 | 1/50 |
| | 60 | 0/50 | 2/49 | 5/50 | 1/50 |
| | 200 | 3/48 | 6/50 | 7/50 | 4/50 |
| | 600 | 1/50 | 6/50 | 11/50 | 9/50 |
| Adenom+Carcinom der Lunge | 0 | 1/50 | 0/50 | 11/50 | 4/50 |
| | 60 | 4/50 | 3/49 | 14/50 | 7/50 |
| | 200 | 4/48 | 16/50 | 19/50 | 13/50 |
| | 600 | 7/50 | 16/50 | 28/50 | 18/50 |
| Phäochromocytom der Nebenniere | 0 | 15/50 | 2/48 | | |
| | 60 | 19/50 | 1/49 | | |
| | 200 | 25/49 | 4/50 | | |
| | 600 | 20/50 | 10/50 | | |
| Evidenz | | einige | klar | klar | klar |

6. Erbgutverändernde Wirkung:

Gentoxizität in vitro (Tabelle VIII):

Tabelle VIII gibt einen Überblick über die Versuche mit Cobalt(II)-Verbindungen in vitro. Die Ergebnisse von Mutagenesetests mit leichtlöslichen Cobaltsalzen bei Bakterien sind überwiegend negativ. Die Gentoxizitätsversuche mit leichtlöslichen Cobaltsalzen bei Säugerzellen in vitro ergaben teils positive, teils negative Resultate. Cobalt(II)sulfid erzeugte bei Säugerzellen in vitro DNA-Brüche und morphologische Zelltransformation. In einer neueren Untersuchung wurde eine klastogene Wirkung von Cobaltmetall-Staub bei Human-Lymphozyten beobachtet, wobei diese Wirkung bei einer Kombination von Cobalt und Wolframcarbid, wie sie in Hartmetallen vorkommt, ausgeprägter war als bei elementarem Cobalt allein (Anard et al., 1997).

Die Gentoxizität anderer mutagener Agenzien wurde durch Cobalt verstärkt (Beyersmann & Hartwig, 1992). Dieser Zusammenhang wird durch die hemmende Wirkung von Cobaltionen auf die Reparatur von DNA-Schäden gedeutet (Kasten et al., 1997). Insbesondere wird durch Cobalt(II)-Ionen die Funktion des XPA-Proteins aus Säugerzellen, welches an der Nucleotid-Excisions-Reparatur beteiligt ist, gehemmt (Asmuss et al., 2000). Den komutagenen Eigenschaften entspricht ein Hinweis auf eine kokanzerogene Wirkung im Tierversuch, in dem Cobalt(II)oxid die tumorigene Wirkung von Benz(a)pyren verstärkte (Steinhoff & Mohr, 1991). Auch aus Erfahrungen bei Menschen ergeben sich Hinweise auf eine Störung der DNA-Reparatur durch Cobalt (siehe unten, Hengstler et al., 2000).

Gentoxizität in vivo (Tabelle IX):

In einer einzelnen Studie erzeugte Cobalt(II)-chlorid nach intraperitonealer Injektion bei männlichen Hamstern Aneuploidien, insbesondere Hyperdiploidien, in Knochenmarkszellen und Spermatozyten (Farah, 1983). Die Gesamtdosis von 400 mg/kg liegt im toxischen Bereich, und die beschriebenen Effekte sind relativ schwach und angesichts der geringen Zahl ausgewerteter Zellen nicht gut abgesichert.

Bei Mäusen erzeugte die orale Gabe von Cobalt(II)-chlorid Chromosomenaberrationen im Knochenmark (Palit et al., 1991). Die Arbeit beschreibt einen dosisabhängigen Anstieg der Aberrationsraten nach einmaliger Gabe von 20-80 mg/kg. Diese Mengen liegen deutlich unterhalb toxischer Dosen. Der maximale Effekt von 21,6 % aberranter Zellen ist sehr hoch.

Nach intraperitonealer Injektion toxischer Dosen von Cobalt(II)chlorid bei Mäusen wurden innerhalb von nur zwei Tagen Nachbeobachtung dosisabhängig Mikronuklei in polychromatischen Erythrozyten gefunden (Suzuki et al., 1993). Der Dosisbereich reicht bis an die LD₅₀ heran, die in einer früheren Arbeit ermittelt worden war.

Im Rahmen der Kanzerogenesestudie des NTP-Programms mit Cobaltsulfat bei Mäusen wurden in 9 von 26 untersuchten tumortragenden Tieren im Tumorgewebe Mutationen im Proto-Onkogen K-ras gefunden (NTP, 1997). 5 der 9 Mutationen waren G > T – Transversionen im Codon 12. Die Autoren interpretieren diese Transversion als „supportive evidence that cobalt sulfate heptahydrate may indirectly damage DNA by oxidative stress“.

Zur Frage, ob Cobalt nach oraler Aufnahme die Keimzellen erreicht, gibt es Aussagen aus mehreren Studien. Aus grundsätzlichen Überlegungen heraus ist aber bei bioverfügbaren

Metallionen damit zu rechnen, dass sie auch von Keimzellen aufgenommen werden.

Bei männlichen Ratten einmalig intravenös injiziertes [⁵⁷Co]-CoCl₂ verteilte sich auf Blut, Leber, Lunge, Milz und Epididymis, wurde aber nicht in Keimzellen gefunden (Edel et al., 1994). Es fand sich aber eine deutliche Aufnahme von Cobalt in die Zellkerne von Leber (24,0%) und Niere (19,5%). In vitro mit [⁵⁷Co]-CoCl₂ behandelte Rattenspermien waren nicht gegen Cobaltaufnahme geschützt (a.a.O.)

Im Rahmen einer Studie an Mäusen zur Reproduktionstoxizität wurde die Frage der möglichen Anreicherung von Cobalt in Keimzellen untersucht (Pedigo & Vernon, 1993). Nach längerfristiger Gabe der vergleichsweise hohen Konzentration von 400 ppm Co in Form von CoCl₂ im Trinkwasser über 10 Wochen wurde bei männlichen Mäusen ein Anstieg der Gewebekonzentrationen von Cobalt gemessen: 1,9-fach in der Leber, 2,2-fach in der Niere, 2,5-fach im Hoden und 1,7-fach im Nebenhoden (Pedigo & Vernon, 1993). Einschränkend ist anzumerken, dass die erhöhte Cobaltkonzentration im Hoden wahrscheinlich nicht auf eine erhöhte Cobaltmasse zurückzuführen ist, sondern auf eine durch Cobalt induzierte Abnahme des Hodengewichts.

In einer anderen Studie wurde Cobaltchlorid mit dem festen Futter vermischt über 14 Tage verteilt an männliche Ratten verfüttert (Nation et al., 1983). Je sechs Tiere erhielten eine Gesamtdosis von 0, 5 und 20 mg/kg KG. Nach 69 Tagen wurden in den 5 und 20 mg/kg-Gruppen erhöhte Cobaltkonzentrationen in Blut, Hirn, Darm, Niere, Leber und Hoden gefunden. Die Hodengewichte in der 5 mg/kg-Gruppe waren normal, in der 20 mg/kg-Gruppe auf 42% vermindert. Die Cobaltkonzentrationen im Hoden waren dosisabhängig auf etwa das Zehn- bis Hundertfache der Kontrolle (0,2 bzw. 2 µg Co/g Gewebe) erhöht. Es gab also eine Cobaltakkumulation im Hoden auch in der unteren Dosisgruppe, bei der noch keine Hodenatrophie zu verzeichnen war.

In einer Studie an Schafen wurden je vier männliche Tiere 70 Tage lang täglich mit 0, 3,0 und 4,5 mg Co/kg in Form von mit Cobaltchlorid gefüllten Gelatinekapseln gefüttert (Corrier et al., 1986). 38 weitere Tage lang wurden die Cobaltdosen auf 0, 10 und 15 mg/kg erhöht. Am Ende dieser Periode wurden die Tiere getötet und in Leber, Niere und Hoden die Cobaltkonzentrationen gemessen. Sie waren in allen drei Organen in den belasteten Gruppen signifikant erhöht, aber ohne signifikante Unterschiede zwischen der niedrigeren und der höheren Dosisgruppe.

Erfahrungen beim Menschen:

Innerhalb einer Gruppe von 78 Metallarbeitern wurden bei einer Untergruppe von 11 Personen, die gegenüber $\geq 5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Cobalt am Arbeitsplatz exponiert waren, vermehrt DNA-Einzelstrangbrüche und eine verminderte Reparaturkapazität für oxidative DNA-Schäden in Lymphozyten gefunden (Hengstler et al., 2000).

Zusammenfassende Bewertung der Gentoxizitätsdaten:

Die Ergebnisse von in vitro-Mutagenitätsversuchen mit löslichen Cobalt(II)-Verbindungen bei Bakterien und Säugerzellen sind widersprüchlich. Sie lassen den Schluss zu, dass lösliches Cobalt(II) in vitro schwach DNA schädigend und schwach mutagen ist. In vivo erzeugten lösliche Cobalt(II)salze bei Mäusen Chromosomenaberrationen und Mikrokerne, bei Hamstern Aneuploidie, zum Teil erst in toxischen Konzentrationen. Diese Daten werden als Hinweise auf eine schwache chromosomenschädigende Wirkung von löslichem Cobalt(II) in vivo interpretiert. Zum Mechanismus gibt es Hinweise darauf, dass

lösliches Cobalt(II) die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies fördert und die Reparatur von DNA-Schäden hemmt. Trotz der Mängel in der Durchführung einzelner Studien ergeben die in-vitro- und die in-vivo-Daten zusammengenommen für lösliche Cobalt(II)-Verbindungen den begründeten Verdacht auf erbgutverändernde Wirkung.

Es gibt keine Versuche zu erbgutverändernden Wirkungen von Cobalt in Keimzellen, aber Untersuchungen zur Aufnahme in Hoden von Versuchstieren. In Studien an männlichen Ratten und Schafen wurde nach oraler Aufnahme von Cobaltchlorid eine Akkumulation von Cobalt in verschiedenen Organen einschließlich des Hodens gefunden. Die bei Mäusen gefundene Akkumulation von Cobalt im Hoden ist weniger eindeutig interpretierbar wegen der durch Cobalt induzierten Abnahme des Hodengewichts.

Bei Vorliegen von Mutagenität in Somazellen und dem Nachweis der Aufnahme in Keimzellen müsste die Einstufung löslicher Cobalt(II)-Verbindungen in die Kategorie 2 erbgutverändernd (M: 2) erfolgen. Wegen nur schwach ausgeprägten Genotoxizität in vitro und der bei den einzelnen in-vivo-Mutagenitätsstudien bestehenden Unsicherheiten wird gegenwärtig trotz des Nachweises der Aufnahme von Cobalt aus löslichen Cobalt(II)-Verbindungen in die Hoden von Versuchstieren auf eine Einstufung in die Kategorie 2 erbgutverändernd (M: 2) verzichtet und in die Kategorie 3 erbgutverändernd (M: 3) eingestuft.

Tabelle VIII. Gentoxizität von Cobaltverbindungen in vitro

Im allgemeinen wurde kein metabolisierender S9-Extrakt eingesetzt; (§) gleiches Ergebnis mit S9-Extrakt.
(Umrechnung: 1 mmol = 58,93 mg)

Gentoxizität bei Mikroorganismen

| Stoff | Test | Wirkung | Max. Menge pro Schale oder Konz. | Toxizität | Referenz |
|--|--|---------|----------------------------------|-------------------|-------------------------|
| Cobalt(II)chlorid | <u>Reverse Mutation bei S.typhimurium</u> TA100 | | | | |
| | TA102 | - | 100 mmol | 50% bei 10 mmol | Tso & Fung 1981 |
| | TA1535 | - (§) | 2 mmol | 50% growth inhib. | Wong, 1988 |
| | TA1537 | - (§) | 2 mmol | 50% growth inhib. | Wong, 1988 |
| | TA1537 | + | 2 mmmol | 50% growth inhib. | Wong, 1988 |
| | TA1538 | - | 1 mmol | keine Angabe | Ogawa et al., 1986 |
| | TA98 | - | 0,08 mmol | nicht toxisch | Mochizuki & Kada, 1982 |
| | TA98 | + | 2 mmol | 50% growth inhib. | Wong, 1988 |
| | TA2637 | - | 0,08 mmol | nicht toxisch | Ogawa et al., 1986 |
| | | - | 1 mmol | keine Angabe | Ogawa et al., 1986 |
| Cobalt(II)sulfat | TA100 | + | 10 mg | schwach tox. | NTP, 1997 |
| | TA98 | (§) | 10 mg | schwach tox. | NTP, 1997 |
| | TA1535 | - | 1 mg | nicht tox. | NTP, 1997 |
| | | (§) | | | |
| | | - | | | |
| | | (§) | | | |
| Cobalt(II)chlorid | Genmutation im supF-tRNA-Gen von E.coli (Zellfreie Behandlung eines Plasmids und Transfektion in E.coli) | + | 20 µM | entfällt | Ogawa et al. 1999 |
| | Petite Mutation bei S.cerevisiae | + | 36 mM | 60 % | Prazmo et al., 1975 |
| | Genkonversion bei S.cerevisiae | + | 100 mM | 20 % | Kharab & Singh, 1985 |
| <u>Gentoxizität bei Säugerzellen in vitro</u> | | | | | |
| Cobalt(II)chlorid | Genmutation | | | | |
| | - bei V79-Hamsterzellen (hpert) | + | 250 µM | 70 % | Hartwig et al., 1990 |
| | - bei Maus-Lymphoma-Zellen (tk) | - | 240 µM | keine Angabe | Amacher & Paillet, 1980 |
| Cobalt(II)nitrat | Chromosomenaberrationen bei Human-Fibroblasten | - | 0,08 µM | subtoxisch | Paton & Allison, 1972 |

| Stoff | Test | Wirkung | Max. Menge pro Schale oder Konz. | Toxizität | Referenz |
|---------------------------------|--|------------------|----------------------------------|--|---|
| | bei Human-Leukozyten | - | 0,08 µM | subtoxisch | Paton & Allison, 1972 |
| Cobalt(II)carbonat | Chromosomenaberrationen bei Human-Lymphozyten | - | 2,4 µM | keine Angabe | Vorosholin et al. 1978 |
| Cobalt(II)acetat | Chromosomenaberrationen bei Human-Lymphozyten | - | 2,4 µM | keine Angabe | Vorosholin et al. 1978 |
| Cobalt(II)chlorid | SCE bei Maus-Makrophagen-Linie - bei menschl. Lymphozyten - bei V79-Hamster-Zellen | + + + | 100 µM 10 µM 100 µM | nicht toxisch nicht toxisch nicht toxisch | Andersen 1983 Andersen 1983 Hartwig et al. 1990 |
| | Mikronuklei bei Mäusezellen in vitro | - | 50 µg/ml | keine Angabe | Suzuki et al. 1993 |
| | Mikronuklei bei menschl. Lymphozyten | + | 0,6 µM | nicht toxisch | Capomazza & Botta 1991 |
| | DNA-Brüche bei CHO-Zellen - bei menschl. Fibroblasten - bei HeLa-Zellen - bei menschl. Leukozyten | + + + + | 2 mM 10 mM 250 µM 50 µM | nicht toxisch nicht toxisch 70 % keine Angabe | Robison et al., 1982 Hamilton-Koch et al., 1986 Hartwig et al., 1990 McLean et al., 1982 |
| Cobalt(II)chlorid | Morpholog. Zelltransformation bei Syr. Hamster-Embryo-Zellen | + | 200 µM | keine Angabe | Costa et al., 1982 |
| | Hemmung der DNA-Reparatur in Human-Fibroblasten | + | 200 µM | 55 % | Kasten et al. 1997 |
| Cobalt(II)sulfid, kristallin | DNA-Brüche in vitro (CHO-Zellen) Morpholog. Zelltransformation (CHO) | + + | 10 mg/ml 5 mg/ml | keine Angabe keine Angabe | Robison et al., 1982 Costa et al., 1982 |

Tabelle IX. Gentoizitätsdaten in vivo

| Stoff | Test | Applikation und Dosis | Wirkung | Toxizität | Referenz |
|------------------------------|--|---|--|--|----------------------|
| Cobalt(II)chlorid | Aneuploidie beim männlichen Hamster - im Knochenmark - in Keimzellen | Intraperitoneale Injektion, 400 mg/kg, verteilt auf 9 d | + ¹⁾ ²⁾ + ¹⁾ ²⁾ | „subletal“ | Farah (1983) |
| | Chromosomenaberrationen im Knochenmark bei Mäusen mit und ohne gaps | Orale Gabe, 20-80 mg/kg | + ²⁾ dosis-abhängig | LD ₅₀ = 800 mg/kg | Palit et al. (1991) |
| | Mikronuklei im Knochenmark bei Mäusen nach 2 Tagen | Intraperitoneale Injektion, 25 - 90 mg/kg | + ¹⁾ dosisabhängig | Hier keine Daten, aus früherer Arbeit: LD ₅₀ = 90 mg/kg | Suzuki et al. (1993) |
| Cobalt(II)sulfat-Heptahydrat | K-ras-Mutation in Lungen-Neoplasmen von Mäusen | Inhalation, 3 mg/m ³ | + | subtoxisch | NTP (1997) |

¹⁾ im toxischen Bereich ; ²⁾ fehlende Positivkontrolle

7. Reproduktionstoxizität (Tabelle X):

Teratogenitätsstudien:

Die Teratogenität von Cobaltchlorid wurde bei Mäusen und Ratten untersucht. Nach einmaliger Injektion einer verhältnismäßig hohen Dosis von CoCl_2 bei trächtigen Mäusen wurde in den Feten eine Verzögerung der Knochenbildung beobachtet (Wide, 1984). Bei trächtigen Wistar-Ratten waren nach oraler Applikation maternal-toxischer Cobaltchlorid-Dosen die Würfe verkleinert, und die Überlebensfähigkeit der Nachkommen beeinträchtigt (Domingo et al., 1985). Wurden trächtigen Sprague-Dawley-Ratten ähnlich hohe Dosen an Cobaltchlorid verabreicht, fanden sich keine Verluste bei der Implantation und Feten, auch keine groben Mißbildungen (Paternain et al., 1988).

Studien zur männlichen Fertilität:

Die Wirkung von Cobaltchlorid auf die männliche Fertilität wurde bei Ratten, Mäusen und Schafen untersucht. Bei männlichen Ratten führte die orale Gabe von 20 mg Co/kg KG über 14 Tage verteilt nach 69 Tagen zu vermindertem Hodengewicht (Nation 1983). Die Gabe von 265 ppm Co im Futter nach 70 Tagen zu degenerativen und nekrotischen Veränderungen im Keimepithel und bei Sertoli-Zellen (Corrier et al., 1985). In einer 91-Tage-Inhalationsstudie an männlichen Ratten wurde bei der höchsten angewandten Konzentration ($30 \text{ mg/m}^3 \text{ CoSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$) ein vermindertes Hodengewicht beobachtet (Bucher et al. 1990).

In derselben Studie wurden bei männlichen Mäusen ab 3 mg/m^3 desselben Salzes verminderte Sperma-Motilität und bei 30 mg/m^3 vermindertes Hodengewicht gefunden. Bei männlichen Mäusen führte chronische Exposition (13 Wochen) gegenüber 400 ppm $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ im Trinkwasser zur Vakuolisierung von Sertolizellen, zu abnormen Spermatid-Kernen, Multi-Kern-Zellen, Schrumpfen der seminiferen Tubuli und Abnahme des Hodengewichts auf etwa die Hälfte nach 11-13 Wochen. (Anderson et al. 1992). In einem ähnlichen Versuchsansatz beeinträchtigte Cobaltchlorid die Fertilität der Mäuse in zeit- und dosisabhängiger Weise (Pedigo et al., 1988). Dabei wurden beobachtet: Abnahme des Hodengewichts, Verminderung der epididymalen Spermakonzentration, Abnahme der Sperma-Motilität und des Anteils der befruchteten Eier bei den verpaarten weiblichen Tieren. Die Ergebnisse wurden in einer neueren Publikation desselben Labors bestätigt und erweitert (Pedigo & Vernon, 1993): Nach zehnwöchiger Gabe von 400 ppm $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ Cobaltchlorid im Trinkwasser wurde eine deutliche Störung verschiedener Sperma-Parameter und der Fertilität beobachtet. Außerdem wurden erhöhte Cobalt-Konzentrationen in verschiedenen Organen einschließlich Testis und Epididymis gefunden, die aber möglicherweise auf eine durch Cobalt induzierte Abnahme des Gewichts dieses Organs zurückzuführen sind.

In einer Studie an Schafen wurden je vier männliche Tiere 70 Tage lang täglich mit 0, 3,0 und 4,5 mg Co/kg in Form von mit Cobaltchlorid gefüllten Gelatine kapseln gefüttert (Corrier et al., 1986). 38 weitere Tage lang wurden die Cobaltdosen auf 0, 10 und 15 mg/kg erhöht. Am Ende dieser Periode wurden die Tiere getötet. Die Cobaltkonzentrationen in Leber, Niere und Hoden waren in den belasteten Gruppen signifikant erhöht, aber ohne signifikante Unterschiede zwischen der niedrigeren und der höheren Dosisgruppe. Es wurden aber keine Verminderungen der Hodengewichte, keine mikroskopischen Gewebsschäden in Hoden und anderen Organen, keine Beeinträchtigung der Spermatidreserven, keine signifikanten Veränderungen bei hämatologischen Zellanalysen und normale Serumenzym-Aktivitäten gefunden.

Tabelle X. Daten zur Reproduktionstoxizität von Cobaltchlorid bei Säugetieren

| Versuchstier | Cobalt-Dosis u. Applikation | Effekt | Toxizität | Literatur |
|-------------------------|--|---|--|-----------------------|
| Maus, f | Einmalige i.v.-Injektion von 0,1 ml 5 mM CoCl ₂ am 3. oder 8. Tag nach Befruchtung | Embryo-Implantation normal, Knochenbildung verzögert | Maternaltoxizität nicht berichtet | Wide 1984 |
| Wistar-Ratte, f | Oral CoCl ₂ vom 14. Tag der Trächtigkeit bis zum 21. Tag nach Geburt: 12 mg Co/kg/d, 24 mg Co/kg/d = 5% der LD50, 48 mg Co/kg/d = 10% der LD50 | Ab 12 mg Co/kg/d verminderte Würfe, ab 24 mg Co/kg/d weniger und ab 48 mg Co/kg/d keine überlebenden Nachkommen. | Maternale Toxizität bei 24 und 48 mg Co/kg/d berichtet aber nicht quantifiziert | Domingo et al. 1985 |
| Sprague-Dawley-Ratte, f | Oral (Gavage) vom 6. bis 15. Tag nach Befruchtung, 25, 50, und 100 mg CoCl ₂ /kg/d | Keine Verluste bei Implantation, keine Verluste von Feten, keine groben Mißbildungen, | Maternale Toxizität bei 100 mg/kg/d: geringere Nahrungsaufnahme, geringeres KG, erhöhte Hämatokrit-, Hb- und Retikulozyten-Werte | Paternain et al. 1988 |
| Sprague-Dawley-Ratte, m | Oral 5 und 20 mg/kg über 14 Tage verteilt. | Nach 69 Tagen Co-Akkumulation auf 0,2 und 2 µg/g Hodengewebe, Hodengewicht bei niedriger Dosis normal, bei höherer Dosis auf 42% vermindert | | Nation 1983 |
| Sprague-Dawley-Ratte, m | 265 ppm CoCl ₂ x 6 H ₂ O im 15g-Futter-Pellet täglich über 98 Tage | Nach 70 Tagen degenerative und nekrotische Veränderungen im Keimepithel und in Sertoli-Zellen | Leydig-Zellen, Epididymis und Samen-Vesikel normal, keine signifikanten Entzündungsreaktionen | Corrier et al. 1985 |
| F344-Ratte, m | Inhalation 91 Tage von CoSO ₄ x 6 H ₂ O 0; 0,3; 1,0; 3,0; 10; 30 mg/m ³ (= 0; 0,06; 0,21; 0,63; 2,1; 6,3 mg Co/m ³) | Vermindertes Hodengewicht bei 6,3 mg Co/m ³ | Bei allen Co-Konzentrationen Entzündungen der Atemwege | Bucher et al. 1990 |
| B6C3F1-Maus, m | Inhalation 91 Tage von CoSO ₄ x 6 H ₂ O 0; 0,3; 1,0; 3,0; 10; 30 mg/m ³ (0; 0,06; 0,21; 0,63; 2,1; 6,3 mg Co/m ³) | Verminderte Spermamotilität bei ≥ 0,63 mg Co/m ³ , vermindertes Hodengewicht bei 6,3 mg Co/m ³ | Nicht beschrieben | Bucher et al. 1990 |

| Versuchstier | Cobalt-Dosis u. Applikation | Effekt | Toxizität | Literatur |
|---|---|--|---|------------------------|
| B6C3F1-Maus, m | Orale Gabe von 400 ppm CoCl ₂ x 6 H ₂ O (= 1,7 mM) über 13 Wochen im Trinkwasser | Vakuolisierung von Sertolizellen, abnorme Spermatid-Kerne, Multi-Kern-Zellen, Schrumpfen der seminiferen Tubuli, Abnahme des Hodengewichts | Makroskopische und mikroskopische Schäden am Hoden | Anderson et al. (1992) |
| Maus (CD-1), m | Orale Gabe von 100, 200, 400 ppm CoCl ₂ x 6 H ₂ O (= 0,4; 0,8; 1,7 mM) über 13 Wochen im Trinkwasser | Verminderung der Fertilität in zeit- und dosisabhängiger Weise bei 100, 200 und 400 ppm, Abnahme des Hodengewichts, der epididymalen Spermakonzentration, der Sperma-Motilität | Keine Beeinträchtigung des Wachstums (Körpergewicht) bei 100 und 200 ppm, leichte Verminderung bei 400 ppm. | Pedigo et al. 1988 |
| B6C3F1-Maus, m (Dominant-Letal-Test) | Oral im Trinkwasser 400 ppm CoCl ₂ x 6 H ₂ O (= 1,7 mM) über 10 Wochen vor der Paarung. Co-Konzentration gestiegen in Leber 1,9 x, Niere 2,2 x, Testis 2,5 x, Epididymis 1,7 x | In der 12. Woche nach Behandlung: - Beeinträchtigt. aller Sperma-Parameter - Verminderung der Fruchtbarkeit auf 2% (erholt nach der 18. Woche), - Erhöhung der Präimplantations- Verluste von 0,43/29 auf 2,4/18, aber nicht der Postimplantations-Verluste, - verminderte Zahl der Geburten, aber keine Störung der in vitro-Entwicklung der Embryonen | Makroskopische und mikroskopische Schäden am Hoden | Pedigo & Vernon (1993) |
| Schaf, m | Oral 3,0 und 4,5 mg Co/kg täglich, 70 Tage, dann 10 und 15 mg/kg täglich, 38 Tage | Keine Beeinträchtigung des Hodengewichts, der Spermatidreserven, hämatologischer und enzymatischer Parameter, keine mikroskopischen Gewebsschäden | Keine Toxizität beobachtet | Corrier et al. (1986) |

8. Einstufungsvorschläge:

Kanzerogenität:

Wasserlösliche Cobaltverbindungen (Löslichkeit > 0,1 g/l) werden aufgrund der inhalativen Tierversuche mit Cobaltsulfat an zwei Spezies in Kategorie 2 krebserzeugend (C: 2) eingestuft. Die Einstufung von Cobalt-Sikkativen wird bis zur Klärung ihrer Löslichkeit zurückgestellt. Cobaltmetall und die übrigen Cobaltverbindungen verbleiben in der bisherigen Kategorie 3 krebserzeugend (C: 3).

Mutagenität:

Cobalt(II)-Salze sind bei Bakterien und Säugerzellen in vitro schwach mutagen. In vivo erzeugten Cobalt(II)-Salze bei Mäusen Chromosomenaberrationen und Mikrokerne, bei Hamstern Aneuploidie, aber zum Teil erst in toxischen Konzentrationen. Es gibt keine Versuche zu erbgutverändernden Wirkungen von Cobalt in Keimzellen. In Studien an männlichen Ratten und Schafen wurde nach oraler Aufnahme von Cobaltchlorid eine Aufnahme von Cobalt in Hoden gefunden. Die bei Mäusen gefundene Akkumulation von Cobalt im Hoden ist weniger eindeutig, weil Cobalt eine Abnahme des Hodengewichts induzierte.

Bei Vorliegen von Mutagenität in Somazellen und dem Nachweis der Aufnahme in Keimzellen müsste die Einstufung löslicher Cobalt(II)-Verbindungen in die Kategorie 2 erbgutverändernd (M: 2) erfolgen. Wegen nur schwach ausgeprägten Gentoxizität in vitro und der bei den einzelnen in-vivo-Mutagenitätsstudien bestehenden Unsicherheiten wird gegenwärtig trotz des Nachweises der Aufnahme von Cobalt aus löslichen Cobalt(II)-Verbindungen in die Hoden von Versuchstieren auf eine Einstufung in die Kategorie 2 erbgutverändernd (M: 2) verzichtet und in die Kategorie 3 erbgutverändernd (M: 3) eingestuft.

Reproduktionstoxizität:

Aufgrund der Beeinträchtigung der männlichen Fertilität durch Cobaltchlorid nach oraler Gabe bei Mäusen und der Erzeugung von Schäden im Keimgewebe bei Ratten werden lösliche Cobaltverbindungen in die Kategorie 2 fortpflanzungsgefährdend (Fruchtbarkeit) (R_F: 2) eingestuft. Die vorliegenden Daten reichen nicht für eine Einstufung als Teratogen in die Kategorie fortpflanzungsgefährdend (entwicklungsschädigend) (R_E: -).

Risikoabschätzung:

Cobaltsulfat hat im Inhalationsversuch bei Ratten und Mäusen im Bereich der gegenwärtig gültigen TRK-Konzentrationen (0,1 bzw. 0,5 mg/m³, berechnet als Co) dosisabhängig Lungentumoren erzeugt.

10. Literatur:

- [1] Abracchio, M.P., Heck, J.D., Costa, M. (1982) *Carcinogenesis* 3: 175-180
- [2] Amacher, D.E., Paillet, S.C. (1980) *Mutat. Res.* 78: 279-288
- [3] Anard, D., Kirsch-Volders, M., Elhajouji, A., Belpaeme, K., Lison, D. (1997) *Carcinogenesis* 18: 177-184
- [4] Anderson, M.B., Pedigo, N.G., Katz, R.P., George, W.J. (1992) *Reproductive Toxicol* 6: 41-50
- [5] Anderson, O. (1983) *Environ. Health Perspect.* 47: 239-253
- [6] Angerer, J., Heinrich-Ramm, R., Lehnert, G. (1989) *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 35: 81-88.
- [7] Asmuß, M., Mullenders, L.H., Hartwig, A. (2000) *Toxicol. Lett.* 112-113:227-231
- [8] Ayala-Fierro, F., Firriolo, J.M., Carter, D.E. (1999) *J. Toxicol. Environ. Health* 56: 571-591
- [9] Beyersmann, D., Hartwig, A. (1992) *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 115: 137-145
- [10] Bucher, J.R., Hailey, J.r., Roycroft, J.R., Haseman, J.K., Sills, R.C., Grumbeim, S.L., Mellick, P.W., Chou, B.J. (1999) *Toxicological Science* 49: 56-67.
- [11] Bucher, J.R., Elwell, M.R., Thompson, M.B., Chou, B.J., Renne, R., Ragan, H.A. (1990) Inhalation Toxicity studies of cobalt sulfate in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 15: 357-372
- [12] Capomazza, C., Botta, A. (1991) *Med. Sci. Res.* 19: 219-220
- [13] Corrier, D.E., Mollenhauer, H.H., Clark, D.E., Hare, M.F., Elissalde, M.H. (1985) *Vet. Pathol.* 22: 610-616
- [14] Corrier, D.E., Rowe, L.D., Clark, D.E., Hare, M.F. (1986) *Vet Hum Toxicol* 28: 216-219
- [15] Costa, M., Heck, J.D., Robison, S.H. (1982) *Cancer Res.* 42: 2757-2763
- [16] De Boeck, M., Lison, D., Kirsch-Volders, M. (1998) *Carcinogenesis* 19: 2021-2029
- [17] Domingo, J.L., Paternain, J.L., Llobet, J.M., Corbella, J. (1985) *Revista Espanola di Fisiologia* 41: 293-298
- [18] Doran, A., Law, F.C., Allen, M.J., Rushton, N. (1998) *Biomaterials* 19: 751-759
- [19] Edel, J., Pozzi, G., Sabbioni, E., Pietra, R., & Devos, S. (1994) *Sci. Total Environ.* 150: 233-244
- [20] Einarsson, Eriksson, E., Linstedt, G., Wahlberg, J.E. (1979) *Contact Dermatitis* 5: 129-132
- [21] Farah, B. (1983) *Rev. Bras. Genet.* VI(3): 433-442
- [22] Gilman, J.P.W. (1962) *Cancer Res.* 22: 158-165
- [23] Gilman, J.P.W., Ruckerbauer, G.M. (1962) *Cancer Res.* 22: 152-157
- [24] Hamilton-Koch, W., Snyder, R.D., LaVelle, J.M. (1986) *Chem. Biol. Interact.* 59: 17-28

- [25] Hartwig, A., Kasten, U., Boakye-Dankwa, K., Schlepegrell, R., Beyersmann, D. (1990) *Toxicol. Environ. Chem.* 28: 205-215
- [26] Hartwig, A., Snyder, R.D., Schlepegrell, R., Beyersmann, D. (1991) *Mutat. Res.* 248: 177-185
- [27] Heath, J.C. (1954), *Nature* 173: 822-823.
- [28] Heath, J.C. (1956) *Brit. J. Cancer* 16: 668-673
- [29] Heath, J.C., Daniel, M.R. (1962) *Brit. J. Cancer* 16: 473-478
- [30] Hengstler, J.G., Reifenrath, M., Bolm-Audorff, U., Janssen, K., Götte, W., Jung, D., Fuchs, J., Gebhard, S., Bienfait, H.G., Hiltl, G., Faldum, A., Schlink, K., Dietrich, C., Faust, D., Epe, B., Oesch, F. (2000), im Druck
- [31] Hogstedt, C., & Alexandersson, R. (1990) *Arbete och Hälsa* 21: 1-26
- [32] IARC (1990) Cobalt and cobalt compounds, IARC Monographs 52: 363-472
- [33] Kasten, U., Mullenders, L.H.F., Hartwig, A. (1997) *Mutat. Res.* 383: 81-89
- [34] Kharab, P., Singh, I. (1987) *Indian J. Exp. Biol.* 25: 141-142
- [35] Kreyling, W.G., Ferron, G.A., Haider, B. (1986) *Health Physics* 51: 773-795
- [36] Kreyling, W.G., Godleski, J.J., Kariya, S.T., Rose, R.M., Brain, J.D. (1990) *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2: 413-422
- [37] Kreyling, W.G., Cox, C., Ferron, G.F., Oberdörster, G. (1993) *Exper. Lung Res.* 19: 445-467
- [38] Leonard, S., Gannett, P.M., Rojanasakul, Y., Schwegler-Berry, D., Castranova, V., Vallyatin, V., Shi, X. (1998) *J. Inorgan. Biochem.* 70: 239-244
- [39] Lison, D., Carbonelle, P., Mollo, L., Lauwerys, R., Fubini, B. (1995), *Chem. Res. Toxicol.* 8: 600-606
- [40] McLean, J.R., McWilliams, R.S., Kaplan, J.G., Birnboim, H.C. (1982) in: Bora, K.C. et al. (Eds.): *Progress in Mutation Research*, pp. 137-141, Elsevier, Amsterdam
- [41] Mitgard, U., Binderup, M.L. (1994), Cobalt and cobalt compounds. *Arbete och Hälsa* Vol. 39.
- [42] Mochizuki, H., Kada, T. (1982) *Mutat. Res.* 95: 145-157
- [43] Moulin, J.J., Wild, P., Mur, J.M., Fournier-Betz, M., Mercier-Gallay, M. (1993), *Am. J. Ind. Med.* 23: 281-288.
- [44] Moulin, J.J., Wild, P., Romazini, S., Lasfargues, G., Peltier, A., Bozec, C., Deguerry, P., Pellet, F., Perdrix, A. (1998), *Am. J. Epidemiol.* 148: 241-248.
- [45] Moulin, J.J., Clavel, T., Roy, D., Dananché, B., Marquis, N., Févotte, J., Fontana, J.M. (2000), *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 73: 171-180.
- [46] Mur, J.M., Moulin, J.J., Charruyer-Seinerra, M.P., Lafitte, J. (1987), *Am. J. Ind. Med.* 11: 75-81.
- [47] Nation, J.R., Bourgeois, A.E., Clark, D.E., Hare, M.F. (1983) *Neurobehav. Toxicol Teratol* 5: 9-15.

- [48] Nowak, H.F. (1961), Akad.Medycz. Jul. Marchl Bialymstoku 7: 323-348. Zitiert nach IARC (1990).
- [49] Nowak, H.F. (1966), Arch. Immun. Therap. Exp. 12: 774-778.
- [50] NTP (1998): Toxicology and Carcinogenesis Studies of Cobalt Sulfate Heptahydrate in F344/ rats and B6C3F1 mice (inhalation studies).NTP Technical Report 471, Research Triangle Park
- [51] Ogawa, H.I., Sakata, K., Inoue, T., Jyosui, S., Niyitani, Y., Kakimoto, K., Morishita, M., Tsuruta, S., Kato, Y. (1986) Mutat. Res. 172: 97-104
- [52] Ogawa, H.I., Ohyama, Y., Ohsumi, Y., Kakimoto, K., Kato, Y., Shirai, K., Nunoshiba, T., Yamamoto, K. (1999) Mutagenesis 14: 249-253
- [53] Palit, S., Sharma, A., Taludker, G. (1991) Biol. Trace Elem. Res. 29: 139-145
- [54] Paternain, J.L., Domingo, J.L. (1988) J. Toxicol. Environ. Health 24: 193-200
- [55] Paton, G.R., Allison, A.C. (1972) Mutation Res. 16: 332-336
- [56] Pedigo, N.G., George, W.J., Anderson, M.B. (1988) Reproductive Toxicology 2: 45-53
- [57] Pedigo, N.G., Vernon, M.W. (1993) Reproductive Toxicol. 7: 111-116
- [58] Prazmo, W., Sharma, A., Taludker, G. (1991) Biol. Trace Elem. Res. 29: 139-145
- [59] Robison, S.H., Cantoni, O., Costa, M. (1982) Carcinogenesis 3: 657-662
- [60] Rosenberg, D.W. (1993) Drug Metabolism Disposition 21: 846
- [61] Schulz, G. (1978) Staub - Reinhaltung der Luft 38: 480-481
- [62] Shabaan, A.A., Marks, V., Lancaster, M.C., Dufeu, G.N. (1977) Lab. Anim. 11: 43-46
- [63] Steinhoff, D., & Mohr, U. (1991) Exp. Pathol. 41:169-174
- [64] Stoner, G.D., Shimkin, M.B., Troxell, M.C., Thompson, T.L., Terry, L.S. (1976) Cancer Res. 36: 1744-1747
- [65] Suzuki, Y., Shimizu, H., Nagae, Y., Fukumoto, M., Okonogi, H., Kadokura, M. (1993) Environ. Molec. Mutagen. 22: 101-106
- [66] Svartengren et al. (1999) Persönliche Mitteilung
- [67] Tso, W.-W., Fung, W.-P., (1981) Toxicol. Lett. 8: 195-200
- [68] Tüchsen, F., Vensen, M.V., Villadsen, E., Lyngge, E. (1996), Scand. J. Work Environ. Health 22: 444-450.
- [69] Van den Broeke, L.T., Gräslund, A., Nilsson, J.L.G., Wahlberg, J., Scheynius, A., Karlberg, A.-T. (1998) Eur. J. Pharmaceut. Sci. 6: 279-286
- [70] Van Goethem, F., Lison, D., Kirsch-Volders, M. (1997) Mutat. Res. 392: 31-43
- [71] Voroshilin, S.I., Plotko, E.G., Fink, T.V., Nikiforova, V.Y. (1978) Tsitol. Genet. 12: 241-243
- [72] Wegner, R., Felixberger, F.X., Poschadel, B., Szadkowski, D. (1986) in: Florian, H.-J., Jansen, K., Metzner, F. (Hrsg.) Tagungsbericht 1986, Verband Deutscher Betriebs- und Werksärzte e.V., Gentner Verlag, Stuttgart, S.149-155

- [73] Wehner, A.P., Busch, R.H., Olson, R.J., Craig, D.K. (1977) Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 38: 338-348
- [74] Wide, M. (1984) Environ. Res. 33. 47-53 Wong,P.K. (1988) Bull. Environ. Contamin. Toxicol. 40: 597-603.

Stand: Mai 2001