

S. Catalani, P. Apostoli

Effetti neurotossici del cobalto: una questione aperta

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Applicata, Sezione di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale, Università degli Studi di Brescia, P.le Spedali Civili 1, 25123 Brescia

RIASSUNTO. Alti valori ematici di cobalto sono stati associati ad alterazioni di carattere neurologico come tremore delle mani, mancanza di coordinazione, declino cognitivo, depressione, vertigini e perdita della capacità uditive e visive accanto ai più noti effetti cardiaci (aritmie e cardiomiopatie), endocrini o di natura allergica. I casi di cobaltismo riguardano situazioni di esposizione professionale, passate esposizioni iatrogene ed emergenti condizioni di rilascio di ioni da protesi metalliche. Lo studio e l'approfondimento di questi casi ha fatto emergere un quadro tossicologico proprio del cobalto probabilmente imputabile alla sua capacità di indurre stress ossidativo e alterazioni mitocondriali.

ABSTRACT. NEUROTOXIC EFFECTS OF COBALT: AN OPEN QUESTION. Increased cobalt levels have been associated with neurological diseases (hand tremor, incoordination, cognitive decline, depression, vertigo, hearing loss and visual changes) in addition to "classic" and known cardiac diseases (arrhythmias and cardiomyopathies) and allergic or endocrine symptoms. Cobalt neurotoxicity is reported in isolated cases: old occupational or iatrogenic exposures and more recent releases of metallic ions by prosthesis. The studies of these cases have revealed a typical symptomatology of cobalt probably due to its ability to induce oxidative stress and mitochondrial alterations.

Key words: cobalt, neurotoxicity, ROS.

Introduzione

Nel panorama delle intossicazioni da cobalto accanto ai ben noti e documentati effetti cardiaci, respiratori, tiroidei e a carico del sistema ematopoietico (1-3), recenti evidenze hanno messo in luce manifestazioni neurotossiche caratterizzata soprattutto da atrofia ottica, sordità neurosensoriale e parestesie agli arti.

I casi riportati nella letteratura scientifica internazionale riguardano situazioni di esposizioni professionali e intossicazioni iatrogene a cobalto collocate fra il 1953 e il 1991 (4-9). Mentre nell'arco degli ultimi 5 anni sono stati segnalati nuovi casi di intossicazione da cobalto causati dalla corrosione di artroprotesi di anca in lega cromo-cobalto (10-15). Ad oggi i casi segnalati sono 29 e tutti accumulati da alte concentrazioni di cobalto (fino a 500 volte superiori i Valori di Riferimento) e, nel caso di rilascio da protesi, da massiccia metallo nei tessuti periprotetici adiacenti. I relativi quadri clinici comprendono un coinvolgimento oculare con relativa retinopatia e possibile atrofia del nervo ottico, sordità bilaterale, progressivo calo sensoriale, tremori, perdita della memoria e di coordinazione ed inoltre in 3 casi è stato segnalato un interessamento cardiaco. Tutti i sintomi, eccetto i danni oculari, migliorano e regrediscono dopo l'allontanamento dalla fonte espositiva.

Le recenti segnalazioni di effetti neurotossici e il vasto numero delle persone potenzialmente esposte hanno portato la questione agli onori della cronaca suscitando allarmismi più o meno fondati ed intensificando i controlli e le valutazioni chimico-cliniche.

Evidenze occupazionali e farmacologiche

In questa sede non è nostra intenzione rivedere tutti i singoli casi di cobaltismo da artroprotesi, peraltro già trattati in una nostra recente Review (16) vorremmo piuttosto approfondire le evidenze occupazionali e iatrogene e cercare di collocare questa problematica al di là del caso "protesi". L'inalazione di polveri durante la produzione di composti di cobalto e nella lavorazione di metalli duri rappresentano la maggiore fonte di esposizione in ambito professionale. I principali effetti tossici, soprattutto a carico del sistema respiratorio (asma e fibrosi polmonare),

sono dati dal cobalto da solo e dall'associazione con il carburo di tungsteno che ne aumenta l'assorbimento polmonare e il potenziale genotossico (17, 18).

Nella valutazione dell'esposizione professionale il marcatore più utilizzato è il cobalto urinario (CoU), tuttavia va considerato che il cobalto viene rapidamente escreto nelle ore successive all'esposizione con un picco di escrezione di circa 3 ore dopo la fine dell'esposizione (19). L'ACGIH stabilisce un indice biologico di esposizione (BEI) di 15 µg/L nelle urine e 1 µg/L nel sangue alla fine della settimana lavorativa corrispondente a un TLV-TWA di 0.02 mg/m³ (20).

Accanto ai noti effetti respiratori, cardiaci e alterazioni di natura allergica o endocrina, all'inizio degli anni '90 sono stati segnalati 2 casi di perdita di memoria, neuropatie e calo dell'acuità visiva (Tab. I). Jordan et al., 1990 (7) riportano il caso di 12 lavoratori impiegati nella produzione di metalli duri esposti a tungsteno carburo e cobalto che presentano un calo dell'attenzione ($p < 0.05$) e perdita di memoria ($p < 0.001$) paragonati a 26 lavoratori sani non-esposti. Il deficit della memoria è legato a difficoltà nella memoria verbale e nell'attenzione (misurata con Wechsler Memory Scale-Revised) e apparente calo della memoria visuo-spaziale. In questo caso l'esposizione a cobalto non è stata quantificata. Un anno dopo Meecham and Humphrey (8) descrivono il caso di un lavoratore esposto a polveri di cobalto per 20 mesi che ha sviluppato una atrofia del nervo ottico e sordità bilaterale. La concentrazione di cobalto rilevata nel sangue è 234 µg/L e nelle urine 119 µg/24h. la sintomatologia è migliorata e poi scomparsa un anno dopo la fine dell'esposizione.

Altri casi di neurotossicità riguardano l'intossicazione ad alte dosi di cobalto in seguito all'assunzione del cobalto cloruro (CoCl₂) nelle terapie antianemiche (Tab. I).

Intorno agli anni '60 sono stati segnalati diversi effetti avversi come nausea, vomito, insufficienza cardiaca congestizia, iperplasia tiroidea e mixedema oltre a casi di perdita progressiva dell'udito e della vista e neuriti periferiche. I casi segnalati sono sette in cui vengono dettagliatamente descritti l'insorgenza dei sintomi e il decorso delle patologie ma non i livelli di cobalto dei soggetti. Tuttavia la descrizione della posologia della terapia orale (da 25 a 400mg al giorno per un periodo minimo di 2 mesi a un massimo di 2anni e mezzo) porta a concludere che l'esposizione è stata continuativa ed a alte dosi.

I livelli di cobalto raggiunti nei casi di rilascio da protesi sono >400µg/L nel sangue e comprese tra 15.2-398 µg/L nel siero. Da queste valutazioni risulta quindi che l'effetto neurotossico è associato a dosi di molto superiori l'indice di esposizione biologico proposto.

Dobbiamo comunque considerare che visto la natura dell'effetto (calo della vista e dell'udito, perdita della memoria e dell'attenzione) deboli alterazioni possono non venire considerate e non essere correlate all'esposizione a cobalto.

Meccanismi di azione

La tossicità verso il sistema nervoso centrale e periferico nel cobaltismo da artroprotesi è simile a quella osservata nei pazienti con intossicazioni professionali o iatrogene. Il cobalto risulta essere direttamente neurotossico ed epilettogeno (21, 22). Studi sperimentali hanno dimostrato alterazioni del comportamento e deplezioni di neurotrasmettitori come dopamina, norepinefrina e serotonina (23, 24); inoltre, *in vitro* il cobalto inibisce la risposta post-sinaptica e inibisce la trasmissione attraverso il blocco dei canali del calcio (25).

Tabella I. Effetti neurotossici riportati in situazioni di esposizione professionale e iatrogena

	Studi	Soggetti	Periodo di esposizione all'esordio dei sintomi	Effetti	Cobalto µg/L
Esposizione professionale	Jordan et al. 1990 [7]	12	Non riportato	Difficoltà nell'attenzione e perdita memoria	Non riportato
	Meecham et al. 1991 [8]	1	20 mesi	Perdita progressiva dell'udito con tinnito, occasionali vertigini e diminuzione acuità visiva	234 µg/L CoB
Esposizione iatrogena	Gadner et al. 1953 [4]	4 1	16 settimane 12 settimane	Perdita progressiva dell'udito con tinnito e neuriti periferiche	Non riportato
	Schirmacher 1967 [5]	1	6 mesi	Parestesie agli arti, andatura incerta, calo dell'udito e vertigini	Non riportato
	Licht et al. 1972 [6]	1	3 anni	Atrofia ottica, alterata perfusione corodiale	Non riportato

L'azione del cobalto sulla retina e nervo ottico ha analogie con i risultati oftalmici trovati nella neuropatie ottiche tossiche causate da sostanze come la chinina, il piombo, il tabacco e metanolo. Le neuropatie ottiche tossiche attribuite a fosforilazione ossidativa mitocondriale sono simili dal punto di vista clinico alla neuropatie ottiche mitocondriali congenite (vedi neuropatie di Leber e Kjer) (26). L'ipotesi è confermata dal fatto che i mitocondri sono uno dei principali target della tossicità del cobalto attraverso la perdita di potenziale di membrana e il rilascio di fattori apoptogeni (27, 28).

È inoltre noto che il cobalto induce la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) oltre a diminuire i livelli di glutazione ridotto e all'attivazione dello shunt dell'esosomofosfato (29). Un recente studio di Adachi (30) dimostra che il cobalto cloruro contribuisce al calo della suprossidodismutasi extracellulare nei periciti retinei con conseguente aumento di produzione di ROS, attivazione delle caspasi e frammentazione del DNA come segnale dei processi apoptotici. Gli effetti dello stress ossidativo sulle cellule sensoriali uditive (altro organo target) sono sovrapponibili a quelli di sostanze ototossiche come antibiotici, antimalarici e antineoplastici che inducono danni al nervo acustico attraverso fenomeni ossidativi uniti a una predisposizione genetica (che trova analogie con le neuropatie ottiche).

Gli approfondimenti clinici (MRI e biopsie nervose) sui pazienti portatori di protesi sintomatiche suggeriscono che la neurotossicità si verifica da demielinizzazione e da perdita assonale sia centrale che periferica. Il ruolo dei ROS nei processi di demielinizzazione è dimostrato e il meccanismo di azione noto (31, 32). Gli oligodendrociti sono risultati essere particolarmente sensibili allo stress ossidativo *in vitro*, apparentemente a causa di una diminuita capacità di difesa antiossidante e la presenza di fattori di rischio elevato.

Discussioni e Conclusioni

Il basso numero delle segnalazioni degli effetti neurotossici del cobalto può essere dovuto alla natura degli effetti attribuibili ai normali processi di invecchiamento o stress correlati. Per questo motivo è difficile se non impossibile determinare un valore soglia in quanto i casi riportati si riferiscono ad altissime dosi ed effetti gravi e conclamati come atrofie nervose e sordità totali.

Tuttavia a parità di condizioni, la comparsa e la gravità dei sintomi neurologici può risentire di una suscettibilità individuale legata al trasporto degli ioni cobalto a carico dell'albumina plasmatica così come la predisposizione ad alterazioni mitocondriali cobalto-indotte che sembrano essere alla base delle manifestazioni neurologiche.

Il sito di legame del cobalto all'albumina, una delle principali proteine plasmatiche deputate al suo trasporto può subire alterazioni che impediscono il legame con lo stesso in seguito a patologie come traumi, sclerodermia, diabete, infezioni virali e batteriche, insufficienze renali, ischemie cerebrali e tumori (33,34). La valutazione della capacità legante dell'albumina nel caso da noi seguito ha

mostrato che rispetto a sieri di controllo la nostra paziente aveva una maggiore quantità di cobalto libero nel sangue (35). Inoltre è giusto sottolineare che i casi di cobaltismo da artroprotesi sono da considerarsi "eccezionali in quanto insorti in seguito a particolari situazioni di alterazione della protesi stessa. Le protesi di alcuni dei soggetti indagati hanno subito una maggiore corrosione in seguito alla compresenza di particelle di ceramica derivanti da protesi impiantate o preesistenti che hanno esercitato una sorta di abrasione continua, d'altra parte un'importante azienda produttrice di protesi ha ritirato dal commercio un loro prodotto in quanto soggetto a rotture con un tasso molto più alto dell'atteso.

Il quadro di sintomi emerso dall'approfondimento dei casi segnalati comprende oltre ai già noti ipotiroidismo, policitemia, cardiomiopatie e complicazioni polmonari quando la via di esposizione è inalatoria, alterazioni della vista e udito (acufeni, tinniti), vertigini, disestesie diffuse, tremori, debolezze e alterazioni cognitive come depressione, irritabilità e perdita di memoria; sporadicamente sono segnalati anche rash cutanei e discolorimenti ungueali.

I primi dati di un nostro studio sperimentale in corso vedono nelle cellule gangliari retinee il target dell'azione del cobalto, la vulnerabilità di queste cellule a danni ossidativi e alterazioni mitocondriali porta a confermare i principali meccanismi di azione ipotizzati circa la neurotossicità dell'elemento.

Bibliografia

- 1) Lauwerys R, Lison D. Health risks associated with cobalt exposure-an overview. *Occup Environ Med* 1994; 51: 447-450.
- 2) Barceloux DG. Cobalt. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999; 37: 201-206.
- 3) Lison D. Cobalt. In: Norberg GF, Fowler BA, Norberg M and Friberg LT (eds) *Handbook on the toxicology of metals*. 3rd ed. Burlington, USA: Elsevier, 2007, pp. 511-528.
- 4) Gardner FH. The use of cobalt chloride in anaemia associated with chronic renal disease. *J Lab Clin Med* 1953; 49: 56-63.
- 5) Schirmacher UOE. Case of cobalt poisoning. *Br Med J* 1967; 1: 544-545.
- 6) Licht A, Oliver M, and Rachmilewitz EA. Optic atrophy following treatment with cobalt chloride in a patient with pancytopenia and hypercellular marrow. *Isr J Med Sci* 1972; 8: 61-66.
- 7) Jordan C, Whitman RD, and Harbut M. Memory deficits in workers suffering from hard metal disease. *Toxicol Lett* 1990; 54: 241-243.
- 8) Meecham HM, Humphrey P. Industrial exposure to cobalt causing optic atrophy and nerve deafness: a casereport. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991; 54: 374-375.
- 9) Megaterio S, Galetto F, Alossa E, and Capretto S. Systemic effects of ionic release in wear of prosthetic head: a case report. *Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia* 2001; 27: 173-175.
- 10) Steens W, Von Foerster G, and Katzer A. Severe cobalt poisoning with loss of sight after ceramic-metal pairing in a hip-a case report. *Acta Orthop* 2006; 77: 830-832.
- 11) Oldenburg M, Wegner R, and Baur X. Severe cobalt intoxication due to prosthesis wear in repeated total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 2009; 24: 825e15-825e20.
- 12) Rizzetti MC, Liberini P, Zarattini G, et al. Loss of sight and sound Could it be the hip? *Lancet* 2009; 373: 1052.
- 13) Ikeda T, Takahashi K, Kabata T, et al. Polyneuropathy caused by cobalt-chromium metallosis after total hip replacement. *Muscle Nerve* 2010; 42: 140-143.
- 14) Tower SS. Arthroprosthetic cobaltism: neurological and cardiac manifestations in two patients with metal-on-metal arthroplasty: a case report. *J Bone Joint Surg* 2010; 92: 1-5.

- 15) Mao X, Wong AA, Crawford RW Cobalt toxicity - an emerging clinical problem in patients with metal-on-metal hip prostheses? *MJA* 2011; 194: 649-651.
- 16) Catalani S, Rizzetti MC, Padovani A, Apostoli P Neurotoxicity of cobalt *Hum Exp Toxicol* 2011 Jul 5.
- 17) Moulin JJ, Wild P, Romazini S, Lasfargues G, Peltier A, Bozec C, Deguerry P, Pellet F, Perdrix A (1998) Lung cancer risk in hardmetal workers. *Am J Epidemiol* 148: 241-248.
- 18) Lison D, Carbonnelle P, Mollo L, Lauwerys R, Fubini B (1995) Physicochemical mechanism of the interaction between cobalt metal and carbide particles to generate toxic activated oxygen species. *Chem Res Toxicol* 8: 600-606.
- 19) Apostoli P, Porru S, and Alessio L. Urinary cobalt excretion in short time occupational exposure to cobaltypowders. *Sci Total Environ* 1994; 150: 129-132.
- 20) ACGIH. TLVs1 and BEIs1: threshold limit values for chemical and physical agents and biological exposureindices. Cincinnati, USA: ACGIH, 2010.
- 21) Payan H, Strebel R, Levine S. Epileptogenic effect on extradural and extracranial cobalt. *Nature*. 1965 Nov 20;208(5012):792-3.
- 22) Koyama I. Amino acids in the cobalt-induced epileptogenic and nonepileptogenic cat's cortex. *Can J Physiol Pharmacol* 1972 Aug; 50(8):740-52.
- 23) Czarnota M, Whitman D, and Berman R. Activity and passive-avoidance learning in cobalt-injected rats. *Int J Neurosci* 1998; 93: 29-33.
- 21) Hasan M, Ali S, and Anwar J. Cobalt-induced depletion of dopamine, norepinephrine & 5-hydroxytryptamine concentration in different regions of the rat brain. *Indian J Exp Biol* 1980; 18: 1051-1053.
- 25) Gerber U, Ga'hwiler BH. Cobalt blocks postsynaptic responses induced by neurotransmitters in the hippocampus in vitro. *Neurosci Lett* 1991; 134: 53-56.
- 26) Carelli V, Ross-Cisneros FN, and Sadun AA. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retinal Eye Res* 2004; 23: 53-89.
- 27) Karovic O, Tonazzini I, Rebola N, et al. Toxic effects of cobalt in primary cultures of mouse astrocytes: similarities with hypoxia and role of HIF-1alpha. *Biochem Pharmacol* 2007; 73: 694-708
- 28) Battaglia V, Compagnone A, Bandino A, Bragadin M, Rossi CA Zanetti F, Colombatto S, Grillo Ma, Toninello A. Cobalt induces oxidative stress in isolated liver mitochondria responsible for permeability transition and intrinsic apoptosis in hepatocyte primary cultures, *Int J Biochem Cell Biol*; 41, 586-594.
- 29) Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
- 30) Adachi T, Aida K, Nishihara H, Kamiya T, Hara H. Effect of hypoxia mimetic cobalt chloride on the expression of extracellular-superoxide dismutase in retinal pericytes. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 1297-300.
- 31) Smith KJ, Kapoor R, and Felts PA. Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species. *Brain Pathol* 1999; 9: 69-92.
- 32) Stenger C, Naves T, Verdier M, Ratinaud MH. The cell death response to the ROS inducer, cobalt chloride, in neuroblastoma cell lines according to p53 status. *Int J Oncol*. 2011; 39: 601-609.
- 33) Lippi G, Brocco G, Salvagno GL, et al. High-workload endurance training may increase serum ischemia modified albumin concentrations. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 741-744.
- 34) Piwowar A, M. Knapik-Kordecka, andM.Warwas, "Ischemia modified albumin level in type 2 diabetes mellitus- preliminary report," *Disease Markers* 2008. 24: 311-317.
- 35) Catalani S, Leone R, Rizzetti MC, Padovani A, Apostoli P. The Role of Albumin in Human Toxicology of Cobalt: Contribution from a Clinical Case, *ISRN Hematology*, vol. 2011, Article ID 690620.

Richiesta estratti: *Simona Catalani, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Applicata. Sezione di Igiene Industriale. Università di Brescia. Piazzale Spedali Civili 1, 25123 Brescia, Italy, Tel. +39 030 399 6833, Fax +39 030 399 6046, E-mail: catalani@med.unibs.it*