

Aus dem Institut für Physiologie

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann

**Erythropoietischer Effekt und Risiken
für Athleten
beim Missbrauch von Cobalt als Dopingmittel**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

an der Universität zu Lübeck

- Sektion Medizin -

vorgelegt von

Bastian Ebert

geboren in Würzburg

Lübeck 2014

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Carsten Boos

Tag der mündlichen Prüfung: 01.12.2014

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 01.12.2014

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	VI
-----------------------------------	-----------

1 Einleitung.....	1
1.1 Doping.....	1
1.1.1 Einführung.....	1
1.1.2 Blutdoping.....	2
1.1.3 Erythropoietin (EPO).....	4
1.2 Cobalt.....	6
1.2.1 Einführung.....	6
1.2.2 Cobaltaufnahme.....	6
1.2.3 Cobaltausscheidung.....	8
1.2.4 Bestimmung von Cobalt im Serum.....	9
1.3 Ziel der Arbeit.....	10
 2 Methoden.....	 11
 3 Ergebnisse.....	 13
3.1 Toxizität von Cobalt.....	13
3.1.1 Pulmonale Effekte.....	13
3.1.2 Dermale Effekte.....	14
3.1.3 Myokardiale Effekte.....	15
3.1.4 Endokrine Effekte.....	16
3.1.5 Neuronale Effekte.....	17

3.1.6 Chronische Höhenkrankheit.....	18
3.1.7 Genotoxizität.....	19
3.1.7.1 Genotoxizität von Cobalt in vitro.....	19
3.1.7.2 Genotoxizität von Cobalt in Tierstudien.....	21
3.1.7.3 Genotoxizität von Cobalt in klinischen Studien.....	22
3.1.8 Karzinogene Effekte.....	23
3.1.9 Mechanismus der Cobaltoxizität.....	23
3.2 Cobalt in der Erythropoiese.....	25
3.2.1 Einführung.....	25
3.2.2 Mechanismus der Hypoxie induzierbaren Transkriptionsfaktoren (HIF).....	25
3.2.3 Induktion von HIF durch Cobalt.....	27
3.3 Therapeutischer Einsatz von Cobalt zur Stimulation der Erythropoiese.....	29
3.3.1 Studien zu der Cobalttherapie.....	29
3.3.1.1 Tierstudien.....	29
3.3.1.2 Klinische Studien.....	37
3.3.1.3 Zusammenfassung der klinischen Studien.....	49
3.3.2 Nebenwirkungen bei der Cobalttherapie.....	50
4. Diskussion.....	56
4.1 Kann Cobalt als Dopingmittel missbraucht werden?.....	56
4.2 Folgen von Cobaltmissbrauch als Dopingmittel.....	57
4.3 Sollte Cobalt in die WADA-Antidopingliste aufgenommen werden?.....	58
4.4 Detektion von Cobaltmissbrauch.....	58

5. Zusammenfassung.....	60
6. Literaturverzeichnis.....	61
7. Danksagung.....	78
8. Lebenslauf.....	79
9. Veröffentlichung.....	80
10. Erklärung.....	81

Abkürzungsverzeichnis

Asn	Asparagin
BK	Berufskrankheit
Co	Cobalt
CoCl ₂	Cobaltchlorid
CoSO ₄	Cobaltsulfat
Cr	Chrom
CREP	cAMP response binding protein
d	Tag
dl	Deziliter
Da	Dalton
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EPO	Erythropoietin
Fe ²⁺	Eisen
FIH	factor-inhibiting HIF
GLUT	transmembranärer Glucosetransporter
GSH	reduziertes Glutathion
GSSG	oxidiertes Glutathion
h	Stunde(n)
HIF	hypoxia-inducible factor
HRE	hypoxia responsive element
IARC	International Agency for Research on Cancer
IE	internationale Einheit

iNOS	induzierbare NO-Synthase
IOC	internationales olympisches Komitee
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂	Sauerstoff
PNS	peripheres Nervensystem
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
Pro	Prolin
pVHL	von-Hippel-Lindau-Protein
rhEPO	rekombinantes humanes Erythropoietin
ROS	reactive oxygen species
TAD	Transaktivierungsdomäne
TRK-Wert	technischer Richtkonzentration-Wert
UCI	internationaler Radsportverband
VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
WADA	World Anti-Doping Agency
ZNS	zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1 Doping

1.1.1 Einführung

Spitzensport ist seit jeher ein Thema, das auf großes mediales Interesse stößt. Im Zusammenhang mit der Berichterstattung rund um den Spitzensport wird man häufig mit einem Wort konfrontiert: Doping. Doch was bedeutet dieses Wort überhaupt? Das Wort „Doping“ stammt aus dem Englischen, sein etymologischer Ursprung liegt allerdings im Afrikaans, einer vom Niederländischen abgeleiteten Sprache in Südafrika: Bei Dorfzeremonien der Einheimischen wurde ein schwerer Schnaps, das so genannte „Dop“, getrunken – das Wort wurde übernommen und als die generelle Bezeichnung für Getränke mit stimulierender Wirkung verwendet (1). Aus dem Afrikaans fand das Wort seinen Weg ins Englische. Der Begriff tauchte 1889 zum ersten Mal in einem englischen Lexikon auf und bezeichnete einen Trunk, der aus Narkotika und Opium bestand, zur damaligen Zeit wurde er Pferden bei Pferderennen verabreicht (1). Heute hat sich der Begriff „Doping“ für die Beschreibung der unlauteren Verbesserung der Leistungsfähigkeit durch dem Körper zugeführte, verbotene Substanzen im Sport erweitert (2).

Schon bei den olympischen Spielen der Antike im Jahr 668 vor Christi Geburt wurde der Gewinner des 200 m Sprints verdächtigt, eine spezielle Diät von getrockneten Feigen zu sich genommen zu haben, um seine Leistungsfähigkeit zu steigern (3).

Anfang des 20. Jahrhunderts wurden dann Substanzen wie Kokain, Morphin, Strychnin und Koffein als „Dopingmittel“ bezeichnet. Mit der Erfindung synthetisch hergestellter Hormone in den 30er Jahren des 20. Jahrhunderts hielt medikamentöses Doping Einzug in den Sport. Der Tod des englischen Radrennfahrers Tom Simpson bei der Tour de France 1967 veranlasste die internationalen Sportverbände, wie das internationale olympische Komitee (IOC) und den internationalen Radsportverband (UCI), Anti-Doping-Regeln aufzustellen

(4). Diese unterliegen seither ständiger Anpassung und Veränderungen. Die ersten Dopingkontrollen bei Olympischen Spielen wurden 1968 während der Winterspiele in Grenoble und der Sommerspiele in Mexiko durchgeführt. Schließlich wurde die World Anti-Doping Agency (WADA) 1999 als Ergebnis einer vom IOC initiierten Welt-Anti-Doping-Konferenz mit dem Ziel gegründet, die Anti-Doping-Programme auf internationaler und nationaler Ebene in Hinsicht auf die Aufdeckung, Abschreckung und Verhinderung von Doping zu harmonisieren und zu koordinieren (5). Dass in der gegenwertigen Zeit die Verwendung von Dopingmitteln bei Weltklasseathleten nicht zurückgegangen, sondern populärer denn je ist, kann man täglich in den Medien verfolgen. Dadurch entwickelt sich ein regelrechtes „Katz- und Mausspiel“ zwischen Sportlern und Dopingfahndern: Auf der einen Seite stehen die Sportler und ihre Suche nach nicht nachweisbaren, beziehungsweise legalen leistungssteigernden Mitteln und Methoden, auf der anderen Seite die Dopingfahnder, die mit technischen Analysen der Athletenproben versuchen, die Dopingsünder aufzudecken. Dabei kommt es nach jeder neu entwickelten Methode zum Nachweis von Dopingsubstanzen durch die Wissenschaftler zur Anwendung von neuen, noch schwerer nachweisbaren, leistungssteigernden Mitteln durch die Sportler (6). Bei einer Umfrage unter zahlreichen Olympiakandidaten sagten 98% der Befragten, dass sie eine verbotene Substanz einnehmen würden, wenn diese absolut nicht nachweisbar wäre und den Sieg garantieren würde. Immerhin noch über 50% würden diese Substanz einnehmen, wenn es ihnen für fünf Jahre das Siegen garantieren würde, sie danach jedoch sterben müssten (7). Diese erschreckend hohe Zahl zeigt deutlich, dass unter dem eigenen Ehrgeiz und dem durch die Medien und Sponsoren hervorgerufenen Druck kein Mittel zur Leistungssteigerung ausgelassen werden wird, um Siege, Bestzeiten, Geld und Ruhm zu erlangen.

1.1.2 Blutdoping

Sauerstoff ist für uns Menschen lebensnotwendig und der Körper hat einen

komplexen Mechanismus entwickelt, um den in den Lungen aufgenommenen Sauerstoff über das Blutsystem zu dem Gewebe zu transportieren, in dem er benötigt wird (zum Beispiel: Muskeln und Gehirn). Das Hämoglobin in den Erythrozyten ist dabei das entscheidende Sauerstofftransportmittel. Die Masse der Erythrozyten korreliert eng mit dem benötigten Sauerstoffbedarf. Der zur Verfügung stehende Sauerstoff spielt eine entscheidende Rolle für das Leistungsvermögen der Athleten. Substanzen, welche die verfügbare Sauerstoffmenge für das Gewebe erhöhen, vergrößern unser aerobes Leistungsvermögen. Schon seit langem werden von Sportwissenschaftlern und Trainern erlaubte und verbotene Methoden angewandt, um die Sauerstoffverfügbarkeit im Körper zu steigern. Zu den erlaubten Methoden zählt das Training in großen Höhen und zu den verbotenen Methoden die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten. Ein neuer Durchbruch im Bezug auf das Blutdoping entstand mit der Entdeckung des Erythropoiese steigernden Hormons „Erythropoietin“ (EPO). Das daraufhin in der Medizin für die Anämiebehandlung von Patienten produzierte und angewandte „rekombinante humane EPO“ (rhEPO) wurde bald auch von Sportlern zur Leistungssteigerung missbraucht. Erste Berichte von rhEPO-Missbrauch als Dopingmittel bestehen seit den olympischen Winterspielen in Calgary 1988, gefolgt von nicht vollständig geklärten Vorwürfen über den Tod holländischer Radrennfahrer im Zusammenhang mit unsachgemäß verwendetem rhEPO im Jahr 1989 (8).

Die World Anti-Doping Agency (WADA) definiert Blutdoping als den Missbrauch bestimmter Techniken und/oder Substanzen, um die Gesamtmasse der roten Blutzellen zu erhöhen, sodass eine Vergrößerung der O₂-Kapazität und damit der körperlichen Leistungsfähigkeit erzielt wird (5). Demnach umfasst Blutdoping (i) die Transfusion von Eigen- oder Fremdblutkomponenten, (ii) die Verabreichung von Erythropoiese stimulierenden Agenzien und (iii) unerlaubte Manipulationen, die die Synthese des Hormons Erythropoietin im Körper steigern. Die durch diesen Missbrauch herbeigeführten Effekte bringen vor allem Vorteile in

Ausdauersportarten wie Langstreckenlauf, Radrennfahren und Skilanglauf, bei denen der Körper auf den aeroben Stoffwechsel angewiesen ist. Dabei ist die artifizielle Vermehrung der roten Blutzellen gesundheitsgefährdend. Mit der Zunahme des Hämatokrit steigen die Blutviskosität und der periphere Strömungswiderstand („cardiac afterload“) an. Es besteht die Gefahr von Mikrozirkulationsstörungen, außerdem ist das Risiko für das Auftreten einer Thrombose erhöht (9).

1.1.3 Erythropoietin (EPO)

Paul Carnot stellte 1906 erstmals die Hypothese auf, dass ein menschliches Hormon die Blutbildung regeln müsse (10). Im Jahr 1948 gaben die beiden finnischen Nephrologinnen Eva Bonsdorff und Eeva Jalavisto diesem Hormon den Namen Erythropoietin (11). Fünf Jahre später veröffentlichte Allan Jacob Erslev die ersten Publikationen, in denen die Existenz von EPO indirekt belegt werden konnte. Er injizierte das Serum von anämischen Kaninchen in das Blutsystem von gesunden Artgenossen und konnte folglich einen Retikulozytenanstieg feststellen (12). Die Isolation von EPO aus dem menschlichem Urin gelang zum ersten Mal der Arbeitsgruppe um Goldwasser im Jahr 1977 (13).

Menschliches EPO ist ein Glykoprotein mit einer Molekularmasse von etwa 30,4 kDa. EPO wird bei erniedrigtem Sauerstoffgehalt des Blutes zu 90% von den peritubulären interstitiellen Zellen der Niere und zu etwa 10% von den Hepatozyten der Leber synthetisiert. Von hier aus gelangt EPO in das Knochenmark und fördert dort die Bildung, Proliferation, Differenzierung und Überlebensdauer der Vorläuferzellen der roten Blutkörperchen als Antwort auf einen verminderten Sauerstoffgehalt im Blut (14). Durch die hierdurch erhöhte Erythrozytenzahl und den damit verbundenen Hämoglobinanstieg kann vermehrt Sauerstoff aus den Lungen über die Blutbahnen in das Gewebe transportiert werden.

Von Fu-Kuen Lin wurde 1984 das humane EPO-Gen entschlüsselt (15). Durch die Klonierung und die Expression von rhEPO wurde kurze Zeit später die technische Produktion von geeigneten Mengen ermöglicht. Dies war sozusagen der Startschuss für den missbräuchlichen Einsatz von rekombinantem EPO zur Leistungssteigerung im Spitzensport. Seit 1990 werden EPO und in der Folge auch seine Derivate auf der Verbotsliste der WADA geführt.

Da die Feinstruktur der Glykane von EPO-Molekülen verschiedener Spezies unterschiedlich ist, ergibt dies eine Mikroheterogenität bei der isoelektrischen Fokussierung. So können körpereigene von körperfremden EPO-Molekülen unterschieden werden. Dadurch gelingt der direkte Nachweis von Blutdoping mit rhEPO und seinen Analoga im Urin und teilweise auch im Blut (9). Es muss deshalb angenommen werden, dass Sportler andere Wege des Blut dopings suchen, um unentdeckt zu bleiben.

Es gibt zahlreiche Gene, die für das Leistungsvermögen des Athleten relevant sind (16). Die molekularen Mechanismen der EPO-Produktion ermöglichen es, mit pharmakologischen Wirkstoffen die körpereigene EPO-Synthese zu steigern (17).

Die EPO-Genexpression wird durch die sogenannten „Hypoxie induzierten Transkriptionsfaktoren“ (HIF-1 und HIF-2) angeregt, welche an EPO-„Enhancer“-Elemente binden (18).

Stabilisatoren der Hypoxie induzierten Transkriptionsfaktoren sind attraktive Substanzen für Dopingsünder, da sie die körpereigene EPO-Genexpression zur Folge haben und nur schwer nachweisbar sind. Zu den Stabilisatoren der HIF wird auch Cobalt gerechnet.

1.2 Cobalt

1.2.1 Einführung

Cobalt ist ein relativ seltenes, magnetisches, stahlgraues Schwermetall aus der Gruppe VIII des Periodensystems der Elemente. Es hat ein Molekulargewicht von 58,9 und die Atomnummer 27. Seine beiden Valenzen sind das zweiwertige und das dreiwertige Cobalt (+2, +3). Co(III) ist das zentrale Atom von Cobalamin (Vitamin B₁₂) (19). Es ist zu beachten, dass der Wirkmechanismus und die Aufnahme in den menschlichen Organismus vom organischen Cobalamin und dem anorganischen Cobalt komplett unterschiedlich sind (20). Daneben kommt Cobalt als stabiles Oxid-, Sulfat-, Carbonat-, Chlorid- und Acetatsalz vor. In der Natur existiert Cobalt hauptsächlich als Arsenid, Oxid und Sulfid. Es wird gewöhnlich in der Erdkruste zusammen mit Kupfer-, Nickel- und Silbererzen in einer Konzentration von unter 1% gefunden. Der Großteil der Cobaltgewinnung stammt aus Nebenprodukten des Kupfer- und Nickelabbaus (21).

Der Gebrauch von Cobaltkomponenten hat eine lange Historie. Schon seit Jahrtausenden wird Cobalt als Blaufärbemittel in der Keramik- und Glasherstellung verwendet. Man fand heraus, dass Cobalt für die Färbung von ägyptischen Tongefäßen 2600 Jahre vor Christus und persischen Glasperlen im Jahr 2250 vor Christus benutzt wurde (22).

Für die Herstellung von „Hartmetallen“ wird Cobalt als Bindematerial benötigt. In der Metallindustrie kommt es unter anderem in verschiedenen Stahllegierungen vor. So wird Cobalt häufig als Bestandteil von Endoprothesen (Co-Cr Legierung) und Osteosynthesematerialien verwendet und somit als medizinisches Produkt in den menschlichen Knochen implantiert.

2.1.2 Cobaltaufnahme

Cobalt wird mit der Nahrung aufgenommen, die durchschnittliche tägliche Zufuhr beträgt etwa 7,5 µg Cobalt pro Tag (23). Das niederländische nationale Institut für

Gesundheit hat beim Menschen eine tolerable tägliche Zufuhr von 1,4 µg/kg (Körpergewicht) Cobalt festgestellt (24). Studien über die Absorption von Cobalt(II)-Chlorid bei Probanden haben ergeben, dass bei oraler Zufuhr von Dosen zwischen 1 µg und 1,2 mg Cobalt im Gastrointestinaltrakt 5 bis 20% absorbiert werden (25). Die Cobaltkonzentration in Nahrungsmitteln ist bei Schokolade und Krustentieren am höchsten, in zahlreichen anderen Nahrungsmitteln kommt Cobalt ebenfalls vor (siehe Tabelle 1) (26). Die Aufnahme von Cobalt im Darm ist abhängig von der Höhe seiner Konzentration, der Größe des Darmlumens, sowie dem Konzentrationsverhältnis zwischen Eisen und Cobalt und der Auslastung der Eisenspeicher im Körper. Eisen und Cobalt inhibieren sich gegenseitig bei der Absorption im Duodenum (27); sind jedoch die Eisenspeicher im Körper leer, wird sowohl Eisen als auch Cobalt vermehrt aufgenommen (28). Nach der Absorption bindet Cobalt im Serum zum größten Teil an Albumin (29). Die Konzentration von freiem ionisiertem Cobalt (Co^{2+}) beträgt lediglich 5 bis 12 % der gesamten Cobaltkonzentration im Serum (30). In einer Cross-over-Studie an Freiwilligen wurde gezeigt, dass die Cobalturinkonzentration nach Cobalt(II)-Chlorid-Gabe bei Frauen (Median, 109,7 nmol/mmol Kreatinin) signifikant höher als bei Männern ist (Median, 38,4 nmol/mmol Kreatinin). Man vermutet, dass die gastro-intestinale Aufnahme von Cobalt bei Frauen wesentlich höher als bei Männern ist (31).

Cobalt wird im Körper in zahlreichen Organen gespeichert. Die Organe mit den höchsten Cobaltkonzentrationen sind die Leber, die Nieren und die Milz (32). Etwa 43% des im Körper aufgenommenen Cobalts werden im Skelettmuskel gespeichert (33). Der relative Gehalt von Cobalt im Skelettknochen und Skelettmuskel steigt nach Cobaltgabe an (34).

Tabelle 1: Cobaltkonzentrationen in Nahrungsmittel

Nahrungsmittel	Cobalt-Konzentration (mg/kg)
Schokolade	0,050
Krustentiere	0,048
getrocknete Früchte und Nüsse	0,041
Innereien	0,033
Zucker und seine Derivate	0,021
Käse	0,018
Butter	0,018
Öl	0,018
Reis	0,010
Früchte	0,009
Fleisch	0,008
Müsli	0,008
Hülsenfrüchte	0,008
Fisch	0,007
Brot	0,006
Suppen	0,006
Gemüse	0,006
Eier	0,005
Milch	0,001

(Le Blanc et al., 2004) (23)

2.1.3 Cobaltausscheidung

Cobalt, welches entweder nach oraler Zufuhr im Gastrointestinal-Trakt absorbiert oder parenteral aufgenommen wurde, wird hauptsächlich über den Urin und in geringen Mengen über den Stuhl ausgeschieden. Nach Cobaltaufnahme nimmt sowohl die Cobaltserumkonzentration, als auch die Cobaltausscheidung über den Urin zu (35).

Die renale Cobaltausscheidung ist typischerweise triphasisch, sie beginnt schnell, nimmt dann in einer zweiten Phase, die sich über einige Wochen hinzieht, deutlich ab und endet in einer, über einige Jahre dauernde, Langzeitphase. Eine Studie zur

Cobaltretention nach intravenöser Gabe von anorganischem Cobalt bei männlichen Erwachsenen ergab folgendes Ergebnis: Während der ersten 24 h wurde 40% des verabreichten Cobalts ausgeschieden, nach einer Woche stieg die Ausscheidung auf 70% an, nach einem Monat verblieben 20% und nach einem Jahr 10% im Körper (25).

2.1.4 Bestimmung von Cobalt im Serum

Die Cobaltkonzentration im menschlichen Blutserum wird heute bevorzugt mit dem Verfahren der Graphitrohr-Atomabsorptionsspektrophotometrie (GF-AAS) bestimmt, da für dieses Verfahren kein weiterer Aufschluss der Proben notwendig ist (36). Die Ergebnisse bei der Cobaltmessung von Körperflüssigkeiten befinden sich bei diesem Verfahren im Bereich der Nachweisgrenze, deshalb ist der Anspruch an die Qualität der Proben besonders hoch. So sollte möglichst kontaminations- und verlustfrei von der Entnahme über den Transport bis hin zur Messung der Proben gearbeitet werden. Ebenso ist die Qualität der Nachweisapparatur von großer Bedeutung (36). Laut Angaben aus der Literatur liegt die normale Cobaltkonzentration im Serum des Menschen bei 0,1-0,5 µg/l und im Urin unter 2 µg/l (37).

1.3 Ziel der Arbeit

Cobalt kann als Stabilisator der Hypoxie induzierten Faktoren die Gen-Expression von EPO erhöhen und damit zu einer Steigerung der Erythropoiese führen. Bereits vor vielen Jahrzehnten wurde Cobalt(II)-Chlorid zur Anämiebehandlung in der klinischen Medizin eingesetzt. Die Studien aus dieser Zeit sind größtenteils in Vergessenheit geraten und in keiner Arbeit umfassend dargestellt worden.

Ziel dieser Arbeit ist es, die vorhandenen Cobaltstudien aufzuarbeiten und so die Nebenwirkungen des Cobalts und seiner Verbindungen bei ihrer pharmakologischen Anwendung anhand einer umfassenden Literaturrecherche aufzuzeigen.

Daneben wird die Wirkung des Cobalts auf die Stimulation der Erythropoiese aufgezeigt. Diese beiden Aspekte des Cobalts - Toxizität und Induktor der Erythropoiese - sollen in Zusammenhang gebracht werden, um so sein leistungssteigerndes Potential bei missbräuchlicher Anwendung als Blutdopingmittel bei Athleten im Spitzensport, wie im Amateursport darzustellen und auf die mit der Einnahme verbundenen Gefahren hinzuweisen.

Letztendlich wird anhand der aufgearbeiteten Informationen diskutiert, ob Cobalt in die WADA (World Anti-Doping Agency) Verbotsliste aufgenommen werden sollte und anhand welcher Methodik es möglich sein könnte, das von Sportlern missbräuchlich zugeführte Cobalt nachzuweisen.

2. Methoden

Zentrale Methodik dieser Arbeit ist die Literaturrecherche und Auswertung sowie Vergleich der vorhandenen Studien. Es wurde eine selektive Literaturrecherche in folgenden Datenbanken durchgeführt: MEDLINE (National Library of Medicine (NLM), Bethesda/USA), Springer-Verlagsdatenbank (Springer-Verlag GmbH & Co KG, Heidelberg, Deutschland), Thieme Verlagsdatenbank (Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Deutschland), Wiley online library (Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA) und XToxline (NLM, Bethesda/USA). Als Suchbegriffe wurden „doping“, „blood-doping“, „cobaltchloride“, „cobalt“, „erythropoiesis“, „epo“, „erythropoietin“, „anaemia“, „side-effects“, „improvement in performance“, „hif“ und „treatment“ verwendet. Publierte Literatur bis einschließlich November 2012 wurde berücksichtigt.

Eingeschlossen wurden alle Studien, Fallberichte und Reviews, die mit dem Thema dieser Arbeit in Zusammenhang stehen. Als erstes wurden aus diesem Literaturpool relevante Studien und Fallberichte zur allgemeinen Wirkung und Toxizität von Cobalt identifiziert, zusammengefasst und miteinander in Verbindung gebracht, um letztendlich dem Anspruch einer umfassenden Darstellung seiner Wirkungen und Nebenwirkungen gerecht zu werden. Nachfolgend wurde schließlich ein allgemeines Toxizitätsprofil von Cobalt erstellt. Ebenso wurde die Rolle und der Mechanismus von Cobalt bei der Induktion der Erythropoiese ausgiebig durchleuchtet und der aktuelle Stand der Wissenschaft diesbezüglich dargestellt. Daraufhin wurden speziell die vorhandenen, zum Teil historischen Tier- und Menschenstudien zum therapeutischen Einsatz von Cobalt bei der Anämiebehandlung studiert. Hierdurch sollen mögliche Wirkungen und Nebenwirkungen beim Missbrauch von Cobalt als Dopingmittel abgeschätzt werden. Zusätzlich wurde Wert auf die Darstellung und Zusammenfassung der Einnahmedauer, -dosis und -form aus den verschiedenen Cobalttherapie-Studien gelegt.

Um letztendlich auch Aussagen über die Möglichkeiten der Detektion von Cobalt im menschlichen Körper zu treffen, wurden auch pharmakokinetische Studien

bezüglich der Resorption, der Speicherung und der Ausscheidung von Cobalt im Organismus zusammengefasst und dargelegt. Schließlich wurden die gesammelten Informationen mit der Fragestellung nach der Möglichkeit der missbräuchlichen Verwendung von Cobalt als Dopingmittel in Zusammenhang gebracht und bewertet, um neue, relevante Aussagen zu dieser Fragestellung zu treffen. Diese Aussagen wurden schließlich objektiv hinterfragt und diskutiert.

3. Ergebnisse

3.1 Toxikologie von Cobalt

Die Aufnahme von Cobalt und seinen Verbindungen in den menschlichen Körper kann auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen (oral, dermal, inhalativ, intravenös, subcutan). Je nach Aufnahmeart sind die möglichen toxischen Effekte des Cobalts und die von der Toxizität betroffenen Organsysteme verschieden. Außerdem entscheidend für die möglichen toxischen Nebenwirkungen des Cobalts sind die Expositionsdauer und die quantitative Menge der Cobaltaufnahme. Dabei ist zu unterscheiden, ob metallisches Cobalt oder Cobaltsalze wie Cobalt(II)-Chlorid Auslöser der entstehenden Nebenwirkung sind.

3.1.1 Pulmonale Effekte

Vor allem Arbeiter in der Hartmetallindustrie sind durch die inhalative Aufnahme von Cobaltstaubpartikeln aus der Atemluft am Arbeitsplatz einer hohen Cobaltexposition ausgesetzt. Akut kann es durch die inhalative Aufnahme der mit Cobaltpartikeln versetzten Atemluft zu Reizzuständen des bronchioalveolären Systems kommen, welche wiederum zu Pharyngitis, Tracheitis oder Bronchitis führen können.

Bei einer Cobaltexposition zwischen $10\text{-}150\text{ }\mu\text{g Co/m}^3$ in der Atemluft wird von unterschiedlich langen Phasen asthmatischer Zustände berichtet (38). Den Begriff Hartmetallasthma haben Scherrer und Maillard (39) eingeführt, um das häufig auftretende Asthma bei mit Hartmetallstäuben exponierten Industriearbeitern zu beschreiben. Dabei wurde festgestellt, dass der Cobaltanteil im Hartmetallstaub ursächlicher Faktor des Asthmas ist (39). Dieser löst eine allergische Reaktion vom Typ I aus. Sie basiert auf einer spezifischen IgE Antikörperreaktion gegen Cobalt-Albuminkomplexe (40). Die Inzidenz von Hartmetallasthma steigt mit der Zunahme der Expositionsmenge des Cobalts (41). Eine epidemiologische Studie von Hartmetallarbeitern hat ergeben, dass das Alter sowie die Veranlagung zu Allergien Risikofaktoren für das Auftreten des Hartmetallasthmas sind (42).

Außerdem kann die arbeitsbedingte Exposition mit Cobaltstäuben zu einer Hartmetall-Lunge führen. Dabei handelt es sich um eine schwere Form der Lungenfibrose, die durch das Einatmen von metallischen Stäuben, Dämpfen und Rauchen entsteht, welche sich bei der Sinterung sowie beim Gießen von Hartmetallen entwickelt. Cobalt als allergisierendes und zytotoxisches Metall hat bei der Krankheitsentstehung der Hartmetall-Lunge eine besondere Bedeutung. Das Risiko einer pulmonalen Fibrose bei Hartmetallarbeitern steigt signifikant an, wenn sich in der Arbeitsplatzatmosphäre eine Cobaltkonzentration über $100 \mu\text{g Co}/\text{m}^3$ befindet (43).

Der TRK-Wert (technischer Richtkonzentration-Wert) für Cobalt in der Atemluft beträgt bei der Herstellung von Cobaltpulvern, Katalysatoren, Hartmetallen und Magneten $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (berechnet als Co im Gesamtstaub), im Übrigen $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (berechnet als Co im Gesamtstaub) (44).

3.1.2 Dermale Effekte

Cobalt ist neben Nickel und Chrom einer der drei häufigsten Auslöser für eine durch Metalle ausgelöste Kontakt-Dermatitis. Diese macht sich durch erythematöse Papeln auf der, mit dem Allergen in Kontakt gekommenen Haut, bemerkbar. Da die Hände von Hartmetallarbeitern häufig mit den feinen Metallstäuben in Berührung kommen, bilden sich bei ihnen die Dermatiden am häufigsten an den Händen aus (36).

Fischer und Rystedt berichteten, dass die Prävalenz von Handekzemen und Reizreaktionen an den Händen in einer Gruppe von 776 Arbeitern aus der Hartmetallindustrie 10% - 15% betrug (45).

Als Bestandteil von Stahllegierungen (Co-Cr Legierung) wird Cobalt für Endoprothesen und Osteosynthesematerialien verwendet. Werden diese Materialien in die Knochen von Patienten implantiert, stehen die Implantate und somit auch seine Cobaltbestandteile im direkten Kontakt mit dem menschlichen Organismus. Bei den medizinischen Implantaten kann es aufgrund von

mechanischen und biologischen Prozessen zu Metallabrieb und Korrosionen kommen. Dadurch gelangen die Cobaltpartikel und ionisiertes Cobalt direkt in das umliegende Gewebe und können sich über das Blutsystem und die Lymphbahnen in den gesamten Organismus des Patienten ausbreiten. Als potentiell allergen besteht die Gefahr, dass Cobalt so Allergien und inflammatorische Prozesse am Patienten auslösen kann. Außerdem können Metallallergien zu Wundheilungsstörungen, Frakturheilungskomplikationen und Ekzemen führen (46). Deshalb wird bei Patienten mit bekannter Metallallergie zu Titanimplantaten geraten und von Metall-Metallgleitpaarungen abgeraten.

Einzig Nickel ist ein noch häufigeres metallisches Kontaktallergen bei endoprothetisch versorgten Patienten (47). Cobaltallergien können mit Hilfe eines Epicutan-Tests diagnostiziert werden, das Ergebnis ist jedoch nur teilweise auf das periimplantäre Gewebe übertragbar (46).

3.1.3 Myokardiale Effekte

Die in den sechziger Jahren des 20. Jahrhunderts in Kanada, den USA und Belgien bei Biertrinkern beobachtete und als „beer drinker's cardiomyopathy syndrome“ bezeichnete Erkrankung beschreibt das Auftreten von Kardiomyopathien bei Konsumenten von mit Cobalt versetztem Bier. Bei diesem Syndrom treten charakteristischerweise Kardiomegalie, galoppierender Herzrhythmus, Zyanose, geringer kardialer Auswurf, perikardialer Erguss und Hypotension auf (48). Aus Quebec/Kanada wurde von 48 Fällen berichtet, von denen 20 tödlich verliefen, und aus Omaha/USA von 64 Fällen, darunter 30 mit einem letalen Ausgang (49). Bei dem konsumierten Bier verwendeten lokale Brauereien Cobalt(II)-Chlorid als Zusatzstoff (1 – 1,5 mg Cobalt(II)-Chlorid / l Bier), um den Effekt von Seifenrückständen aus elektrischen Spülmaschinen auf die Schaumformation des Bieres zu vermindern. Die Erkrankung trat bei Personen auf, die täglich mehrere Liter von dem mit Cobalt versetzten Bier konsumierten (50, 51). Einen Monat nachdem der Zusatz von Cobalt in Bier verboten wurde, wurde von keiner weiteren „beer drinker's cardiomyopathy syndrome“ Erkrankung

berichtet.

Ebenso fielen gehäuft bei berufsbedingter Cobaltexposition, teilweise kombiniert mit Alkoholkonsum, Kardiomyopathien auf. Auch bei Hartmetallarbeitern trat nach inhalativer Aufnahme von Cobalt in Konzentrationen von über 100 µg Co/m³ Atemluft bei unterschiedlicher Cobaltexpositionsdauer diese Erkrankung auf (52).

Mohiuddin et al. (53) führten eine Tiermodellstudie durch, um die Cobalt induzierte Kardiomyopathie genauer zu untersuchen. Die Autoren verabreichten Meerschweinchen täglich 20 mg Cobalt pro kg Körpergewicht. Bei den Tieren wurden die gleichen perikardialen, endokardialen und myokardialen Läsionen wie bei den Biertrinkern aus Quebec festgestellt. Diese Symptome traten nach zwei- bis dreiwöchiger Cobaltgabe auf. Die zusätzliche Gabe von zwei Gramm Ethanol hatte keinen Einfluss auf die Erkrankung (53).

3.1.4 Endokrine Effekte

Bei einigen Patienten, die aufgrund von Anämien mit Cobalt(II)-Chlorid therapiert wurden, sowie bei Konsumenten von mit Cobalt versetztem Bier und bei Arbeitern, die am Arbeitsplatz Cobaltstäuben ausgesetzt waren, wurde festgestellt, dass Cobalt die Schilddrüsenfunktion vermindert (54, 55, 56). Die Hypothese ist, dass Cobalt(II)-Chlorid die Tyrosiniodinase inhibiert, wodurch zu wenig Thyroxin produziert werden kann. Wegen der erniedrigten Thyroxinwerte im Blut wird regulatorisch die Ausschüttung vom „Thyreoida stimulierenden Hormon“ (TSH) aus der Hypophyse gesteigert, welches zu einer Schilddrüsenhyperplasie (Struma) führt.

Eine Studie von Lantin et al. (57) untersuchte den Einfluss der Cobaltexposition am Arbeitsplatz auf die Schilddrüsenfunktion und die roten Blutkörperchen bei 259 belgischen Arbeitern. Dabei stellten die Autoren fest, dass bei der Einhaltung des biologischen Grenzwertes von unter 15 µg Co/g (Kreatinin) im Urin keine Veränderungen der Schilddrüse bei den Arbeitern zu erkennen waren.

3.1.5 Neuronale Effekte

In Bezug auf den Einfluss von Cobalt auf das Sehvermögen gibt es mehrere in der Literatur beschriebene Fallberichte.

Die Endoklinik in Hamburg berichtete über einen Fall (58), bei dem es nach der Revision einer Hüftendoprothese des Patienten zu einem massiven Metallpartikelabrieb (Metallose) im künstlichen Gelenk kam. Die Folgen waren nicht nur der Funktionsverlust der Endoprothese, sondern auch eine Visusverschlechterung, eine Hörminderung, Dysästhesien an den Füßen und ein papulöses Exanthem, welche beim Patienten zwei Jahre nach der Revision auftraten. Die Visusverschlechterung konnte auf eine Retinopathie und eine Atrophie des Nervus opticus zurückgeführt werden. Zum Zeitpunkt dieser neuronalen Störungen war die Cobaltserumkonzentration ($389 \mu\text{g/l}$) des Patienten gegenüber dem Normwert ($< 0,5 \mu\text{g/l}$) um mehr als das 700 fache erhöht (58).

Ebenso schilderten Licht et al. (59) in ihrem Fallbericht von einer Nervus opticus Atrophie bei einem 32-jährigen Patienten, der aufgrund einer Panzytopenie mit Cobalt(II)-Chlorid behandelt wurde. Der Patient hatte während seiner drei wöchigen Behandlung insgesamt 73 g Cobalt(II)-Chlorid verabreicht bekommen (59).

Ein weiterer Fallbericht beschreibt einen 48-jährigen Arbeiter, der an seinem Arbeitsplatz 20 Monate lang einem groben Cobaltstaub ausgesetzt war. Der Patient erlitt eine bilaterale Gehörlosigkeit, eine Visusverschlechterung und Schwindel. Die Serumkonzentration von Cobalt war etwa um das 500-fache des Serumgrenzwertes auf $234 \mu\text{g/l}$ angestiegen (60).

Bei allen genannten Fällen von Sehstörungen und Beeinträchtigungen des Nervensystems kam es nach Beendigung der Cobaltexposition zu einer Restitutio ad integrum (58, 59, 60).

Betrachtet man die in diesen drei Fallberichten massiv über den Serumgrenzwert von $< 0,5 \mu\text{g/l}$ erhöhten Cobaltserumkonzentrationen, kann die Vermutung geäußert werden, dass es bei deutlich erhöhter Aufnahme (inhalativ, oral,

iatrogen) von Cobalt in das Blutsystem zu einer toxischen Schädigung des Sehorgans mit Visusverschlechterung und Nervus opticus Atrophie, sowie zu weiteren Beeinträchtigungen des Nervensystems kommen kann. Cobalt scheint bei einem extrem hohen Serumspiegel Zugang in das Zentralnervensystem zu erlangen und in diesem toxische Schäden hervorrufen zu können. Ebenfalls scheint Cobalt periphere Nerven toxisch schädigen zu können (61). Um diesen Sachverhalt genauer zu untersuchen, sollten weitere Studien zu dieser Thematik durchgeführt werden.

Tabelle 2:

Auswirkungen von Cobalt auf das zentrale und periphere Nervensystem

Art der Cobaltexposition	Cobaltkonzentration im Serum bzw. Dosierung	Symptome	Referenz
Freisetzung von Cobaltionen durch Metallabrieb an der Hüftendoprothese	389 µg Co/l	Visusverschlechterungen, Hörminderung, Dysästhesien an den Füßen, papulöses Exanthem	58
Behandlung mit Cobalt(II)-Chlorid aufgrund von Panzytopenie	Einnahme von insgesamt 73 g Cobaltchlorid über 3 Wochen	Visusverschlechterung	59
Exposition von Cobaltstaub am Arbeitsplatz	234 µg Co/l	bilaterale Gehörlosigkeit, Visusverschlechterung und Schwindel	60
Behandlung mit Cobalt(II)-Chlorid wegen renaler Anämie	orale Einnahme von 80 mg Cobaltchlorid/d für 12 Wochen	neuronale Hörminderung	61
Behandlung mit Cobalt(II)-Chlorid wegen renaler Anämie	orale Einnahme von 400 mg Cobaltchlorid/d für 6 Wochen	Parästhesien der Füße	61

3.1.6 Chronische Höhenkrankheit

Da der Luftdruck mit zunehmender Höhe abnimmt, sinkt proportional auch der

Sauerstoff-Anteil in der Atemluft. Als Folge des Sauerstoffmangels in großen Höhen können Kopfschmerzen, Müdigkeit, Tinnitus, Zyanose und Verwirrheitszustände resultieren. Diese Symptome werden zusammenfassend als chronische Höhenkrankheit bezeichnet. Gehäuft wurde das Auftreten der chronischen Höhenkrankheit in hoch gelegenen Bergbaugebieten beobachtet. Jefferson et al. (62) führten diesbezüglich folgende Studie durch: Die Arbeitsgruppe untersuchte und verglich Männer aus unterschiedlichen Regionen Perus bezüglich ihrer Serumcobaltkonzentration. Dabei wurden die Probanden in drei Gruppen eingeteilt: In der ersten Gruppe waren Probanden, die mit exzessiver Erythrozytose aus einer Hochebene stammten (Cerro de Pasco, Peru, 4300 m ü.d.M.), in der zweiten Gruppe Probanden, die ohne exzessive Erythrozytose aus der gleichen Hochebene stammten und in der dritten Gruppe waren Probanden, die auf Meereshöhe lebten (Lima, Peru). Eine erhöhte Serumcobaltkonzentration konnte bei 11 der 21 aus der Hochebene stammenden Probanden gemessen werden. Jedoch wies kein Einziger aus der 2. und 3. Gruppe eine erhöhte Serumcobaltkonzentration auf. In dem Bergbaugebiet Cerro de Pasco in Peru könnte nach dieser Studie Cobalt, durch seine Erythropoiese steigernde Wirkung, ein ursächlicher Faktor für die exzessive Erythrozytose und somit mitverantwortlich für das gehäufte Auftreten der chronischen Höhenkrankheit sein (62).

3.1.7 Genotoxizität von Cobalt

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Cobalt beim Säugetier genotoxisch ist (siehe Tabelle 3). Die Erkenntnisse berufen sich auf in vitro Studien und Tierstudien.

3.1.7.1 Genotoxizität von Cobalt in vitro

Robison et al. (63) fanden heraus, dass schwach lösliches Cobalt-Sulfat (10 µg/ml) in Ovarzellen des chinesischen Hamsters zu DNS-Strangbrüchen führen

kann. Bei zwei anderen Studien konnte ebenso aufgezeigt werden, dass mikromolare Konzentrationen von Cobalt(II)-Ionen ursächlich für die Schädigung von DNS Basen in Lymphozyten und für die Schädigung isolierter DNS durch die Produktion von Hydroxylradikalen sein können (64, 65). Eine weitere Ursache für die in vitro nachgewiesene Genotoxizität von Cobalt ist die Hemmung von DNS-Reparaturmechanismen (66). De Boeck et al. (67) beschrieben das durch Cobalt und Cobalt(II)-Chlorid (0,3 - 0,6 µg/ml) induzierte Auftreten von DNS-Strangbrüchen in menschlichen Lymphozyten. Daneben untersuchte die Arbeitsgruppe um de Boeck die in vitro Genotoxizität von Cobalt und seinen Verbindungen im Zusammenhang mit anderen Hartmetallpartikeln, abhängig von der Cobaltkonzentration und der Einwirkdauer. Cobalt und Cobalt(II)-Chlorid erreichten annähernd dasselbe Ausmaß an DNS Schädigungen, während Wolframkarbid-Cobalt eindeutig genotoxischer war (67).

Zou et al. (68) haben berichtet, dass Cobalt(II)-Chlorid hypoxische Reaktionen wie die Produktion der ROS („reactive oxygen species“) an neuronalen PC12-Zellen induziert. ROS spielen die entscheidende Rolle bei der Induktion der Apoptose von ischämischen neuronalen Zellen (68).

Die Cobalttoxizität in vitro scheint hauptsächlich das ionisierte Cobalt zu betreffen. Daher ist naheliegend, dass auch in vivo primär das ionisierte Cobalt zu toxischen Effekten im Organismus führen könnte.

Tabelle 3:

In vitro Genotoxizitätsdaten von Cobaltverbindungen

Versuch	Co- / Verbindung	Zelltyp	Konzentration	Ergeb- nis	Re- ferenz
DNS-Strangbrüche	CoSO ₄	Ovar vom chinesischen Hamster	10 µg/ml	+	63
alkalische Einzelzell-Gelelektrophorese	Co	menschliche Lymphozyten	0,3 - 0,6 µg/ml	+	67
alkalische Einzelzell-Gelelektrophorese	CoCl ₂	menschliche Lymphozyten	0,3 - 0,6 µg/ml	+	67
„Cytokinesis-block micronucleus test“	Co	menschliche Osteosarkomzellen	0,75 - 6,0 µg/ml	+	69
„Cytokinesis-block micronucleus test“	Co	menschliche Lymphozyten	0,6 - 0,6 µg/ml	++	70

+ regelmäßige genotoxische Ereignisse ; ++ häufige genotoxische Ereignisse

3.1.7.2 Genotoxizität von Cobalt in Tierstudien

Die intraabdominale Gabe von Co(II)-Ionen bei Ratten (50-100 µmol/kg Körpergewicht) erzeugte oxidative DNS Schädigungen in Leberzellen und Nierenzellen. Die identifizierten veränderten Basen waren typische Produkte von durch Hydroxylradikalen attackierten DNS-Sequenzen, dabei stellten sich einige als pro-mutagen heraus (71).

Bei der in vivo Verabreichung von Cobalt(II)-Chlorid zeigte sich eine Stimulation der Erythropoietinsynthese (72), welche zu einer wachsenden Sensitivität von mutationgeschädigten Erythroblasten führen kann. Dies konnte bei einem Mikrokerntest an polychromen Erythrozyten gezeigt werden (73).

Farah (74) fand in seiner Studie heraus, dass intraperitoneal in den syrischen Hamster injiziertes Cobalt(II)-Chlorid (0,4 g/kg Körpergewicht) Aneuploidie im Knochenmark und in den Hoden induziert.

Außerdem wurden Chromosomenaberrationen in Knochenmarkzellen von Mäusen nach einmaliger, peroraler Gabe von relativ hohen Dosen Cobalt(II)-Chlorid (20 - 80 mg/kg Körpergewicht) gefunden (75).

Tabelle 4:

In vivo Genotoxizität von Cobaltverbindungen

Genotoxische Veränderung	Verbindung	Zelltyp	Dosis	Ergebnis	Referenz
DNS Basen Schädigung	Co(II) Acetat	Rattenniere	50-100 µmol/kg KG intraperitoneal	+	71
DNS Basen Schädigung	Co(II) Acetat	Rattenleber	50-100 µmol/kg KG intraperitoneal	+	71
DNS Basen Schädigung	Co(II) Acetat	Rattenlunge	50-100 µmol/kg KG intraperitoneal	+	71
Aneuploidie	Cobalt(II)-Chlorid	Knochenmark vom syrischen Hamster	400 mg /kg KG intraperitoneal	+	74
Aneuploidie	Cobalt(II)-Chlorid	Hoden vom syrischen Hamster	400 mg /kg KG intraperitoneal	+	74
Chromosomen-aberration	Cobalt(II)-Chlorid	Knochenmark der Maus	20-80 mg/kg KG peroral	+	75

+ regelmäßige genotoxische Ereignisse

3.1.7.3 Genotoxizität von Cobalt in klinischen Studien

Über die Genotoxizität von Cobalt am Menschen gibt es bisher nur wenige Studien. Eine Untersuchung von Gennart et al. (76) bei Arbeitern der Hartmetallindustrie zeigte, dass es bei diesen gehäuft zu einem Schwesterchromatidaustausch der Chromosomen kam. Es handelte sich jedoch um gemischten Metallstaub, dem die Arbeiter ausgesetzt waren, so dass man nicht eindeutig sagen kann, ob das Cobalt für diese Schädigung verantwortlich ist. Ebenso könnte das Rauchen von Zigaretten der Grund für diese Chromosomenschädigungen sein (76).

Insgesamt ist die Genotoxizität von Cobalt am Menschen noch nicht ausreichend untersucht (77), so dass weitere Studien zu dieser Thematik wünschenswert wären.

3.1.7 Karzinogene Effekte

Die International Agency for Research on Cancer (IARC) bewertet Cobalt in Verbindung mit Wolframkarbiden als karzinogene Substanz (Klasse 2A), hingegen Cobalt ohne Wolframkarbide, Cobaltsulfate und Cobaltsalze lediglich als mögliche karzinogene Substanzen (Klasse 2B) (78).

Eine Studie des US National Toxicology Program zur Cobalttoxizität an Mäusen und Ratten konnte nachweisen, dass Cobaltstäube und -oxide bei Nagetieren karzinogen sind. Sowohl in der Mäusegruppe als auch in der Rattengruppe stieg nach zweijähriger inhalativer Cobaltexposition die Inzidenz von alveolären und bronchialen Neoplasien (bei Ratten bei einer Exposition ab 1 mg Co/m^3 und bei der Mäusegruppe bei einer Exposition ab 3 mg Co/m^3) signifikant an (77).

Die epidemiologische Studienlage von Karzinomen bei Menschen nach Cobaltexposition ist sehr eingeschränkt. Die bisher bei Menschen durchgeführten Kohortenstudien zeigten keinen signifikanten Anstieg der Inzidenz von Karzinomen auf, der sicher auf eine Cobaltexposition zurückzuführen ist (79). Es gibt auch keine gesicherte Datenlage zu dem karzinogenen Potential von Cobalt(II)-Kationen bei oraler Aufnahme, weder beim Menschen noch bei Tieren.

3.1.8 Mechanismus der Cobalttoxizität

Der genaue Mechanismus der Toxizität von Cobalt ist noch nicht ausreichend geklärt.

Einige Effekte des Cobalts könnten mit seiner hohen Affinität zu Sulfhydrylgruppen im Zusammenhang stehen. Diese scheinen für die Blockierung von wichtigen Enzymen verantwortlich zu sein (u.a. in der Atmungskette) (21), welche die Inhibierung von Schlüsselreaktionen, wie die der oxidativen Phosphorylierung zur Folge haben (80). Darüber hinaus werden als Ursachen der toxischen Reaktionen von Cobalt seine Rolle als Kalziumkanal-Antagonist und als Hemmer der Kalziumsignalübertragung diskutiert (81).

Ein weiterer von Cobalt herbeigeführter toxischer Mechanismus ist die Induktion

von oxidativem Stress in vitro und in vivo. Cobalt(II) katalysiert die Generierung von Hydroxylradikalen ($\text{OH}\cdot$) aus Hydrogen-Peroxiden durch Fenton-Reaktionen (82). In menschlichen alveolären Makrophagenzellen und neuronalen PC12-Zellen induziert Cobalt(II)-Chlorid die Apoptose durch die Bildung von „reactive oxygen species“ (ROS). Die Gabe von Antioxidantien unterdrückt die ROS-Produktion und erhöht die Lebensfähigkeit der Zellen (68). Außerdem haben Untersuchungen gezeigt, dass Cobaltionen und Cobaltnanopartikel zytotoxisch sind und in höheren Konzentrationen Nekrose und inflammatorische Reaktionen induzieren (81,83).

In menschlichen roten Blutkörperchen scheint die Cobaltaufnahme (Co^{2+}) über die Zellmembran mit dem Kalziumtransport (Ca^{2+}) gekoppelt zu sein. Die Aufnahme des Cobalts in die Zelle ist jedoch irreversibel, es ist ebenfalls keine Abgabe über die Kalziumpumpe möglich. Deshalb nimmt man an, dass Cobalt hauptsächlich in Zellen mit einem hohen Kalziumaustausch aufgenommen wird. Das in die roten Blutkörperchen aufgenommene Cobalt bindet zum größten Teil an das Globin des Hämoglobins. Das freie ionisierte Co^{2+} ist nur zu 1% im Zytosol verfügbar. Die Bindung an Hämoglobin ist initial reversibel, doch im Verlauf wird die Bindung zwischen Cobalt und Globin enger, wahrscheinlich durch die in situ Oxidierung von Co^{2+} zu Co^{3+} (83). Aus diesem Gesichtspunkt mag die Menge an Cobaltionen in roten Blutkörperchen, die irreversibel während der gesamten Lebenszeit der Zelle von ihr aufgenommen werden, ein relevanter Parameter sein, um das Risiko der Cobaltvergiftung und die quantitative Menge der Cobaltzufuhr abzuschätzen. Anhand der Bestimmung der Cobaltkonzentration in roten Blutkörperchen könnte somit eine bessere Aussage über die Länge und Intensivität der Cobaltexposition beziehungsweise der Cobaltsubstitution des Patienten/Sportlers getroffen werden, als über die Messung der Serumkonzentration von Cobalt (34).

3.2 Cobalt in der Erythropoiese

3.2.1 Einführung

Nach Woehler und Koernig (85) entdeckten Pitini und Messina bereits im Jahr 1899 die erythro- und hämoglobinpoietische Wirkung von Cobalt. Mitte des 20. Jahrhunderts begann die pharmakologische Verwendung von Cobalt. Zum Beispiel wurde in den 1950er Jahren unter dem Handelsnamen Roncovite® Cobalt(II)-Chlorid in Form von Tabletten (je 15 mg Cobalt(II)-Chlorid und 0,2 g Eisensulfat) und Tropfen (je 40 mg Cobalt(II)-Chlorid und 75 g Eisensulfat) für die Anämiebehandlung in den USA vertrieben (86).

3.2.2 Mechanismus der Hypoxie induzierten Transkriptionsfaktoren (HIF)

Semenza und Wang beschrieben 1992 einen Faktor, der an die Enhancerregion des Erythropoietin-Gens bindet und seine Transkription induziert, drei Jahre später gaben die Wissenschaftler diesem Faktor den Namen Hypoxie-induzierter Faktor (HIF) (87, 88). Cobalt zählt zu den Stoffen, die die Hypoxie-induzierten Transkriptionsfaktoren stabilisieren. Um seine Funktion genauer zu verstehen, muss zunächst die Funktion und der Mechanismus des HIF näher beleuchtet werden.

HIFs werden unter hypoxischen Bedingungen aktiviert und führen zu einer Vermehrung der Transkription ihrer Zielgene. HIFs sind heterodimere Proteine aus einer HIF- α - und einer HIF-1 β -Untereinheit. Die α -Untereinheit ist die O_2 Partialdruck (pO_2) abhängige Untereinheit. Bei hohem pO_2 (Normoxie) wird sie normalerweise inaktiviert. Es gibt strukturell und funktionell unterschiedliche HIF- α -Isoformen, wovon HIF-2 α als besonders wichtig für die EPO-Gen-Expression angesehen wird.

Im C-terminalen Abschnitt von HIF- α befindet sich eine Transaktivierungsdomäne (TAD), die sich in Hypoxie induzierbare N-terminale (N-TAD) und C-terminale (C-TAD) Teilstücke unterteilen lässt (oxygen dependent degradation domains; ODDD). In Abhängigkeit von einem ausreichend hohen pO_2 werden diese an

bestimmten Prolinen hydroxyliert (HIF-1 α an Pro⁴⁰² und Pro⁵⁶⁴, HIF-2 α an Pro⁴⁰⁵ und Pro⁵³¹). Die Reaktion wird von spezifischen HIF- α -Prolylhydroxylasen (PHD) katalysiert. Durch die Prolylhydroxylierung wird HIF- α für den Komplex aus einer E3-Ubiquitin-Ligase und dem von-Hippel-Lindau-Protein (pVHL) markiert und sofort in einem 26S-Proteosom abgebaut (89).

Außerdem erfolgt eine weitere posttranslationale Hydroxylierung in der N-TAD durch eine Asparaginyhydroxylase (FIH-1, factor-inhibiting HIF1). FIH-1 katalysiert die Hydroxylierung eines konservierten Asparagins in der C-terminalen Transaktivierungsdomäne (Asn⁸⁰³ bei HIF-1 α und Asn⁸⁵¹ bei HIF-2 α). Durch diese Hydroxylierung wird die Rekrutierung der transkriptionseinleitenden Faktoren p300 und CREB (cAMP response element-binding) Bindungsprotein verhindert und somit die Aktivität von HIF stark abgeschwächt. Die katalytische Aktivität von FIH-1 ist O₂, 2-Oxoglutarat und Fe²⁺ abhängig (89).

Unter hypoxischen Zuständen bleiben die Hydroxylierungen aus, folglich translozieren HIF-1 α und HIF-2 α in den Nukleus der Zelle. Dort findet eine Dimerisierung der α -Untereinheit mit HIF-1 β -Untereinheit statt, daraufhin bindet HIF an sogenannte hypoxieresponsive Elemente (HRE), die in Promotor- und/oder Enhancer-Regionen der Zielgene wie beispielsweise EPO vorkommen (90).

Zu den Translationsprodukten HIF-abhängiger Zielgene gehören neben EPO unter anderem auch Proteine des Eisenstoffwechsels (Transferrin und Transferrin-Rezeptor), der Gefäßneubildung (VEGF (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor) und VEGF-Rezeptor), der Durchblutungssteuerung (iNOS (induzierbare NO-Synthase), des transmembranären Glukosetransports (GLUT-1 und GLUT-3), sowie glykolytische Enzyme (91).

Saxena et al. (92) zeigten in einer Tierstudie an trainierten Ratten, dass hypoxische Präkonditionierung durch Cobalt im Vergleich zu trainierten Ratten, denen kein Cobalt verabreicht wurde, eine signifikante physische Leistungssteigerung (gemessen an der zurückgelegten Strecke im Laufrad) um durchschnittlich 33% bewirkt. Außerdem konnte gezeigt werden, dass der Plasma-Laktat-Wert bei mit Cobalt gedopten Ratten signifikant um 11 % gesenkt werden

konnte. Dabei wurden den Ratten 2,5; 5; 10 und 25 mg Cobalt(II)-Chlorid verabreicht. Je höher die Dosis gewählt wurde, desto größer waren auch die Leistungssteigerungen der Ratten. Mit Dosierungen über 25 mg Cobalt(II)-Chlorid konnte keine weitere Leistungssteigerung erzielt werden. Die Cobalteinnahme schützte gleichzeitig gegen trainingsinduzierte oxidative Schäden durch einen Anstieg des GSH/GSSG Verhältnisses und steigerte die Expression von den Antioxidantien Häm-Oxygenase-1 und Metallothionein. Außerdem wurden die trainingsbedingten Muskelfaserschäden bei den mit Cobalt präkonditionierten Ratten reduziert (92). Eine Studie von Suzuki (93) zu der Vermehrung von Kapillarisierung in der Skelettmuskulatur von Versuchsratten durch Cobaltgabe ergab keinen positiven Effekt.

3.2.3 Induktion von HIF durch Cobalt

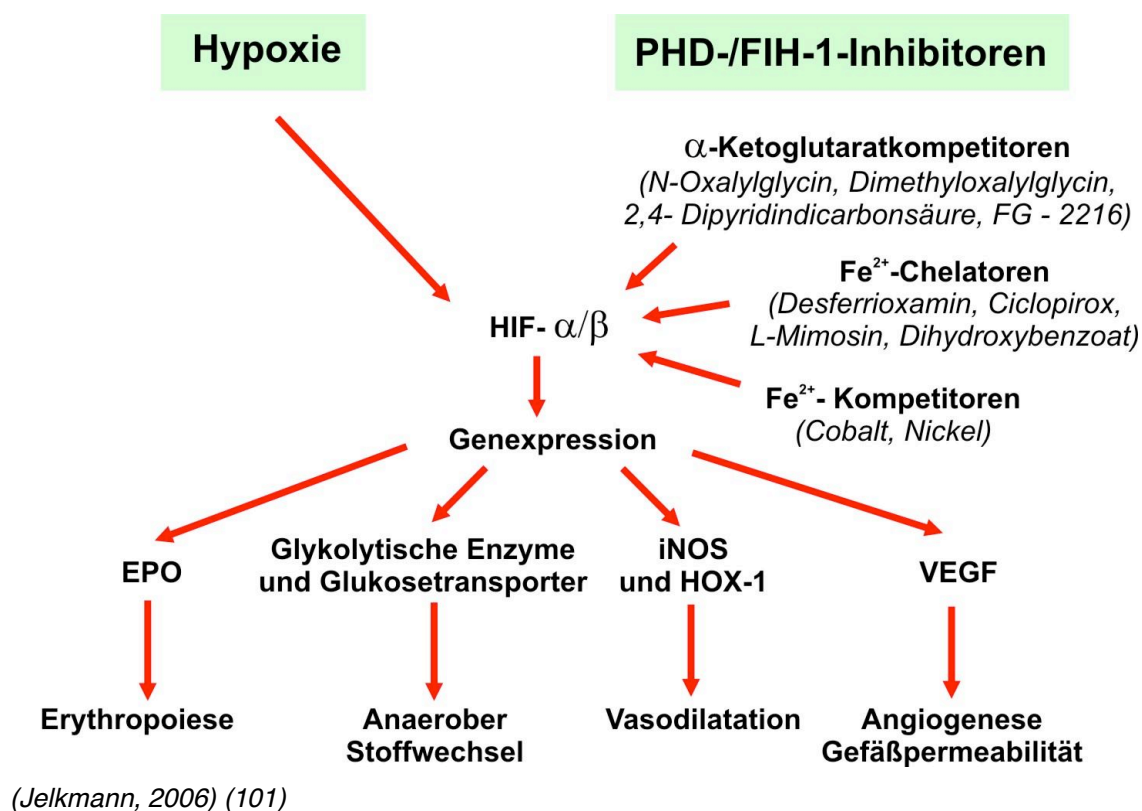
Die Erythropoiese steigernde Wirkung von Cobalt wurde bereits vor über 50 Jahren von Goldwasser et al. untersucht (72). Damals hatte die Arbeitsgruppe um Goldwasser eine Erhöhung der EPO-Aktivität im Blut von Ratten bei Cobalt(II)-Chlorid-Gabe gemessen (94). Cobalt stimuliert die EPO-Synthese in vitro und in vivo. Durch die Steigerung der Erythropoiese nehmen auch die Erythrozytenzahl, die Hämoglobinmasse und der Hämatokrit im Blut zu. Cobalt ist die Referenzsubstanz bei der Kalibrierung von rhEPO. Definitionsgemäß hat eine Internationale Einheit (IE) EPO im Nagetier ("fasted rat" o.ä.) die gleiche Erythropoiese steigernde Wirkung wie 5 µmol (ca 0,6 mg) Cobalt(II)-Chlorid (95). Es wird angenommen, dass die Erythrozytose von Minenarbeitern, die unter der chronischen Bergkrankheit leiden, durch die berufsbedingte Inhalation von Cobaltstaubpartikeln mitverursacht wird (62). Bevor rhEPO für die Behandlung von Anämien bei chronisch nierenerkrankten Patienten zur Verfügung stand, wurden vereinzelt Patienten mit Cobalt(II)-Chlorid zur Linderung ihrer Anämien therapiert (26).

Der molekulare Mechanismus der Cobalt-Wirkung auf das HIF-System ist nicht endgültig geklärt. Ursprünglich wurde angenommen, dass Cobalt das Fe^{2+} in HIF-

α Hydroxylasen verdrängt. Cobalt bindet jedoch an zahlreichen Proteine und stört deren Funktion (96). Wahrscheinlich bindet Cobalt direkt an HIF- α und verhindert so die Interaktion mit pVHL, so dass HIF- α nicht durch das 26S-Proteosom abgebaut werden kann (97, 98, 99). Cobalt wirkt somit stabilisierend auf die HIF- α -Untereinheit. Das so stabilisierte HIF wiederum sorgt als Transkriptionsfaktor unter anderem für die Induktion der EPO-Synthese.

In ischämischen Situationen verliert Cobalt seine Bindungsaffinität zu Albumin und kann so an HIF- α binden, es stabilisieren und damit durch die daraus resultierende gesteigerte Erythropoiese der Ischämie entgegenwirken (100).

Abbildung 1: Hypoxische und pharmakologische Aktivierung der HIF abhängigen Genexpression.



3.3 Therapeutischer Einsatz von Cobalt zur Stimulation der Erythropoiese

3.3.1 Studien zu der Cobalttherapie

3.3.1.1 Tierstudien

a) Tierversuche an Ratten

Die ersten Tierversuchsstudien zur Wirkung von Cobalt auf die Erythropoiese stammen von Waltner (102) aus dem Jahr 1929. Der Autor hatte metallisches Cobalt pulverisiert und mischte es der Nahrung von Ratten bei. Wurde der Nahrung 2% Cobaltpulver zugeführt, so zeigte sich nach einer Woche eine Vermehrung der roten Blutkörperchen und des Hämoglobins um jeweils 20 - 25%. In dieser Dosierung war das Cobalt sehr toxisch, die Versuchstiere blieben stark im Wachstum zurück und starben durchschnittlich nach vier Wochen. Mischte man der Nahrung lediglich 0,5% Cobalt bei, so blieben die Tiere durchschnittlich sechs bis sieben Monate am Leben, sie verloren zwar ihre Fertilität gänzlich, ihr Wachstum wurde aber nur geringfügig beeinträchtigt. Der Hämoglobingehalt im Blut stieg dabei um durchschnittlich 65%. Wurde die Cobaltgabe wieder ausgesetzt, so sanken die erhöhten Hämoglobinwerte sukzessiv auf das Ausgangsniveau zurück. Als zusätzliche Nebenwirkung zeigten die Knochen der mit Cobalt behandelten Tiere eine sehr ausgeprägte Osteoporose. Bei einem weiteren Versuch wurden in wässriger Lösung verdünnte Cobaltsalze (Cobalt(II)-Chlorid und Cobaltnitrat) subcutan in die Versuchstiere injiziert. Cobalt(II)-Chlorid zeigte eine sehr giftige Wirkung und sein Einfluss auf die roten Blutkörperchen und das Hämoglobin waren unbeständig. Cobaltnitrat hatte ähnliche Wirkung wie das pulverisierte Metall selbst (102). Diese über 80 Jahre alten Untersuchungen machen auf drei weitere potentielle Nebenwirkungen des Cobalts aufmerksam - die jedoch nach Substitution von einer sehr großen Menge an Cobalt bei den Versuchstieren auftraten: Wachstumsstörungen, Fertilitätsverlust und Osteoporose.

Fischer (103) führte ebenfalls eine tierexperimentelle Studie an Ratten über den Einfluss von Leberextrakten auf die Cobalttherapie durch. Nach Cobalt-

Aminosäure-Komplex-Substitution zeigten die histologischen Befunde eine deutliche Proliferation der roten Blutzellreihe in den medullären und extramedullären Blutbildungsherden. Eine gleichzeitige Gabe von Leberextrakten hemmte die hämatopoietische Wirksamkeit von Cobalt nicht, hatte jedoch einen normalisierenden Einfluss auf die überschießende extramedulläre Reaktion (103).

Goldwasser et al. (72) verwendeten für ihre Untersuchungen hypophysektomierte Ratten, denen subkutan Cobalt(II)-Chlorid injiziert wurde. Es zeigte sich, dass der Erythropoietinwert im Plasma dieser Versuchsratten schnell anstieg. Goldwasser stellte daher als erster die Vermutung auf, dass die Ursache der Erythropoiesesteigerung des Cobalts in der Erhöhung des Erythropoietins im Plasma liegt. Außerdem zeigten Goldwasser et al. in ihren Versuchen, dass andere Schwermetalle wie Eisen oder Magnesium keinen stimulierenden Einfluss auf die Erythropoiese haben (72).

Saikkonen und Martinnen (104) untersuchten die Fähigkeit von Cobalt für eine Reaktivierung der Erythropoiese bei Ratten, deren Blutbildung zuvor durch die schädigende Wirkung von Röntgenstrahlen vermindert wurde. Nach Hemmung der Blutzellbildung der Versuchsratten wurde die eine Gruppe mit täglichen subkutanen Injektionen von 0,8 mg Cobalt pro kg Körpergewicht behandelt, die Tiere der Kontrollgruppe bekamen jeweils eine Injektion von Kochsalz. Die Untersuchungszeit dauerte acht Wochen. Die mit Cobalt behandelten Ratten zeigten nach ein bis zwei Wochen eine Reaktivierung der Erythropoiese und entwickelten daraufhin schnell eine Polyzythämie. Im Gegensatz dazu hatten die mit Kochsalz behandelten Ratten nach acht Wochen immer noch Hämoglobinwerte unter dem Normwert und zeigten keine Steigerung der Erythropoiese. Als Nebenwirkung trat bei allen mit Cobalt behandelten Ratten ein Gewichtsverlust auf (104).

Othomo et al. (105) verabreichten 1 mg Cobalt(II)-Chlorid pro Tag an hypertensive, Typ 2 diabetische Ratten. Die Therapie wurde für 26 Wochen durchgeführt. Die Autoren zeigten, dass Cobalt weder die Hypertonie noch den Diabetes mellitus heilen konnten, jedoch sowohl die bestehende Proteinurie als

auch die histologisch nachweisbaren Nierenschädigungen (glomeruläre Sklerose und tubulointestinale Fibrose) gemildert wurden. Die renale Ausscheidung von NADPH-Oxidase (ein Marker für den oxidativen Stress) und der renale Anteil von Pentosidin (ein Marker für die fortgeschrittene Glykierung) wurden durch Cobalt vermindert. Ebenso wurden die Expression von „transforming growth factor (TGF)-beta“ und „connective tissue growth factor“ (CTGF) durch Cobalt reduziert. Außerdem konnte beobachtet werden, dass unter Cobalttherapie HIF-1 alpha positive Zellen signifikant anstiegen. Auch die mRNA Expression von EPO, VEGF und Hämoxygenase-1 (HO-1) stiegen über das Ausmaß der Kontrollgruppe an. Interessant ist auch, dass durch Cobalt signifikant der Rarefikationsindex gesenkt wurde, welches für eine Protektion der peritubulären Kapillaren hinweisgebend ist. So kann nach dieser Studie festgehalten werden, dass die Gabe von Cobalt(II)-Chlorid, unabhängig von der metabolischen Situation und der Höhe des Blutdruckwertes, protektive Effekte für die Niere zur Folge hat. Außerdem fördert es die Gen-Expression von EPO, VEGF und Hämoxygenase-1 (105).

Ein umfangreicher Tierversuch zur Analyse der akuten Cobaltvergiftung wurde von Bartelheimer durchgeführt (106). Injizierte man Ratten eine Dosis von 85 mg Co/kg Körpergewicht intraperitoneal, so zeigte sich zunächst nach ein bis zwei Minuten eine auffällige Rötung der Haut, außerdem veränderte sich die Atmung, die Frequenz nahm zu und die Atemamplitude vergrößerte sich. Danach wurden die Tiere somnolent und es traten schlaffe Paresen auf. Letztendlich verstarben die Tiere an einer Atemlähmung. Einen ähnlichen toxischen Verlauf konnte man bei der Injektion von Cobalt(II)-Chlorid in Katzen beobachten (106). Hier lag die letale Dosis Cobalt(II)-Chlorid bei etwa 45 mg/kg Körpergewicht. Zusätzlich erlitten die Katzen eine starke Erregung des Magendarmtraktes mit Erbrechen und Diarrhoe. Außerdem traten vor allem bei Ratten erhebliche primäre Herzscheidigungen auf, welche bis zu einem tödlichen Herzversagen reichen konnten. Bei langsam injizierter Cobalt(II)-Chloridlösung (0,5 mg/(kg x min)) verstarben auch die Ratten nicht an einer Atemlähmung sondern an plötzlichem Herztod (106). Bei weiteren Versuchen stellte Bertelheimer heraus, dass eine im

zentralen Nervensystem ausgelöste Atemlähmung ursächlich für das beobachtete Atemversagen war. Auch bei der Erregung des Magendarmtrakts geht der Autor davon aus, dass diese im ZNS verursacht wird. Bei Ratten reichten bereits ein bis fünf mg Cobalt(II)-Chlorid für eine kurzfristige Atmungshemmung mit nachfolgender Hyperventilation aus. Bei diesen niedrigen Dosierungen kam es außerdem zum Blutdruckanstieg (106). Die unmittelbar nach i.v. Cobaltinjektion beobachtete Hyperventilation wurde ebenfalls bei Hunden (107) und bei Kaninchen beobachtet (108).

b) Tierversuche an Mäusen

Janda et al. (109) fanden 1965 heraus, dass Cobalt die Erythropoietinkonzentration im Plasma von Mäusen erhöht. Dieser Anstieg konnte bei gleichzeitiger Testosterongabe noch weiter gesteigert werden (109).

Cobalt hat jedoch nicht nur negative Nebenwirkungen. In einer Mäusestudie von Xi et al. (110) stellte man die Reduzierung von Myokardinfarktzeichen nach Cobalt(II)-Chlorid Gabe fest und somit, dass Cobalt(II)-Chlorid auch kardioprotektiv wirkt. Die durch Cobalt aktivierte HIF-1 α induzierte systemische Reaktion führt zu einer Kardioprotektion durch die Reduktion von „ischemia(I)-reperfusion(R)-Schäden“. Den Mäusen wurde eine einzige Bolusdosis von 30 mg Cobalt(II)-Chlorid pro kg Körpergewicht verabreicht. Die Cobalt(II)-Chlorid-Verabreichung hatte keine Todesfälle bei den Mäusen zur Folge. Das Verhalten der Tiere schien abgesehen von der auftretenden Hyperpnoe, normal zu sein (110).

c) Tierversuche an Kaninchen

Wolters (111) untersuchte bei Kaninchen in verschiedenen Zeitabständen nach parenteraler Gabe von Cobalt(II)-Chlorid und Natrium-Cobalt(III)-Glukonat den Cobaltgehalt des Plasmas, den Erythropoietin-Titer des Plasmas, die ^{59}Fe -Inkorporation in die Erythrozyten, den Serumeisenspiegel und die totale

Eisenbindungskapazität. Den Kaninchen wurden 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 und 10 mg Cobalt / kg Körpergewicht von beiden Verbindungen intravenös appliziert. Cobalt wurde nach der Gabe von Cobalt(II)-Chlorid im beobachteten Zeitraum exponentiell aus dem Kreislauf eliminiert. 16 Stunden nach Cobaltinjektion wurde bei den niedrigeren Dosierungen und 12 Stunden nach Cobaltinjektion bei den höheren Dosierungen ein maximaler Anstieg der EPO-Aktivität im Plasma festgestellt. Die EPO-Werte im Blut nahmen dosisabhängig zu: Um 120% bei niedrigster Cobaltdosierung und um bis zu 490% bei höchster Cobaltdosierung, unabhängig davon, ob Natrium-Cobalt(III)-Glukonat oder Cobalt(II)-Chlorid verabreicht wurde. 40 Stunden nach Verabreichung der Substanzen konnte man mit der verwendeten Methode keinen sicher erhöhten Erythropoietinspiegel mehr nachweisen. Die Eiseninkorporation in die Erythrozyten zeigte 36 – 48 Stunden nach der Cobaltapplikation die höchste Einbaurate. Bei den beobachteten Wirkungen von Cobalt auf die Erythropoiese konnte kein Unterschied zwischen gleichen Dosen Cobalt(II)-Chlorid und Natrium-Cobalt-III-Glukonat festgestellt werden. Bei der höchsten Dosierung beider Cobaltverbindungen starben 25% der Tiere. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass Cobalt(II)-Chlorid und komplex gebundenes Cobalt bereits in kleinen Dosen von 0,5 mg pro kg Körpergewicht beim Kaninchen die Bildung von Erythropoietin vorwiegend in der Niere anregt, mit dem Resultat einer gesteigerten Erythropoiese. Beide Verbindungen bewirken außerdem innerhalb weniger Stunden einen Abstrom von Plasmaeisen in die Speicherorgane. Eine Änderung der totalen Eisenbindungskapazität konnte nach einmaliger Cobaltinjektion nicht festgestellt werden (111).

In einer weiteren Tierstudie an Kaninchen untersuchten Caplan und Block (112) die Veränderung der Serumlipide nach i.v. Cobalt(II)-Chlorid-Gabe. Dabei stellten die Autoren nach der Cobalt(II)-Chlorid Injektion eine Erhöhung der gesamten Serumlipide fest. Triglyzeride waren die Serumlipidfraktion, welche am höchsten anstieg. Parallel dazu stiegen die α 2- und β -Serumglobuline an (112).

d) Tierversuche an Schafen

Die Dosis von Cobalt als Nahrungsergänzungsmittel bei Schafen, bei der keine toxischen Nebenwirkungen beobachtet werden, haben Becker und Smith (113) untersucht. Dabei stellten sie fest, dass von Schafen bis zu 3,2 mg Cobalt(II)-Chlorid pro kg Körpergewicht pro Tag für acht Wochen toleriert wurde. Dies entspricht nahezu der 1600 fachen normalen täglichen Cobaltaufnahme von Schafen. Dosen von 4 – 10 mg pro kg Körpergewicht verursachten Appetitverlust und Körpergewichtsabnahme. Es wurden keine Polyzythämien beobachtet. Bei der täglichen i.v. Applikation von 75 mg Cobalt starben zwei von sechs Tieren. Die pathologischen Untersuchungen der beiden durch die toxische Wirkung des Cobalts verstorbenen Schafe zeigten fettige Infiltrationen der Leber, leichte pulmonale Ödeme und pulmonale Blutstauungen. Außerdem traten bei hohen Cobaltdosierungen erstaunlicherweise Anämien auf (113). Dies wirft die Vermutung auf, dass Cobalt in hohen Dosierungen nicht nur die Erythropoiese nicht weiter steigern kann, sondern diese scheinbar zusätzlich hemmt. Diese Aussage wird auch von einer Studie von Cartwright getroffen (114).

e) Tierversuche an Kälbern

Dunn et al. (115) untersuchten ob eine Linderung der Cobalttoxizität bei Kälbern durch zusätzliche Gabe von Methionin erreicht werden könnte. Sie injizierten eine Cobaltsulfatlösung mit 0,8 - 1,6 mg Cobalt pro kg Körpergewicht in die Jugularvenen der Tiere. Toxische Effekte des i.v. Cobalts fanden sich bei allen Versuchstieren. Unter anderem zeigten sich ein vermehrter Speichelfluss, ein erhöhter Tränenfluss, Dyspnoe, Koordinationsstörungen, eine spontane Urin- und Stuhlentleerung. Diese Symptome hielten für zwei Stunden an. Sie waren jedoch bei allen Versuchen komplett rückläufig. Als den Kälbern fünf Minuten vor Cobaltverabreichung 500 mg beziehungsweise 1000 mg Methionin injiziert wurde, traten diese Effekte deutlich abgeschwächt oder nicht mehr auf. Die letale Dosis für die Versuchstiere bei intravenöser Cobaltinjektion lag bei Dosen > 8 mg pro kg Körpergewicht (115).

f) Tierversuche an Hunden

Robscheit-Robbens und Whipple (116) konnten bei ihren Hundeversuchen keine hämoglobinsteigernde Wirkung von Cobalt beobachten. Sie verabreichten den Hunden 5-40 mg Cobalt pro Tag, wobei die Hämoglobinwerte der Tiere nahezu unverändert blieben. Im Gegensatz dazu bewirkte eine Kupferzugabe in die Nahrung der Hunde eine Hämoglobinwerterhöhung (116).

Zusammenfassung der Tierstudien:

Insgesamt konnten bei sieben (72, 102, 103, 104, 109, 113, 115) von acht dargestellten Tierstudien, die die Bildung von roten Blutkörperchen untersuchten, eine Steigerung der Erythropoiese durch Cobalt nachgewiesen werden. Lediglich eine Tierstudie (116) konnte keinen blutbildungssteigernden Effekt von Cobalt feststellen. Die bei den Tieren durch Cobaltgabe aufgetretenen Nebenwirkungen sind in der Tabelle 4 dargestellt. Zusammenfassend ist festzustellen, dass die resultierenden Nebenwirkungen bei höher gewählten Cobaltdosierungen deutlich schwerwiegender waren.

Tabelle 4:

Tierexperimentelle Nebenwirkungen von Cobalt

Art der Tierstudie	Nebenwirkungen	Dosierung/Konzentration pro Tag	Referenz
Versuche an Ratten	Fertilitätsverlust, Wachstumsstörungen Osteoporose	0,1g Cobalt(II)-Chlorid s.c.	102
Versuche an Kaninchen	25 % der Tiere verstarben	5,0 bzw. 10 mg/kg Körpergewicht CoCl_2 oder Natrium-Cobalt-III-Glukonat	111
Cobaltgabe an strahlengeschädigten Ratten	Gewichtsverlust, Polyzythämie	0,8 mg Cobalt pro kg Körpergewicht für 8 Wochen	104
Cobaltgabe bei Schafen	Gewichtsverlust, Appetitabnahme Anämie	4 – 10 mg CoCl_2 pro kg Körpergewicht für 8 Wochen 10 mg CoCl_2 pro kg Körpergewicht	113
Cobaltgabe bei Kälbern	Speichelfluss, Tränenfluss, Dyspnoe, Koordinations- störungen, Urin- und Stuhlentleerung	0,8 – 1,6 mg Cobalt pro kg Körpergewicht i.v.	115
Cobaltgabe bei Kälbern	letal	mehr als 8 mg Cobalt pro kg Körpergewicht i.v.	115
Analyse zur akuten Cobaltvergiftung	letal (Atemlähmung) - Ratte - Katze Stimulation der Atmung, der Kreislaufregulation und des Magendarmtraktes (Ratte)	CoCl_2 i.p. 85 mg/kg Körpergewicht 45 mg/kg Körpergewicht 1 – 5 mg /kg Körpergewicht	106
Cobaltgabe bei Kaninchen	Hyperlipidämie	8 mg CoCl_2 pro kg Körpergewicht i.v.	111
Cobaltgabe bei Meerschweinchen	Kardiomyopathie	20 mg/d Co pro kg Körpergewicht für 2-3 Wochen	32
Cobaltgabe bei Mäusen	Hyperpnoe	30 mg CoCl_2 pro kg Körpergewicht	110

3.3.1.2 Klinische Studien

Cobalt wurde bis zur Entdeckung und Gewinnung von EPO gelegentlich zur Therapie von Anämien verwendet. Um seine positiven Effekte, seine Nebenwirkungen, die passende Dosierung und die verträglichste Verabreichungsart genauer zu untersuchen, wurden vor allem in den 1940er bis 1970er Jahren zahlreiche Patientenstudien mit Cobalt als verwendetes Arzneimittel durchgeführt. Im Folgenden sind die wichtigsten Studien zur Cobalttherapie mit ihren Ergebnissen zusammengefasst.

a) Fallberichte von Seaman und Koler

Seaman und Koler (117) berichteten 1951 von einer 40-jährigen Patientin, die aufgrund einer chronischen normoblastischen Anämie täglich mit 100 mg Cobalt(II)-Chlorid peroral behandelt wurde. Nach 64-tägiger Cobaltgabe traten erstmalig wieder kernhaltige Zellen aus der roten Blutzellreihe im Ausstrich des peripheren Patientenblutes auf. Einen Monat nach Therapiebeginn waren der Hämoglobinwert, die Retikulozyten- und die Erythrozytenzahl angestiegen. Außerdem fühlte sich die Patientin subjektiv deutlich besser. Die zuvor für 61 Monate bestandene Hypoplasie der Erythropoiese trat in den folgenden neun Monaten nach der Cobaltbehandlung nicht wieder auf (117). Bei einer zweiten Patientin mit einer seit 10 Jahren bestehenden Anämie stieg nach Cobalt(II)-Chlorid-Gabe der Retikulozytenanteil im Knochenmark von 0,2 % auf 8,2% an. Jedoch blieben die Erythrozytenzahl und der Hämoglobinwert der Patientin unverändert (117).

b) Studie von Geill

In einer großen, prospektiven Studie von Geill (118) wurde zunächst 107 anämischen Patienten drei Mal täglich 110 mg Fe^{2+} verabreicht. Dies wirkte sich nicht positiv auf ihre Erythropoiese aus. Daraufhin nahmen die Patienten für zwei bis drei Monate drei mal täglich eine Kombination aus 55 mg Fe^{2+} und 20 mg

Cobalt(II)-Chlorid ein. Darunter traten laut dem Autor eine deutliche Hämoglobinwert- und Erythrozytenzahlerhöhung auf. Diese hämatologischen Veränderungen ließen nach dem Absetzen der Medikation wieder nach. Die Behandlung führte bei einigen Patienten zu Dyspepsien. Bei einer 82-jährigen Patientin trat während der Behandlungszeit eine Polyzythämie und eine anschließende Thrombose der A. mesenterica superior auf (118). Möglicherweise lässt sich die Thrombose der Patienten auf die Cobalteisenbehandlung und den damit verbundenen Hämoglobin- und Blutviskositätsanstieg zurückführen.

c) Fallbericht von Voyce

Von einer erfolgreichen Cobalttherapie bei einem Patienten mit Aplasie der roten Blutzellen berichtet Voyce (119). Der Patient, der trotz wiederholter Bluttransfusionen einen Hämoglobinwert $< 7\text{g}/100\text{ml}$ hatte, bekam zwei Mal täglich 100 mg Cobalt(II)-Chlorid verabreicht. Sein Hämoglobinwert stieg auf $> 12\text{g}/100\text{ml}$, die Therapie musste jedoch nach sechs Wochen aufgrund von Übelkeit und Erbrechen abgebrochen werden. Als nach Therapieende sein Hämoglobinwert erneut sank, wurde ein neues, erfolgreiches Therapieschema, bestehend aus einer einwöchigen täglichen Cobalt(II)-Chlorid-Gabe von 200 mg im Wechsel mit einer darauf folgenden vierwöchigen Therapiepause, eingeführt. Dieses Behandlungskonzept blieb ohne Nebenwirkungen (119).

d) Fallbericht von Fountain und Dales

Auch Fountain und Dales (120) berichten von einer erfolgreichen Cobalttherapie. Ein Patient wurde wegen einer Aplasie der roten Blutzellreihe mit täglich 100 mg Cobalt(II)-Chlorid über acht Wochen hinweg behandelt. Sein Hämoglobinwert und seine Erythrozytenzahl normalisierten sich unter der Behandlung und blieben in der Folgezeit konstant (120).

e) Studie von Weinsaft und Bernstein

Ebenfalls gute Ergebnisse bei der Behandlung von Anämien mit Cobalt(II)-Chlorid hatten Weinsaft und Bernstein (121). In ihrer Studie wurden acht Patienten aufgrund von therapieresistenten Anämien, deren Ursachen auf unterschiedliche Grunderkrankungen zurück zu führen waren (4x Glomerulonephritis, 1x Pyelonephritis, 2x rheumatoide Arthritis, 1x Hodgkin Lymphom), eingeschlossen. Die Patienten bekamen initial täglich 80 mg Cobalt(II)-Chlorid peroral verabreicht. Die Behandlung wurde über mehrere (2-8) Monate durchgeführt. Dabei stieg der Hämatokritwert im Durchschnitt um etwa 12 Prozentpunkte an (Varianz: 7 -15 Prozentpunkte). Die Erythrozytenzahl und Hämoglobinwerte erhöhten sich ebenfalls. Bei allen Patienten konnte ein deutlicher Rückgang der Anämie bis hin zu normwertigen Hämoglobinwerte gemessen werden. Als Nebenwirkungen traten Magenbeschwerden und Nausea auf. Zwei Patienten starben in der Zeit der Cobalttherapie: Der eine Patient 66 Tage nach Therapiebeginn durch eine Hämorrhagie, der andere 135 Tage nach Therapiebeginn wegen Nieren- und Herzversagens (121). Über den eventuellen Zusammenhang der Cobalttherapie mit den Todesursachen der beiden Patienten wurde keine Aussage getroffen.

f) Studie von Gardner

Gardner führte eine Studie (61) mit 17 Patienten durch, denen aufgrund von renalen Anämien täglich peroral 50 - <200 mg Cobalt(II)-Chlorid über einen Zeitraum von mindestens vier Wochen verabreicht wurde. Während die Leukozytenzahl und die Thrombozytenzahl konstant blieben, konnte bei den meisten Patienten innerhalb eines Monats ein signifikanter Anstieg der Erythropoiese gemessen werden. Der maximale Anstieg wurde nach zwei- bis drei-monatiger Therapieperiode verzeichnet. Nebenwirkungen, wie Übelkeit, Erbrechen und Anorexia, zeigten sich bei einer Dosierung von über 200 mg/d. Wurden täglich 100 mg Cobalt(II)-Chlorid nach dem Essen in Form von Tabletten eingenommen, traten diese gastrointestinalen Nebenwirkungen nicht mehr auf. Vier Patienten klagten über das Auftreten von Tinnitus nach einer Therapiedauer

von vier bis 16 Wochen. Bei einem aus dieser Gruppe fiel zusätzlich eine Minderung des Hörvermögens nach 12-wöchiger Therapie auf. In dem daraufhin angefertigten Audiogramm zeigte sich ein Hörverlust bei Frequenzen über 1000 Hz. Nachdem die Cobalttherapie für 10 Wochen abgesetzt wurde, konnte ein vollständiges Wiedererlangen des Hörvermögens auf die Ausgangswerte festgestellt werden. Nach erneutem Therapiebeginn trat wieder die gleiche Hörnervenschädigung auf, auch diesmal war der Hörverlust nach der Therapiebeendigung vollständig regredient (61).

g) Studien von Weißbecker et al.

Weißbecker aus der Universität zu Kiel veröffentlichte 1950 eine Zusammenfassung seiner 3-jährigen klinischen Erfahrung mit Cobalt als Therapeutikum (122). Laut seiner Aussage gelingt es am Gesunden, durch Cobaltgabe eine Vermehrung der Erythrozyten, des Hämoglobins, der Retikulozyten und des erythropoietischen Knochenmarks hervorzurufen. Bei entsprechender Dosierung konnte sogar eine leichte, reversible Polyglobulie beobachtet werden. Die orale Gabe von bis zu 500 mg Cobalt(II)-Chlorid führte zu akuten Vergiftungserscheinungen wie Nausea, Erbrechen und Kollaps, die laut Autor auf einer vagalen Reizantwort des Gastro-Intestinaltrakts beruhen. Hingegen wurden 100 mg Cobalt(II)-Chlorid über den ganzen Tag verteilt gelöst eingenommen meist gut vertragen. Intravenös in Dosen von 10 – 40 mg pro Tag bei langsamer Injektion verabreichtes Cobalt(II)-Chlorid löste nur wenige Nebenwirkungen aus. Als Cobaltlösung wurde eine 1% Stammlösung verwendet, welche wiederum mit Traubenzuckerlösung auf 0,3 - 0,5% verdünnt wurde. Gelegentlich kam es zu Nausea, Kopf- und Magenschmerzen. Bei Menstruation konnte die Cobalttherapie zu einer verstärkten Blutung führen. „Ernste“ Komplikationen seien bei seinen etwa 100 mit Cobalt behandelten Patienten nie vorgekommen. Bei allen Patienten wurde unter Cobaltgabe die Steigerung des systolischen Blutdrucks beobachtet. Daneben stellte Weißbecker durchblutungsfördernde und tonische Effekte des Cobalts fest (122).

Weißbecker empfahl die Cobalttherapie vor allem bei hypochromen Anämien und Infektanämien. Er berichtete auch von Erfolgen bei der Behandlung von perniziöser Anämie und Thalassaemia minor. Bei später durchgeführten Cobalttherapien verabreichte er ein bis zwei Mal täglich fünf mg Cobalt intramuskulär zusammen mit einem Aminosäure-Komplex. Diese Kombination soll eine langsame Dissoziation gewährleisten und das Auftreten von Nebenwirkungen verringern. Zusätzlich ergänzte er diese Therapie mit drei bis sechs Eisen-Cobaltpillen (fünf mg Cobalt pro Pille) täglich. Eine intramuskuläre Cobalt(II)-Chlorid-Injektion sei laut seinen Untersuchungen zu schmerzhaft für die Patienten gewesen (123).

h) Studie von Coles und James

Die Wirkung von Cobalt(II)-Sulfat zur Vermeidung von Frühgeborenenanämien wurde von Coles und James (124) untersucht. Sie teilten 126 Frühgeborene in vier Gruppen ein: Eine Kontrollgruppe, eine Gruppe, die jeweils 10 mg Cobalt(II)-Sulfat täglich für ein bis 12 Tage bekam, eine weitere Gruppe, deren Frühgeborenen 20 mg Cobalt(II)-Sulfat täglich für vier bis acht Wochen verabreicht wurde und eine letzte Gruppe, die jeweils 20 mg Cobalt(II)-Sulfat plus Eisen(II)-Sulfat erhielt, ebenfalls für vier bis acht Wochen. Die Ergebnisse zeigten, dass Cobalt für die Prävention von frühen Anämien bei Frühgeborenen eingesetzt werden kann. Als Eisen zusätzlich verabreicht wurde, war die Gefahr einer Eisenmangelanämie nach dem vierten Lebensmonat erheblich reduziert. Es wurden keine toxischen Effekte des Cobalts beobachtet (124).

i) Studie von Thedering

Thedering verwendete für seine Cobalttherapie organisches Cobalt(III)-Komplex, welches er intravenös verabreichte, das jeweils 20 - 30 mg Cobalt enthielt und mit Eisen versetzt wurde (49). Er behandelte damit Infekt-, Tumor- und renale Anämien. Außerdem hielt er diese Behandlung bei Eisenmangel-, Schwangerschafts- und Frühgeborenenanämie für sehr sinnvoll. Nach über 15-

jähriger Therapieerfahrung sei seiner Meinung nach diese Behandlung in den angegebenen Dosierungen nicht nur ungefährlich, sondern ausgesprochen wertvoll und wegen der positiven Therapieergebnisse überzeugend (49).

f) Studie von Duckham und Lee

Die von Duckham und Lee 1975 veröffentlichte Studie (125) untersuchte 12 nephrektomierte, dialysepflichtige, refraktär anämische Patienten, die für 12 Wochen mit täglich 25 - 50 mg Cobalt(II)-Chlorid behandelt wurden. Bei sechs Patienten wurde ein deutlicher Anstieg der Hämoglobinkonzentration (um 26 - 70%) festgestellt. Nach Absetzen der Cobalttherapie fiel der Hämoglobinwert wieder auf den Ausgangswert zurück. Bei vier Patienten konnte die Verabreichung von Bluttransfusionen verringert werden und drei Patienten hatten eine Verbesserung des Wohlbefindens. Ein Patient musste die Behandlung aufgrund von gastrointestinalen Beschwerden, drei weitere wegen anderer, nicht therapiebedingter Ursachen, abbrechen. Ebenfalls wurde der Verlauf der Serumcobaltkonzentrationen der Patienten über die 12 wöchige Therapiezeit untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass sich der Serumcobaltwert nach ungefähr acht Wochen Behandlung auf einem bestimmten Niveau, bei den untersuchten Patienten zwischen 40 und 100 µg Co pro dl Serum, stabilisierte. Die Konzentration fiel nach Beendigung der Behandlung schnell und nahezu exponentiell wieder ab. Bei einem Patienten war der Cobaltgehalt im Serum 12 Wochen, bei einem anderen 16 Monaten nach Therapieende nicht mehr messbar. Ein dritter Patient hatte nach einem Jahr noch einen erhöhten Serumcobaltwert (15 µg Cobalt / dl). Alle Patienten dieser Studie waren anephrisch. Bei sechs der acht Patienten, welche die Therapie nicht abbrachen, konnte eine Steigerung der Erythropoiese verzeichnet werden. Aufgrund dieser Studie wurde schlussgefolgert, dass Cobalt auch die extrarenale EPO-Produktion anregt und es so auch zu einer Steigerung der Erythrozytenbildung bei nephrektomierten Patienten nach Cobaltgabe kommt (125).

j) Studie von Kasanen et al.

Bei einer Studie von Kasanen et al. (126) wurden zahlreiche Blutwerte der wegen einer renalen Anämie mit Cobalt therapierten Patienten bestimmt. Dabei wurden die Werte vor und nach Cobalttherapie gemessen. 19 der 33 Patienten bekamen oral 20 mg Cobalt(II)-Chlorid verabreicht, die restlichen 14 Patienten 60 mg Cobalt(II)-Chlorid. Bei beiden Gruppen kam es zu einem Anstieg der roten Blutzellreihe im peripheren Blutbild. Das Hämoglobin stieg bei der geringeren Dosierung durchschnittlich von 7,9 g/dl auf 9,2 g/dl und bei der höheren Dosierung von 9,2 g/dl auf 10,7 g/dl. Die Zahl der Erythrozyten erhöhte sich durchschnittlich um 7% bei der Einnahme von 20 mg Cobalt(II)-Chlorid täglich, beziehungsweise um 14% bei 60 mg Cobalt(II)-Chlorid. Der maximale Anstieg der Retikulozytenzahl von 2,1% auf 3,8% wurde eine Woche nach Therapiebeginn gemessen. Anzeichen der Erythropoiesestimulation ließen sich mikroskopisch im Knochenmark-Aspirat erkennen. Der prozentuale Anteil von erythropoietischen Zellen stieg von 28,2% auf 31,1%. Lediglich bei der Hälfte der Patienten schlug die Therapie an. Nausea und Diarrhoe waren dabei die häufigsten Nebenwirkungen (126).

k) Studie von Bowie und Hurley

Bowie und Hurley (127) führten ebenfalls eine klinische Untersuchung zur Cobalttherapie bei dialysepflichtigen Patienten mit einer renalen Anämie durch. 14 Patienten wurde acht Wochen lang Cobalt(II)-Chlorid peroral verabreicht, wobei nach der Hälfte der Therapiezeit die Anfangsdosis von 25 mg auf 50 mg Cobalt(II)-Chlorid verdoppelt wurde. Bei den 11 der 14 Patienten, welche die Therapie beendeten, stieg nach der acht-wöchigen Therapie der Hämatokritwert um durchschnittlich 23% und die Erythrozytenzahl um 20% an. Dabei handelte es sich um eine kontinuierliche Erhöhung der Werte über die gesamte Therapiedauer. Die gemessene Halbwertszeit von Eisen im Plasma wurde am Ende der Therapie kürzer. Das bei neun Patienten vor und nach Therapie entnommene Knochenmark zeigte bei fünf Patienten nach der Cobalttherapie eine leicht erhöhte

Erythropoieseaktivität. Leber- oder Schilddrüsen-Dysfunktionen wurden nicht beobachtet. Bei einer, nach Therapieende durchgeführten Audiometrie stellte man bei drei Patienten eine bilaterale Hörminderung von mindestens 20 dB bei Frequenzen über 6000 Hz und von 5 dB bei Frequenzen unter 250 Hz fest. Einen Monat nach Therapieende waren die gemessenen Audiogramme wieder normwertig (127).

l) Studie von Robinson et al.

Robinson et al. (128) behandelten neun septische, infektanämische Patienten mit täglich 20 – 60 mg Cobalt(II)-Chlorid für einen Zeitraum von zwei bis sechs Wochen. Er konnte eine Erhöhung der roten Blutzellen, des Hämoglobin- und des Hämatokritwertes darstellen. Die Plasmaeisenkonzentration der Patienten wurde durch die Cobalttherapie nicht verändert. Zwei Patienten empfanden Appetitverlust während der Therapie, ansonsten kam es zu keinen Nebenwirkungen (128).

m) Studie von Wolf und Levy

Vier Patienten mit einer Sichelzellanämie wurden von Wolf und Levy (129) mit täglich 300 mg Cobalt(II)-Chlorid für sechs Wochen behandelt. Zusätzlich bekamen sie in den letzten zwei Wochen täglich 1,8 g Eisen verabreicht. Alle vier Patienten zeigten sowohl eine symptomatische als auch eine hämatologische Verbesserung ihrer Anämie. Der prozentuale Anteil der Sichelzellen unter den Blutzellen blieb unverändert. Als Nebenwirkung traten bei zwei Patienten gastrointestinale Irritationen auf, die jedoch nicht zu einem Therapieabbruch führten (129).

n) Studie von Schleisner

Die klinischen Ergebnisse von Schleisner (130) bei der Cobalttherapie von Patienten mit einer renalen Anämie ergaben bei zwei Drittel der Patienten einen Anstieg der Hämoglobinwerte um durchschnittlich 35% des ursprünglichen Wertes

vor der Behandlung. 15 Patienten wurde täglich 60 mg Cobalt(II)-Chlorid für einen unterschiedlich langen Zeitraum (1 bis 40 Wochen) verabreicht. Bei fünf Patienten konnte Übelkeit, bei einem Patienten Übelkeit mit Erbrechen beobachtet werden. Eine Patientin erlitt nach 40 wöchiger Therapie eine Hörminderung. Da die Patientin ein paar Tage nach Therapieabbruch wegen eines akuten Nierenversagens verstarb, konnte nicht überprüft werden ob die Hörminderung spontan rückgängig gewesen wäre (130).

o) Studie von Curtis et al.

In der Cobalttherapie-Studie von Curtis et al. (131) wurde hämodialysierten Patienten täglich jeweils 50 mg Cobalt(II)-Chlorid für drei Monate verabreicht. Bei einem dialysepflichtigen Patienten, der drei Monate nach Behandlung mit Cobalt(II)-Chlorid verstarb, ergaben Messungen in seinem Myokard eine Cobaltkonzentration, die 25-80 mal höher war als die in Kontrollgewebeproben. Die histologische Untersuchung seines Myokardgewebes ergab, dass er eine Kardiomyopathie entwickelt hatte. Ursache für die Kardiomyopathie könnte die toxische Wirkung des Cobalts gewesen sein. In der Studie traten bei vier Patienten Nausea und/oder Erbrechen auf. Ungefähr 50% der Patienten hatten einen Anstieg der Hämoglobinkonzentration von mehr als 1,0 g pro dl. Den tödlichen Vorfall nahmen Curtis et al. zum Anlass, um eine prospektive Studie durchzuführen, in der die Cobaltkonzentration im Blut bei hämodialysierten Patienten sowie bei einer gesunden Kontrollgruppe nach zwei wöchiger Gabe von Cobalt(II)-Chlorid untersucht und verglichen wurde. In beiden Gruppen fanden sich eine langfristige Erhöhung der Blutcobaltkonzentrationen, diese waren jedoch bei den Dialysepatienten sehr viel stärker ausgeprägt. Sechs Wochen nach Cobaltgabe normalisierten sich die Blutcobaltkonzentrationen bei beiden Gruppen. Außerdem wurden bei zwei Kontrollpersonen die mit dem Urin ausgeschiedenen Mengen von Cobalt nach einmaliger Verabreichung von 50 mg Cobalt(II)-Chlorid untersucht. Der höchste Gehalt an Cobalt im Urin wurde während der ersten beiden Tage gemessen (zwischen 5-8% der verabreichten Dosis). Die Autoren kamen

letztendlich zu dem Schluss, dass Cobalt angesichts der begrenzten therapeutischen Vorteile und der unvorhersehbaren Folgen bei langfristig erhöhten Blutcobaltkonzentration, nicht zur Behandlung von Anämien bei Patienten mit Nierenschäden angewandt werden sollte (131).

Tabelle 5: Klinische Studien zur therapeutischen Cobalt(II)-Chlorid-Gabe

Diagnose	n	Verab.	Dosis CoCl ₂	Therapieergebnis	Nebenwirkung	Referenz
renale Anämie	1	oral	100 mg/d für einen Monat	- Retikulozytenanteil ↑ (von 1,2 % auf 11,2%) - Erythrozytenzahl ↑ (2,3 auf 4,2 rote Blutzellen Mio/nl) - Hämoglobinwert ↑ (Anstieg von 9,1 auf 14,6 g/dl)	-	117
Anämien	107	oral	60 mg/d + 165 mg/d Eisen für 2-3 Monate	- bei 99 Patienten Verbesserung zu normalen Hämoglobinwerten; bei 8 Patienten nur leichte Verbesserung der Anämie	Verdauungsstörungen, eine Thrombose der A. mesenterica superior, eine Polyzythämie	118
Infektanämien	9	oral	20 – 60 mg/d für 11 Wochen	- Erythrozytenzahl ↑ (Ø 30%) - Hämoglobinwert ↑ (Ø 29%) - Hämatokritwert ↑	-	128
5 Fälle mit renaler Anämie; 2 Fälle mit Anämie bei rheumatoider Arthritis; 1 Fall mit Anämie bei Hodgkin Lymphom	8	oral	80 - 240 mg/d für 66-225 Tage	- Hämatokrit ↑ (Ø um 12 Prozentpunkte) - Erythrozytenzahl ↑ - Hämoglobinwert ↑	Übelkeit, Magenbeschwerden	121
renale Anämien	17	oral	50-200 mg/d für 4-44 Wochen	- Erythrozytenzahl ↑ um 10 - 80 % - Hämoglobinwert ↑ um 10 - 50% - Hämatokritwert ↑ um 5 - 17% Punkte	Übelkeit, Erbrechen, Anorexia bei Dosen über 100 mg/d, Tinnitus bei 4 Patienten; Hörminderung bei 1 Patienten	61
Anämien	ca. 100	oral; i.v.	100mg/d 10-40 mg/d	- Erythrozytenzahl ↑ - Hämoglobinwert ↑ - Retikulozyten ↑	Übelkeit, Erbrechen, Synkope, verstärkte Menstruationsblutung	122

Diagnose	n	Verab.	Dosis CoCl ₂	Therapieergebnis	Nebenwirkung	Referenz
Anämien bei nephrektomierten Patienten	12	oral	25-50 mg/d für 12 Wochen	bei 6 Patienten: Hämoglobinwert ↑ (26 - 70%) bei 2 Patienten: zweifelhafte Ergebnisse 4 Patienten: Therapieabbrecher	1 n: Nausea und Obstipation	125
renale Anämie	19	oral	10 mg /d für einen Monat	- Hämoglobin ↑ (Ø 16,4 %) - Erythrozytenzahl ↑ (Ø 6,9%)	Nausea, Diarrhoe	126
renale Anämie	14	oral	40 mg/d für einen Monat	- Hämoglobin ↑ (Ø 16,3%) - Erythrozytenzahl ↑ (Ø 13,6%) - Retikulozyten ↑ (Ø 11%)	Nausea, Diarrhoe	126
renale Anämie	15	oral	60 mg /d für 1 – 40 Wochen	-11 Patienten Hämoglobin ↑ (Ø 21 %) - 4 Patienten Hämoglobinwert unverändert	Nausea: 5 n; Hörminderung: 1 n; Erbrechen: 1 n	130
Aplasie der roten Blut-zellreihe	1	oral	200 mg/d für 6 Wochen	- Hämoglobin ↑	Nausea, Erbrechen	119
Anämie	17	oral	50 mg/d für 3-14 Wochen	- Hämoglobin ↑ (Anstieg zwischen 0,5 und 3,2 g/100ml)	1 n: Nausea, Erbrechen	132
renale Anämie bei dialysepflichtigen Patienten	23	oral	50 mg/d für 3 Monate	- Hämoglobin ↑ (bei 50% der Patienten Anstieg um mehr als 1g pro 100ml)	4 n: Nausea, Erbrechen 1 n: evtl. Kardiomyopathie mit Todesfolge	131
renale Anämie bei dialysepflichtigen Patienten	14	oral	25 mg/d für 4 Wochen 50 mg/d für weitere 4 Wochen	- Hämatokritwert ↑ (Ø 23%) - Erythrozytenzahl ↑ (Ø 20%)	3 von 14 n: Hörminderung 2 n: Nausea	127
Sichelzell-anämie	4	oral	300 mg/d für 6 Wochen	- Hämoglobin ↑ (Ø 40%)	2 n: Nausea, Erbrechen	129

n = Anzahl der Patienten; Verab. = Verabreichungsart

3.3.1.3 Zusammenfassung der klinischen Studien

Bei allen in dieser Arbeit dargestellten und zusammengefassten klinischen Studien konnte ein Erythropoiese steigernder Effekt von Cobalt beobachtet werden.

Die gewählte Dosierung der oralen Cobalt(II)-Chlorid-Gabe schwankte zwischen 40 und 500 mg täglich. Die Mehrzahl der Autoren befanden nach einigen Versuchsreihen eine mittlere Tagesdosis von 40 - 100 mg Cobalt(II)-Chlorid als ausreichend. Sämtliche Cobaltstudien zeigten ein dosisabhängiges Auftreten von Nebenwirkungen.

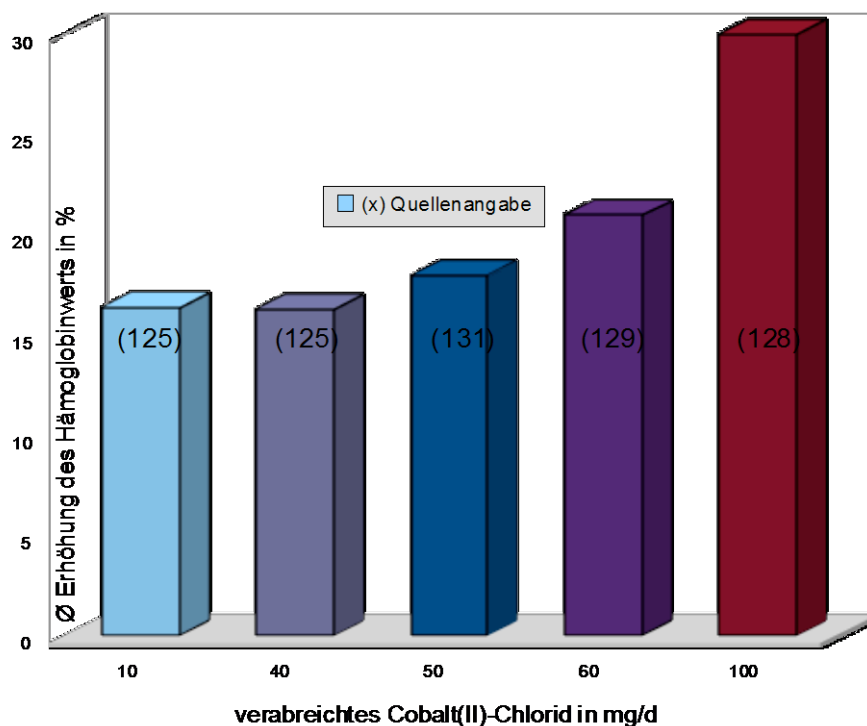
Die Verabreichungsdauer von Cobalt lag durchschnittlich bei etwa 10 Wochen, wobei die Varianz sehr groß war (1 - 44 Wochen).

Cobalt wurde meist peroral durch Tabletten verabreicht. Es gab jedoch auch in einigen Studien intravenöse Applikationen. Bei diesen kam es seltener zu gastrointestinalen Beschwerden, es wurden jedoch häufig Reizungen der Venen beobachtet.

Neben Cobalt(II)-Chlorid, welches mit Abstand die am häufigsten verabreichte Form von Cobalt war, wurde auch von Weißbecker Cobalt(II)-Chlorid intramuskulär injiziert (123).

Der Anstieg des Hämoglobinwerts der Patienten nach Cobalttherapie lag bei den meisten Studien zwischen 20% und 30%, bei einigen Patienten sogar deutlich über 30%. Die Studien zeigen, welch großes Potential Cobalt besitzt, die Sauerstofftransportkapazität im Blut zu vergrößern.

Abbildung 2: Durchschnittliche Erhöhung des Hämoglobinwertes nach Cobalttherapie bei verschiedenen klinischen Studien.



3.3.2 Nebenwirkungen bei der Cobalttherapie

Die schon teilweise in den Zusammenfassungen der Studien und im allgemeinen Einführungsabschnitt zu Cobalt angeklungenen Nebenwirkungen der Cobalttherapie werden hier speziell für die Cobalttherapie beim Menschen organspezifisch dargestellt.

a) Gastrointestinale Nebenwirkungen

Von zahlreichen Studienautoren wurde bei oraler Cobalt(II)-Chlorid Einnahme ihrer Patienten von auftretenden gastrointestinalen Nebenwirkungen berichtet (62, 121, 123, 125, 127, 129, 130, 131, 132, 133, 134). Diese waren mit Abstand die am häufigsten vorkommenden Nebenwirkungen. Zu den Symptomen gehören

Erbrechen, Übelkeit, Magenschmerzen, Obstipation und Diarrhoe.

b) Auditive Nebenwirkungen

Bei lange andauernden Therapieintervallen und der damit verbundenen relativ hohen Gesamtmenge an eingenommenem Cobalt wurde von einigen Autoren von einer Verminderung des Hörvermögens der Patienten berichtet (61, 125, 130, 134). Cobalt scheint bei deutlich erhöhten Cobaltserumkonzentrationen die Blut-Hirn-Schranke überwinden zu können und im ZNS neuronale Schädigungen hervorzurufen, welche zu einer neuronalen Hörminderung führen. Nach Beendigung der Cobalttherapie waren diese Hörminderungen bei allen Patienten wieder regredient.

c) Thyreoidale Nebenwirkungen

Kriss et al. (135) beobachteten bei fünf Patienten Schilddrüsenveränderungen während ihrer Cobalttherapie, darunter waren vier Kinder. Die Kinder wurden alle aufgrund einer Sichelzellanämie mit 30 bis 100 mg Cobalt(II)-Chlorid täglich über 14 - 30 Wochen behandelt. Dabei entwickelte ein zwölf jähriges Kind eine Struma 2. Grades, ein vier jähriges Mädchen eine Schilddrüsen-Hyperplasie, ein vier und ein sechs jähriger Junge eine Struma 3. beziehungsweise 4. Grades mit mikroskopisch gesicherter Schilddrüsen-Hyperplasie. Drei der vier Kinder hatten eine manifeste Hypothyreose und in einem Fall kam es zusätzlich zu einem Myxödem, welches stationär behandelt werden musste. Die erwachsene Studienperson wurde wegen einer renalen Anämie mit 60 bis 120 mg Cobalt(II)-Chlorid täglich über 14 Wochen behandelt. Hier trat eine mikroskopisch gesicherte Hyperplasie der Schilddrüse auf. Einige Wochen nach Beendigung der Therapie entwickelten sich die Strumae sowie die Funktionsstörungen der Schilddrüsen wieder zurück. Wegen der beobachteten toxischen Nebenwirkungen, die sich eindeutig auf die Cobaltbehandlung zurückführen ließen, warnen die Autoren in ihrer Veröffentlichung vor der leichtfertigen Verwendung von Cobalt zu

therapeutischen Zwecken (135).

In einem Fallbericht von Weaver et al. (136) wird ebenfalls von Schilddrüsenhyperplasien bei zwei acht Monate alten Säuglingen unter Cobalt(II)-Chlorid-Therapie (Roncovite®) berichtet. Ein Kleinkind bekam täglich 20 mg Cobalt(II)-Chlorid über zwei Monate aufgrund einer mikrozytären Anämie verabreicht. Sein Hämoglobinwert stieg in dieser Zeit um 60% an. Im selben Zeitraum entwickelte das Kind eine Geschwulst am Schilddrüsenisthmus, welche zu Dysphagien führte. Ihre Zwillingschwester wurde wegen derselben Erkrankung auf gleiche Art und Weise therapiert und es entwickelte sich ebenfalls eine thyreoidale Hyperplasie. Fünf Tage nachdem die Therapie beendet wurde, verkleinerte sich das Schilddrüsengewebe beider Zwillinge sichtbar. Nach zwei Monaten entwickelten sich die Schilddrüsen der Zwillinge wieder auf eine normale Größe zurück (136). Diese Fallberichte machen darauf aufmerksam, dass die orale Cobalt(II)-Chlorid-Einnahme vor allem bei Kleinkindern zu gefährlichen Schilddrüsenhyperplasien und zur Hypothyreose führen kann.

c) Neuronale Nebenwirkungen

Schirrmacher beschreibt in einem Fallbericht eine 35-jährige Patientin (134), die an einer chronischen Nephritis litt und wegen ihrer renalen Anämie mit 100 mg Cobalt(II)-Chlorid pro Tag behandelt wurde. Nach einiger Zeit berichtete die Patientin von Parästhesien der Lippen, von Taubheit und Krämpfen in den Beinen und Gangunsicherheit. Gleichzeitig stellte sie ein verschlechtertes Hörvermögen und eine langsam zunehmende Schwellung im Nackenbereich fest. Daraufhin wurde ein halbes Jahr nach Therapiebeginn die Cobalt(II)-Chlorid-Gabe eingestellt. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Patientin insgesamt etwa 18 g Cobalt(II)-Chlorid eingenommen. Die klinische Untersuchung der Patientin zeigte eine diffuse Schilddrüse ohne Zeichen einer Hypothyreose, eine bilaterale neuronale Hörminderung, einen fehlenden Tibialis-posterior-Reflex und einen Verlust des Vibrationsempfindens beider Beine. Im Urin konnten geringe Mengen an Albumin nachgewiesen werden. Während des stationären Aufenthaltes der Patientin im

Krankenhaus verbesserten sich die Symptome kontinuierlich. Nach einigen Wochen konnte sie wieder ohne Einschränkungen hören und laufen. Auch die Struma entwickelte sich fast vollständig zurück (134). Der Fallbericht ist ein warnendes Beispiel für die erheblichen toxischen Nebenwirkungen des Cobalts bei deutlich erhöhten Cobaltserumkonzentrationen. Aus dieser Studie ist zu schließen, dass vor allem Patienten mit einer verminderten renalen Clearance und somit auch einer verminderten renalen Cobaltausscheidung gefährdet sind, erhöhte Cobaltserumkonzentrationen zu erreichen.

d) Visuelle Nebenwirkungen

Lich et al. (59) berichten über einen 32-jährigen Patienten, der wegen einer Panzytopenie mit hyperzellulärem Knochenmark mit täglich bis zu 200 mg Cobalt(II)-Chlorid behandelt wurde. Die Therapie war in vier Behandlungsintervalle gegliedert, die jeweils 3-4 Monate andauerten und nach 3 Jahren abgeschlossen waren. Der Hämoglobinwert verbesserte sich unter der Therapie deutlich. Der Patient entwickelte jedoch neben Übelkeit und Erbrechen eine verminderte choroideale Durchblutung und eine Atrophie des Nervus opticus mit konsekutiver Visusverschlechterung (59).

e) Polyzythämien

Pharmakologische Dosen von Cobaltsalzen können eine Knochenmarkhyperplasie und eine Polyzythämie hervorrufen. Geill beschreibt das Auftreten von Polyzythämie durch die Behandlung eines Patienten mit Cobalt(II)-Chlorid (118). Polyzythämien wurden auch bei mit Cobaltstäuben ausgesetzten Hartmetallarbeitern in England beobachtet (137).

f) Letale Nebenwirkung

Außer den schon erwähnten Nebenwirkungen berichten Jacobziner und Raybin (138) über eine letale akute Cobaltvergiftung: Ein 19 Monate alter Junge wurde

nach versehentlicher, oraler Aufnahme von etwa 30 ml Cobalt(II)-Chlorid-Lösung zunächst zyanotisch und verstarb schließlich einige Stunden später. Selbst eine innerhalb von einer halben Stunde nach Aufnahme der Lösung durchgeführte gastrointestinale Lavage und eine notfallmedizinische Behandlung konnten das Kleinkind nicht retten. Die Autopsie ergab, dass die Magenmukosa einen dünnen Nekroseschleier aufwies, in der Leber, der Niere und der Milz waren deutlich erhöhte Cobaltkonzentrationen nachzuweisen. Es wurde vermutet, dass der Junge an einem akuten Multiorganversagen verstorben ist (138).

Tabelle 6: Nebenwirkungen bei oraler Cobalt(II)-Chlorid Therapie

Symptom	Fallzahl n	tägliche Dosis Cobalt(II)-Chlorid	Therapiedauer	Referenz
Erbrechen, Übelkeit	24 von 31 selten häufig 1 1 von 1 5 von 15 1 von 1 1 von 17 4 von 23 2 von 14 2 von 11	300 mg 80 - 240 mg 100 mg 25 - 50 mg 100 mg 60 mg 200 mg 50 mg 50 mg 25 – 50 mg 300 mg	< 4 Wochen 9-34 Wochen 9-44 Wochen 12 Wochen 26 Wochen 1-4 Wochen 6 Wochen 3 Monate 8 Wochen 6 Wochen	133 121 61 124 133 130 119 132 131 127 129
Tinnitus	4	50 - 150 mg	4-16 Wochen	61
Hörminderung/Taubheit	1 1 1 1 3/14	100 mg 100 mg 25 - 50 mg 60 mg 25 mg und 50 mg	12 Wochen 26 Wochen 40 Wochen 40 Wochen je für 4 Wochen	61 134 125 130 127
Neuropathie	1 1	400 mg 100 mg	6 Wochen 26 Wochen	61 134
Schilddrüsenhyperplasie und Hypothyreoidismus	5 (4 Kinder) 1 2 Kinder	30 - 100 mg 100 mg 20 mg	14 - 30 Wochen 26 Wochen 8 Wochen	135 134 136
Myxödem	1 Kind	40- 100 mg	12 Wochen	135
Visusverschlechterung, N. Optikusatrophie	1	bis zu 200 mg insgesamt über 2,5 Jahre 73 g	2,5 Jahre	59
Hautreaktionen: Urtikaria, Erythema	2 von 11	300 mg	6 Wochen	129
Polyzythämie	1	20 mg	2 – 3 Monate	117

n = Patientenzahl

4. Diskussion

4.1 Kann Cobalt als Dopingmittel missbraucht werden?

Erythrozyten bestehen zu 90% der Trockenmasse aus dem Sauerstoff bindenden Protein Hämoglobin. Der Anstieg der Erythrozytenzahl führt daher zu einer vergrößerten Sauerstofftransportkapazität des Blutes. Dies verhilft dem Körper direkt zu einer Steigerung der Leistungsfähigkeit. Führt man sich nun das an zahlreichen Tier- und Menschenstudien gezeigte erythropoiesesteigernde Potential von Cobalt vor Augen, so kann nur eine Schlussfolgerung gezogen werden: Cobalt ist zum Doping geeignet. Cobalt führt jedoch nicht nur durch die indirekte Induktion der Blutbildung, sondern auch durch andere physiologische Mechanismen (z.B. Erhöhung des VEGF) zu einer Leistungssteigerung. Bei einer Tierstudie mit zwei Gruppen gleich trainierter Ratten konnte bei der einen Gruppe durch Cobaltgabe eine Leistungssteigerung von 33% im Vergleich zur Kontrollgruppe, die kein Cobalt erhielt, erzielt werden (92).

Aufgrund der Tatsache, dass Cobalt noch nicht auf der Liste verbotener Substanzen der World Anti-Doping Agency (WADA) steht, stellt es für Sportler eine verlockende Substanz zur Leistungssteigerung dar. Die Cobalteinnahme könnte für Athleten eine attraktive Alternative zum EPO Blutdoping sein, um die Blutsauerstofftransportfähigkeit zu erhöhen. Auch Lippi et al. (100, 139) machten bereits im Jahr 2005 auf diese Thematik aufmerksam. Die Autoren betonten, dass erhebliche Anzeichen bestehen, die bereits auf die Verwendung von Cobalt als Nahrungsergänzungsmittel bei Athleten hinweisen. Auch erhöhte Cobaltserumwerte sollen gelegentlich schon gemessen worden sein (100, 139). Noch dazu ist Cobalt(II)-Chlorid als simple chemische Substanz einfach zu beschaffen, frei zu erwerben und sehr preisgünstig. Auch in der Bodybuildingszene wird Cobalt als geeignetes Nahrungsergänzungsmittel für die Erhöhung der Leistungsfähigkeit angepriesen (140).

Der durch Janda et al. (109) gezeigte Effekt, dass mit Cobalt therapierte Mäuse bei gleichzeitiger Testosterongabe die körpereigene EPO Produktion noch weiter steigern können, ist ein verlockender Hinweis für die kombinierte Anwendung von

Cobalt und anderen, schon etablierten Dopingmitteln zur Leistungssteigerung im Spitzensport.

4.2 Folgen von Cobaltmissbrauch als Dopingmittel

Vergegenwärtigt man sich die möglichen Nebenwirkungen von Cobalt, zeigt sich, dass die Substanz ein sehr gefährliches, gesundheitsschädigendes Mittel für all diejenigen ist, die es unkontrolliert einnehmen. So sind nicht nur die zahlreichen, bei dieser Arbeit dargestellten, direkten toxischen Wirkungen von Cobaltsalzen zu beachten, sondern auch seine indirekten Nebenwirkungen. Denn durch die steigernde Wirkung auf die Erythropoiese entsteht eine Zunahme des Hämatokritwertes, was wiederum die Blutviskosität und damit den periphere Strömungswiderstand („cardiac afterload“) erhöht. Dies kann zu Mikrozirkulationsstörungen und zu einer erhöhten Thrombosegefahr führen (9). Athleten, die meist ohne ein ausreichendes Wissen über Nebenwirkungen, Substanzen zur Leistungsförderung einnehmen, müssen unbedingt auf die Gefahren der Cobalteinnahme aufmerksam gemacht werden und vor ihnen geschützt werden.

Bisher gibt es noch keine ausreichend gut definierten toxischen Konzentrationsgrenzen für Cobalt im Blut oder im Serum. Bei Einhaltung des für Arbeiter empfohlenen biologischen Arbeitsplatzgrenzwert von 15 µg Co/g (Kreatinin) im Urin scheinen, nach bisherigen Studien (57), keine toxischen Effekte von Cobalt aufzutreten. Trotzdem ist große Vorsicht beim Umgang mit Cobalt geboten. Das größte Nebenwirkungspotential scheint Cobalt bei deutlich erhöhten Konzentrationen im menschlichen Organismus zu haben. Bedenklicherweise ziehen manche Sportler einen fatalen Schluss: Wenn eine geringe Menge einer Substanz gute Effekte auslöst, so muss eine größere Menge davon noch bessere Effekte auslösen, so die fehlgeleitete Logik. Auch werden häufig bei der Einnahme von „natürlichen“ Substanzen wie Cobalt(II)-Chlorid die Nebenwirkungen unterschätzt. Diese Fehleinschätzung kann zu einer Einnahme von unkontrolliert hohen Mengen von Cobalt(II)-Chlorid führen. Dies stellt eine große Gefahr bei der Einnahme von Cobalt(II)-Chlorid mit unvorhersehbaren Folgen dar. Sportler sollten

davor unbedingt geschützt und gewarnt werden.

4.3 Sollte Cobalt in die WADA-Antidopingliste aufgenommen werden?

Betrachtet man die bei dieser Arbeit herausgearbeiteten Gefahren und Effekte der Cobalteinnahme für Sportler, besteht die eindeutige Notwendigkeit, Cobalt in die WADA Verbotsliste aufzunehmen nicht nur aus Gründen der unerlaubten pharmakologischen Leistungssteigerung und Wettbewerbsverzerrung, sondern auch, um die Sportler vor möglichen Nebenwirkungen zu schützen. Gleichzeitig wäre ein Cobaltverbot im Spitzensport eine geeignete Maßnahme, um vor einer leichtsinnigen Cobalteinnahme im Amateur- und Freizeitsport zu warnen. Untersuchungen haben gezeigt, dass viele Athleten Nahrungsergänzungsmittel wie Cobalt nur aufgrund von privaten Empfehlungen einnehmen ohne sich genauere Informationen über diese Substanz zu beschaffen. Die Substanzen können problemlos direkt im Internet bestellt werden (141). Dies zeigt deutlich, dass man nicht von einer Eigenverantwortlichkeit der Sportler gegenüber ihrer Gesundheit in Bezug auf die Ablehnung, die Auswahl und die Dosierung von leistungssteigernden Substanzen ausgehen kann. Vielmehr sind die Athleten, fixiert auf die zu erbringenden Leistungen und Ergebnisse, relativ leicht beeinflussbar.

4.4 Detektion von Cobaltmissbrauch

Zur Detektion des Cobaltmissbrauchs könnte die Cobalkonzentration im Urin und im Plasma der Athleten untersucht werden. Die gemessenen Werte müssten dann mit den physiologischen Referenzwerten (Urin: unter 2 µg Co/l; Plasma: 0,1-0,5 µg Co/l) verglichen werden. Abweichend hohe Werte wären ein deutlicher Hinweis auf einen vorliegenden Cobaltmissbrauch. Leider sind die Serum- bzw. Urinkonzentrationen nach der Cobalteinnahme nur für einen relativ kurzen Zeitraum oberhalb des Detektionslimits (Tage bis wenige Wochen). Verfolgt man nach oraler Cobaltaufnahme die Konzentrations-Zeit-Kurve, so ist die Absorptions-Halbwertszeit 0,9 Stunden und die Ausscheidungshalbwertszeit 22,9 Stunden

(142).

Da jedoch Cobalt auch im menschlichen Körper in roten Blutzellen aufgenommen wird und es irreversibel während der etwa 120 täglichen Lebenszeit der Zelle in ihr am Globin des Hämoglobins gebunden bleibt (84), wäre der Cobaltgehalt in der roten Blutzelle eventuell ein besserer, da länger nachweisbarer und schlechter manipulierbarer Parameter zur Detektion des Cobaltmissbrauchs, als der Serum- oder der Urinspiegel von Cobalt. Hier gilt es, eine geeignete Methodik zur Detektion von Cobalt in Athletenproben zu entwickeln, welche bei Dopingkontrollen angewendet werden könnte.

5. Zusammenfassung

Sportler nutzen Dopingmittel, um ihre Leistungsfähigkeit zu vergrößern. Insbesondere die Anwendung von Blutdoping wurde in den letzten 30 Jahren perfektioniert. Dabei kam es vor allem zur missbräuchlichen Anwendung von Erythropoietin (EPO), um den Hämoglobinwert zu erhöhen. Cobalt und seine Derivate stabilisieren und aktivieren die Hypoxie induzierbaren Faktoren (HIF) und führen dadurch unter anderem zu der Stimulation der EPO-Synthese. Zu den Translationsprodukten der HIF-abhängigen Zielgene gehören neben EPO, noch einige andere Proteine (u.a. Transferrin, VEGF, GLUT-1, GLUT-3). Cobalt und seine Derivate können oral eingenommen werden, sind preisgünstig und stehen nicht auf der WADA-Liste verbotener Substanzen. Deshalb stellt Cobalt für Sportler eine attraktive Alternative zu klassischen Blut-Doping-Substanzen dar. Cobalt(II)-Chlorid wurde bereits Mitte des 20. Jahrhunderts erfolgreich zur Anämietherapie eingesetzt. Aus dieser Zeit stammen zahlreiche Studien zum Einsatz von Cobalt am Menschen. In der vorliegenden Arbeit wurde mit den Suchbegriffen „doping“, „blood-doping“, „cobaltchloride“, „cobalt“, „erythropoiesis“, „epo“, „erythropoietin“, „anaemia“, „side-effects“, „improvement in performance“, „hif“ und „treatment“ eine Literaturrecherche durchgeführt, um das Wirkungs- und Nebenwirkungspotential von Cobalt herauszuarbeiten. Dabei konnte festgestellt werden, dass die tägliche orale Einnahme von etwa 50-200 mg Cobalt(II)-Chlorid über mehrere Wochen beim Menschen zu einem durchschnittlichen Hämoglobinkonzentrationsanstieg von etwa 20% führt. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Einnahme von Cobalt zu zahlreichen Nebenwirkungen führen kann, die vor allem bei der Aufnahme von relativ großen Cobaltmengen unvorhersehbar und schwerwiegend sein können. Zu den häufigsten Nebenwirkungen gehören gastrointestinale Beschwerden, Kardiomyopathien, neuronale Schädigungen des zentralen und des peripheren Nervensystems, Schilddrüsen-Veränderungen, aber auch genotoxische und zytotoxische Effekte. Daher sollten Athleten von dem Cobaltmissbrauch Abstand nehmen und konsequenterweise Cobalt in die WADA Verbotsliste aufgenommen werden.

6. Literaturverzeichnis

1. <http://www.hyperkommunikation.ch/lexikon/doping.htm> (5.2.2013)
2. Verroken M. Drug use and abuse in sport. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 14: 1-23; 2000
3. Finley MI, Pleket HW. The Olympic Games: The First Thousand Years. Dover Publications, Mineola, 1976
4. Schanzer W, Thevis M. Doping in sport. Med Klin 102: 631-646; 2007
5. <http://www.wada-ama.org>, (5.2.2013)
6. Lundby C, Robach P, Saltin B. The evolving science of detection of 'blood doping'. Br J Pharmacol 165: 1306-1315; 2012
7. Congeni J, Miller S. Supplements and drugs used to enhance athletic performance. Pediatr Clin North Am 49: 435-461; 2002
8. Catlin DH, Hatton CK, Lasne F. Abuse of recombinant erythropoietins by athletes Erythropoietins and Erythropoiesis. In: Molineux G, Foote MA, Elliott SG: Erythropoietins and Erythropoiesis, 205-228, Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Berlin, 2003
9. Jelkmann W, Lundby C. Blood doping and its detection. Blood 118: 2395-2404; 2011

10. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activité hémopoétique des différents organes au cours de la régénération du sang. CR Acad Sci Paris 143: 432-435; 1906
11. Bonsdorff E, Jalavisto E. A humoral mechanism in anoxic erythrocytosis. Acta Physio Scand 16: 150–170; 1984
12. Erslev A. Humoral regulation of red cell production. Blood 8: 349-357; 1953
13. Goldwasser E. Erythropoietin: a somewhat personal history. Perspect Biol Med 40: 18-32; 1996
14. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin. Intern Med 43: 649-659; 2004
15. Lin F. DNA sequences encoding erythropoietin. US-Patent 4,703,008; 1984
16. Fallahi A, Ravasi A, Farhud D. Genetic doping and health damages. Iran J Public Health 40: 1-14; 2011
17. Jelkmann W. Erythropoiesis stimulating agents and techniques: a challenge for doping analysts. Curr Med Chem 16: 1236-1247; 2009
18. Stockmann C, Fandrey J. Hypoxia-induced erythropoietin production: a paradigm for oxygen-regulated gene expression. Clin Exp Pharmacol Physiol 33: 968-979; 2006
19. Scientific Opinion on the use of cobalt compounds as additives in animal nutrition. EFSA J 7: 45-47; 2009

20. Jelkmann W. The disparate roles of cobalt in erythropoiesis and doping relevance. *Open J Hematol* 4: 3-6; 2012

21. Barceloux DG. Cobalt. *J Toxicol Clin Toxicol* 37: 201-206; 1999

22. Donaldson JD, Beyersmann D. Cobalt and Cobalt Compounds. In: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 429-465, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2005

23. Leblanc JC. Dietary exposure estimates of 18 elements from the 1st French Total Diet Study. *Food Addit Contam* 22: 624-641; 2005

24. Baars AJ, Theelen PJCM, Janssen JM, van Apeldorn ME, Meijrink MCM, Verdam L, Zeilmaker MJ. Re-evaluation of Human-toxicological Maximum Permissible Risk Levels. RIVM Report 711701 025. National Institute of Public Health and the Environment. Bilthoven, Niederlande, 2001

25. Smith T, Edmonds CJ, Barnaby CF. Absorption and retention of cobalt in man by whole-body counting. *Health Phys* 22: 359-367; 1972

26. Taylor A, Marks V. Cobalt: a review. *J Hum Nutr* 32: 165-177; 1978

27. Schade SG, Felsher BF, Bernier GM, Conrad ME. Interrelationship of cobalt and iron absorption. *J Lab Clin Med* 75: 435- 441; 1970

28. Thomson AB, Valberg LS, Sinclair DG. Competitive nature of the intestinal transport mechanism for cobalt and iron in the rat. *J Clin Invest* 50: 2384-2394; 1971

29. Nandedkar AK, Hong MS, Friedberg F. Co²⁺ binding by plasma albumin. *Biochem Med* 9: 177-183; 1974
30. Jansen HM, Knollema S, van der Duin LV, Willemsen AT, Wiersma A, Franssen EJ, et al. Pharmacokinetics and dosimetry of cobalt-55 and cobalt-57. *J Nucl Med* 37: 2082-2086; 1996
31. Christensen JM, Poulsen OM, Thomsen M. A short-term cross-over study on oral administration of soluble and insoluble cobalt compounds: sex differences in biological levels. *Int Arch Occup Environ Health* 65: 233-240; 1993
32. Edel J, Pozzi G, Sabbioni E, Pietra R, Devos S. Metabolic and toxicological studies on cobalt. *Sci Total Environ* 150: 233-244; 1994
33. Scientific Opinion on safety and efficacy of cobalt compounds (E3) as feed additives for all animal species: Cobaltous acetate tetrahydrate, basic cobaltous carbonate monohydrate and cobaltous sulphate heptahydrate 10: 27-29; 2012
34. Simonsen LO, Harbak H, Bennekou P. Cobalt metabolism and toxicology--a brief update. *Sci Total Environ* 432: 210-215; 2012
35. Alexandersson R. Blood and urinary concentrations as estimators of cobalt exposure. *Arch Environ Health* 43: 299-303; 1988
36. Moller H. Intradermal testing in doubtful cases of contact allergy to metals. *Contact Dermatitis* 20: 120-123; 1989
37. Cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 86: 1-294; 2006

38. Roto P. Asthma, symptoms of chronic bronchitis and ventilatory capacity among cobalt and zinc production workers. Scand J Work Environ Health 6: 1-49; 1980
39. Scherrer M, Maillard JM. Hard metal pneumopathies. Schweiz Med Wochenschr 112: 198-207; 1982
40. Shirakawa T, Kusaka Y, Fujimura N, Goto S, Morimoto K. The existence of specific antibodies to cobalt in hard metal asthma. Clin Allergy 18: 451-460; 1988
41. Sauni R, Linna A, Oksa P, Nordman H, Tuppurainen M, Uitti J. Cobalt asthma-a case series from a cobalt plant. Occup Med 60: 301-306; 2010
42. Kusaka Y, Iki M, Kumagai S, Goto S. Epidemiological study of hard metal asthma. Occup Environ Med 53: 188-193; 1996
43. Hamilton EI. The geobiochemistry of cobalt. Sci Total Environ 150: 7-39; 1994
44. http://www.umwelt-online.de/recht/t_regeln/trgs/trgs900/901/an12.htm, (5.2.2013)
45. Fischer T, Rystedt I. Hand eczema among hard-metal workers. Am J Ind Med 8: 381-394; 1985
46. Thomas P, Thomsen M. Implant allergies. Hautarzt 61: 255-261; 2010

47. Eben R, Nerz N, Schneider S, Schuh A, Banke IJ, Mazoochian F, Thomas P. Kontaktallergiearten gegen Metalle und Knochenzementbestandteile bei Patienten mit Endoprothesenunverträglichkeit. Dtsch med Wochenschr 135: 1418-1422; 2010
48. Lison D. Human toxicity of cobalt-containing dust and experimental studies on the mechanism of interstitial lung disease (hard metal disease). Crit Rev Toxicol 26: 585-616; 1996
49. Thedering F. Is there still an indication today for iron-cobalt therapy. Med Welt 36: 2087-2091; 1967
50. Alexander CS. Cobalt-beer cardiomyopathy. A clinical and pathologic study of twenty-eight cases. Am J Med 53: 395-417; 1972
51. Morin Y, Daniel P. Quebec beer-drinkers' cardiomyopathy: etiological considerations. Can Med Assoc J 97: 926-928; 1967
52. Seghizzi P, D'Adda F, Borleri D, Barbic F, Mosconi G. Cobalt myocardiopathy. A critical review of literature. Sci Total Environ 150: 105-109; 1994
53. Mohiuddin SM, Taskar PK, Rheault M, Roy PE, Chenard J, Morin Y. Experimental cobalt cardiomyopathy. Am Heart J 80: 532-543; 1970
54. Roy PE, Bonenfant JL, Turcot L. Thyroid changes in cases of Quebec beer drinkers myocardosis. Am J Clin Pathol 50: 234-239; 1968

55. Sabbioni E, Pietra R, Bianchi C, Bertanza C, Mistura L. Cobalt-induced hyperthyroidism, cardiomyopathy, polycythemia, and hypertrichosis in an Infant. *J Trace Elem Exp Med* 2: 311-319; 1989
56. Lauwerys R, Lison D. Health risks associated with cobalt exposure-an overview. *Sci Total Environ* 150: 1-6; 1994
57. Lantin AC, Mallants A, Vermeulen J, Speybroeck N, Hoet P, Lison D. Absence of adverse effect on thyroid function and red blood cells in a population of workers exposed to cobalt compounds. *Toxicol Lett* 201: 42-46; 2011
58. Steens W, Loehr JF, von Foerster G, Katzer A. Chronic cobalt poisoning in endoprosthetic replacement. *Orthopade* 35: 860-864; 2006
59. Licht A, Oliver M, Rachmilewitz EA. Optic atrophy following treatment with cobalt chloride in a patient with pancytopenia and hypercellular marrow. *Isr J Med Sci* 8: 61-66; 1972
60. Meecham HM, Humphrey P. Industrial exposure to cobalt causing optic atrophy and nerve deafness: a case report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54: 374-375; 1991
61. Gardner FH. The use of cobaltous chloride in the anemia associated with chronic renal disease. *J Lab Clin Med* 41: 56-64; 1953
62. Jefferson JA, Escudero E, Hurtado ME, Pando J, Tapia R, Swenson ER, et al. Excessive erythrocytosis, chronic mountain sickness, and serum cobalt levels. *Lancet* 359: 407-408; 2002

63. Robison SH, Cantoni O, Costa M. Strand breakage and decreased molecular weight of DNA induced by specific metal compounds. *Carcinogenesis* 3: 657-662; 1982
64. Nackerdien Z, Kasprzak KS, Rao G, Halliwell B, Dizdaroglu M. Nickel(II)- and cobalt(II)-dependent damage by hydrogen peroxide to the DNA bases in isolated human chromatin. *Cancer Res* 51: 5837-5842; 1991
65. Kawanishi S, Inoue S, Yamamoto K. Active oxygen species in DNA damage induced by carcinogenic metal compounds. *Environ Health Perspect* 3: 17-20; 1994
66. Keegan GM, Learmonth ID, Case CP. A systematic comparison of the actual, potential, and theoretical health effects of cobalt and chromium exposures from industry and surgical implants. *Crit Rev Toxicol* 38: 645-674; 2008
67. De Boeck M, Lison D, Kirsch-Volders M. Evaluation of the in vitro direct and indirect genotoxic effects of cobalt compounds using the alkaline comet assay. Influence of interdonor and interexperimental variability. *Carcinogenesis* 19: 2021-2029; 1998
68. Zou W, Yan M, Xu W, Huo H, Sun L, Zheng Z, et al. Cobalt chloride induces PC12 cells apoptosis through reactive oxygen species and accompanied by AP-1 activation. *J Neurosci Res* 64: 646-653; 2001
69. Miller AC, Mog S, McKinney L, Luo L, Allen J, Xu J, et al. Neoplastic transformation of human osteoblast cells to the tumorigenic phenotype by heavy metal-tungsten alloy particles: induction of genotoxic effects. *Carcinogenesis* 22: 115-125; 2001

70. Van Goethem F, Lison D, Kirsch-Volders M. Comparative evaluation of the in vitro micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis assay for the detection of DNA damaging agents: genotoxic effects of cobalt powder, tungsten carbide and cobalt-tungsten carbide. *Mutat Res* 392: 31-43; 1997
71. Kasprzak KS, Zastawny TH, North SL, Riggs CW, Diwan BA, Rice JM, et al. Oxidative DNA base damage in renal, hepatic, and pulmonary chromatin of rats after intraperitoneal injection of cobalt(II) acetate. *Chem Res Toxicol* 7: 329-335; 1994
72. Goldwasser E, Jacobson LO, Fried W, Plzak LF. Studies on erythropoiesis. V. The effect of cobalt on the production of erythropoietin. *Blood* 13: 55-60; 1958
73. Suzuki Y, Shimizu H, Nagae Y, Fukumoto M, Okonogi H, Kadokura M. Micronucleus test and erythropoiesis: effect of cobalt on the induction of micronuclei by mutagens. *Environ Mol Mutagen* 22: 101-106; 1993
74. Farah. The in vivo effect of cobalt chloride on chromosomes. *Revista brasileira de genética* 6: 433-442; 1983
75. Palit S, Sharma A, Talukder G. Chromosomal aberrations induced by cobaltous chloride in mice in vivo. *Biol Trace Elem Res* 29: 139-145; 1991
76. Gennart JP, Baleux C, Verellen-Dumoulin C, Buchet JP, De Meyer R, Lauwerys R. Increased sister chromatid exchanges and tumor markers in workers exposed to elemental chromium-, cobalt- and nickel-containing dusts. *Mutat Res* 299: 55-61; 1993

77. Lison D, De Boeck M, Verougstraete V, Kirsch-Volders M. Update on the genotoxicity and carcinogenicity of cobalt compounds. *Occup Environ Med* 58: 619-625; 2001
78. Rousseau MC, Straif K, Siemiatycki J. IARC carcinogen update. *Environ Health Perspect* 113: A580-A581; 2005
79. Mur JM, Moulin JJ, Charruyer-Seinerra MP, Lafitte J. A cohort mortality study among cobalt and sodium workers in an electrochemical plant. *Am J Ind Med* 11: 75-81; 1987
80. Webb M. The Biological Action of Cobalt and Other Metals. Iv. Inhibition of Alpha-Oxoglutarate Dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta* 89: 43-446; 1964
81. Akbar M, Brewer JM, Grant MH. Effect of chromium and cobalt ions on primary human lymphocytes in vitro. *J Immunotoxicol* 8: 140-149; 2011
82. Lloyd DR, Phillips DH, Carmichael PL. Generation of putative intrastrand cross-links and strand breaks in DNA by transition metal ion-mediated oxygen radical attack. *Chem Res Toxicol* 10: 393-400; 1997
83. Kwon YM, Xia Z, Glyn-Jones S, Beard D, Gill HS, Murray DW. Dose-dependent cytotoxicity of clinically relevant cobalt nanoparticles and ions on macrophages in vitro. *J Bone Joint Surg Br* 92: 617; 2010
84. Simonsen LO, Brown AM, Harbak H, Kristensen BI, Bennekou P. Cobalt uptake and binding in human red blood cells. *Blood Cells Mol Dis* 46: 266-276; 2011

85. Woehler F, Koernig D. On the influence of ascorbic acid, cobalt, and metabolism products of symbions from normal intestinal flora on iron absorption. *Arzneimittelforschung* 14: 953-962; 1964
86. Maxwell P, Salnikow K. HIF-1: an oxygen and metal responsive transcription factor. *Cancer Biol Ther* 3: 29-35; 2004
87. Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 12: 5447-5454; 1992
88. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 270: 1230-1237; 1995
89. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol* 589: 1251-1258; 2011
90. Bruegge K, Jelkmann W, Metzen E. Hydroxylation of hypoxia-inducible transcription factors and chemical compounds targeting the HIF-alpha hydroxylases. *Curr Med Chem* 14: 1853-1862; 2007
91. Wenger RH, Stiehl DP, Camenisch G. Integration of oxygen signaling at the consensus HRE. *Sci STKE* 306: 12; 2005
92. Saxena S, Shukla D, Khan YA, Singh M, Bansal A, Sairam M, et al. Hypoxia preconditioning by cobalt chloride enhances endurance performance and protects skeletal muscles from exercise-induced oxidative damage in rats. *Acta Physiol (Oxf)* 200: 249-263; 2010

93. Suzuki J. Time-course changes in VEGF expression and capillarity in the early stage of exercise training with Co treatment in rat skeletal muscles. *Acta Physiol Scand* 181: 225-232; 2004
94. Goldwasser E, Jacobson LO, Fried W, Plzak L. Mechanism of the erythropoietic effect of cobalt. *Science* 125: 1085-1086; 1957
95. Jelkmann W. Erythropoietin after a century of research: younger than ever. *Eur J Haematol* 78: 183-205; 2007
96. Torii S, Kurihara A, Li XY, Yasumoto K, Sogawa K. Inhibitory effect of extracellular histidine on cobalt-induced HIF-1 α expression. *J Biochem* 149: 171-176; 2011
97. Yuan Y, Beitner-Johnson D, Millhorn DE. Hypoxia-inducible factor 2 α binds to cobalt in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 288: 849-854; 2001
98. Kanaya K, Kamitani T. pVHL-independent ubiquitination of HIF1 α and its stabilization by cobalt ion. *Biochem Biophys Res Commun* 306: 750-755; 2003
99. Yuan Y, Hilliard G, Ferguson T, Millhorn DE. Cobalt inhibits the interaction between hypoxia-inducible factor- α and von Hippel-Lindau protein by direct binding to hypoxia-inducible factor- α . *J Biol Chem* 278: 15911-15916; 2003
100. Lippi G, Franchini M, Guidi GC. Blood doping by cobalt. Should we measure cobalt in athletes? *J Occup Med Toxicol* 1: 18; 2006
101. Jelkmann W. HIF-Stabilisatoren in Forschung und Klinik. *MedReport* 34: 10; 2006

102. Waltner K. Kobalt und Blut. Klin Wschr 8: 313; 1929
103. Fischer E. Effect of liver extracts on cobalt therapy of experimental anemia in animals. Z Gesamte Exp Med 118: 483-488; 1952
104. Saikkonen J, Marttinen E. Reactivation of erythropoiesis by cobalt after radiation injury. Blood 21: 39-50; 1963
105. Ohtomo S, Nangaku M, Izuhara Y, Takizawa S, Strihou CY, Miyata T. Cobalt ameliorates renal injury in an obese, hypertensive type 2 diabetes rat model. Nephrol Dial Transplant 23: 1166-1172; 2008
106. Bartelheimer EW. Differences in the toxic and cyanide-antagonistic effectiveness of cobalt chelating compounds (Co-histidine and Co₂ EDTA). Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol 243: 254-268; 1962
107. Bastian G, Mercker H. On the problem of the expediency of inhalation of amyl nitrite in the therapy of cyanide poisoning. Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol 237: 285-295; 1959
108. Dalhamn T, Lindgren P. A vasodilator effect of cobalt. Cardiologia 23: 45-48; 1953
109. Janda WE, Fried W, Gurney CW. Combined effect of cobalt and testosterone on erythropoiesis. Proc Soc Exp Biol Med 120: 443-446; 1965

110. Xi L, Taher M, Yin C, Salloum F, Kukreja RC. Cobalt chloride induces delayed cardiac preconditioning in mice through selective activation of HIF-1alpha and AP-1 and iNOS signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H2369-H2375; 2004
111. Wolters HG. Effect of cobalt on erythropoiesis. *Blut* 21: 105-117; 1970
112. Caplan RM, Block WD. Experimental production of hyperlipemia in rabbits by cobaltous chloride. *J Invest Dermatol* 40: 199-203; 1963
113. Becker DE, Smith SE. The level of cobalt tolerance in yearling sheep. *J Anim Sci* 10: 266-271; 1951
114. Cartwright GE. Dietary factors concerned in erythropoiesis. *Blood* 2: 256-298; 1947
115. Dunn K, Ely R, Huffman C. Alleviation of cobalt toxicity in calves by methionine administration. *J Anim Sci* 11: 326; 1952
116. Robscheit-Robbins FS, Whipple GH. Copper and cobalt related hemoglobin production in experimental anemia. *J Exp Med* 75: 481-487; 1942
117. Seaman AJ, Koler RD. Acquired erythrocytic hypoplasia: a recovery during cobalt therapy; report of two cases with review of the literature. *Acta Haematol* 9: 153-171; 1953
118. Geill T. On the treatment of the nephrogenic anaemias with a combined cobalt-iron preparation. *Gerontol Clin (Basel)* 11: 48-55; 1969

119. Voyce MA. A case of pure red-cell aplasia successfully treated with cobalt. Br J Haematol 9: 412-418; 1963

120. Fountain JR, Dales M. Pure redcell aplasia successfully treated with cobalt. Lancet 268: 541-543; 1955

121. Weinsaft PP, Bernstein LH. Cobaltous chloride in the treatment of certain refractory anemias. Am J Med Sci 230: 264-269; 1955

122. Weißbecker L. Die Kobalttherapie. Dtsch Med Wochenschr 75: 116-118; 1950

123. Weißbecker L. Neue Möglichkeiten der Kobalttherapie. Klin Wschr 29: 80-82; 1951

124. Coles BL, James U. The effect of cobalt and iron salts on the anaemia of prematurity. Arch Dis Child 29: 85-96; 1954

125. Duckham JM, Lee HA. The treatment of refractory anaemia of chronic renal failure with cobalt chloride. Q J Med 45: 277-294; 1976

126. Kasanen A, Kulonen M, Forsstrom J. Oral cobalt therapy in renal anemia. Ann Med Intern Fenn 52: 43-48; 1963

127. Bowie EA, Hurley PJ. Cobalt chloride in the treatment of refractory anaemia in patients undergoing long-term haemodialysis. Aust N Z J Med 5: 306-314; 1975

128. Robinson JC, James GW, 3rd, Kark RM. The effect of oral therapy with cobaltous chloride on the blood of patients suffering with chronic suppurative infection. *N Engl J Med* 240: 749-753; 1949
129. Wolf J, Levy IJ. Treatment of sickle cell anemia with cobalt chloride. *AMA Arch Intern Med* 93: 387-396; 1954
130. Schleisner P. Cobalt in anaemia. *Acta Med Scand* 154: 177-185; 1956
131. Curtis JR, Goode GC, Herrington J, Urdaneta LE. Possible cobalt toxicity in maintenance hemodialysis patients after treatment with cobaltous chloride: a study of blood and tissue cobalt concentrations in normal subjects and patients with terminal and renal failure. *Clin Nephrol* 5: 61-65; 1976
132. Edwards MS, Curtis JR. Use of cobaltous chloride in anaemia of maintenance hemodialysis patients. *Lancet* 2: 582-583; 1971
133. Berk L, Burchenal JH, Castle WB. Erythropoietic effect of cobalt in patients with or without anemia. *N Engl J Med* 240: 754-761; 1949
134. Schirrmacher UO. Case of cobalt poisoning. *Br Med J* 1: 544-545; 1967
135. Kriss JP, Carnes WH, Gross RT. Hypothyroidism and thyroid hyperplasia in patients treated with cobalt. *J Am Med Assoc* 157: 117-121; 1955
136. Weaver JC, Kostainsek VM, Richards DN. Cobalt tumor of the thyroid gland. *Calif Med* 85: 110-112; 1956

137. Bech AO, Kipling MD, Heather JC. Hard metal disease. Br J Ind Med 19: 239-252; 1962

138. Jacobziner H, Raybin HW. Poison control accidental cobalt poisoning. Arch Pediatr 78: 200-205; 1961

139. Lippi G, Franchini M, Guidi GC. Cobalt chloride administration in athletes: a new perspective in blood doping? Br J Sports Med 39: 872-873; 2005

140.

http://www.bodybuilding.com/fun/blood_building_enhances_performance.htm,
(5.2.2013)

141. Laure P. BC. Adolescent athletes and the demand and supply of drugs to improve their performance. J Sport Sci Med 4: 272-277; 2005

142. Ayala-Fierro F, Firriolo JM, Carter DE. Disposition, toxicity, and intestinal absorption of cobaltous chloride in male Fischer 344 rats. J Toxicol Environ Health A 56: 571-591; 1999

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben:

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Jelkmann für die Überlassung dieses interessanten Themas und seiner stetigen Unterstützung danken. In vielen Situationen hat er durch seinen Rat und fachliche Kompetenz das wissenschaftliche Arbeiten und das Verfassen dieser Arbeit möglich gemacht. Ebenso allen Mitarbeitern des Instituts für Physiologie, die mir stets hilfsbereit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Außerdem danke ich herzlich meinen Eltern und Freunden, die mich sowohl während meines Studiums als auch während dieser Promotion immer unterstützt haben, auch in schwierigen Situationen aufbauende Worte fanden und mich immer bei meinen Plänen gefördert und bestärkt haben.

Zu guter Letzt möchte ich alle Sportler zum Verzicht von verbotenen Substanzen und Methoden aufrufen, um letztendlich die eigene Gesundheit zu schützen und den olympischen Sportgeist zu bewahren.

8. Lebenslauf

Persönliches:

Name:	Bastian Nikolaus Ebert
Geburtstag:	27. Juli 1983
Geburtsort:	Würzburg
Nationalität:	deutsch
Familienstand:	ledig

Ausbildung:

seit 10/2013	Assistenzarzt in der Abteilung für Unfallchirurgie des Humboldt-Klinikums Berlin: PD Dr. Erli
10/2012	Assistenzarzt in der Abteilung für Spezielle Orthopädische Chirurgie und Unfallchirurgie des Auguste-Viktoria-Klinikums Berlin: Prof. Dr. Kienapfel
12/2011	Ärztliche Approbation
12/2011	Zweite Ärztliche Prüfung
02/2011	Beginn der Dissertation
09/2007	Erste Ärztliche Prüfung
04/2007 - 12/2011	Studium der Humanmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen
01/2006 - 03/2007	Studium der Humanmedizin, Georg-August-Universität Göttingen
04/2004 - 01/2006	Studium der Zahnmedizin, Julius-Maximilians-Universität Würzburg
06/2003	Allgemeine Hochschulreife, Gymnasium Weikersheim

9. Veröffentlichung

Ebert B, Jelkmann W. Intolerability of cobalt salt as erythropoietic agent. Drug Test Anal doi: 10.1002/dta.1528, 2013

10. Erklärung

Ich, Bastian Ebert, versichere, dass ich die Dissertation ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe. Weder vorher noch gleichzeitig habe ich andernorts einen Zulassungsantrag für eine Promotion gestellt oder diese Dissertation vorgelegt. Ich habe mich bisher noch keinem Promotionsverfahren unterzogen.

Lübeck,