

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNGEN

ISBN 0937-4248

TOXIKOLOGISCHE BEWERTUNG

Ausgabe 11/00

ISSN 0937-4248

Hydroxylamin und seine Salze

Nr. 62

CAS-Nr. 7803-49-8

CAS-Nr. 5470-11-1

CAS-Nr. 10039-54-0

CAS-Nr. 13465-08-2



BG Chemie

Berufsgenossenschaft der
chemischen Industrie

ISSN 0937-4248

Die Erstellung der TOXIKOLOGISCHEN BEWERTUNGEN ist nach bestmöglicher Sorgfalt erfolgt, jedoch ist eine Haftung bei fehlerhaften Angaben oder Bewertungen ausgeschlossen.

© Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie, Heidelberg

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung, vorbehalten. Nachdrucke - auch auszugsweise - nur mit ausdrücklicher Genehmigung der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie.

Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg
Telefon: 06221 523 (0) 400
E-Mail: praevention@bgchemie.de
Internet: www.bgchemie.de

Hydroxylamin und seine Salze

Hydroxylamine and its salts

1 Zusammenfassung und Bewertung

Hydroxylamin und seine Salze werden sowohl durch die Haut als auch über die Atemwege und den Gastrointestinaltrakt bei entsprechender Exposition vom Körper aufgenommen. Über die Verteilung im Organismus und die Geschwindigkeit der Ausscheidung liegen keine verwertbaren Daten vor. Hydroxylamin wird auch als Zwischenprodukt im Zellstoffwechsel gebildet. Im Organismus verschiedener Säugetiere kann eine Hydroxylamin-Reduktase, die Hydroxylamin zu Ammoniak reduziert, nachgewiesen werden, deren Aktivität spezies- und altersabhängig zu sein scheint. Auch eine metabolische Oxidation von Hydroxylamin zu Nitrit und Nitrat ist beschrieben worden. Hydroxylamin und seine Abbauprodukte reagieren leicht mit vielen körpereigenen Stoffen, wie Proteinen und Nukleinsäuren.

Die oralen LD₅₀-Werte von Hydroxylamin und seinen Salzen für Ratte und Maus liegen überwiegend im Bereich zwischen 400 und 1000 mg/kg Körpergewicht, in dem Stoffe als gesundheitsschädlich angesehen werden. Auch die akuten Toxizitätsdaten nach dermalen und intraperitonealer Applikation passen weitgehend in dieses Bild. Ein akutes Inhalationsrisiko durch Hydroxylaminhydrochlorid und Hydroxylaminsulfat besteht nicht. Desgleichen wird die 1stündige Inhalation des Nebels einer gesättigten wässrigen Hydroxylaminhydrochlorid- bzw. Hydroxylaminsulfat-Lösung (ohne Konzentrationsangabe) von Ratten symptomlos vertragen. Zielorgan des Hydroxylamins und seiner Salze ist bei allen geprüften Spezies das hämatopoetische System. Dosisabhängig kommt es nach einmaliger und wiederholter Applikation unabhängig vom Applikationsweg zu einer hämolytischen Anämie und Methämoglobinämie mit allen ihren Folgeerscheinungen. In letalen und subletalen Dosen bewirken die Stoffe zentrale Erregung und Krämpfe. Eine hämolytische Anämie ist beim Kaninchen bereits nach einer einmaligen dermalen Dosis von 10 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht (okklusiv) beobachtet worden.

Die wiederholte subkutane Zufuhr von 5 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht über eine Woche an Kaninchen hat zu schweren Intoxika-

tionserscheinungen mit Methämoglobinspiegeln bis zu 60 % und Todesfällen geführt, während die Dosis von 1 mg/kg Körpergewicht über den gleichen Zeitraum keine Methämoglobinämie, jedoch eine mittelgradige Anämie bewirkt hat. Die tägliche Gabe von Hydroxylaminsulfat mit dem Trinkwasser an männliche und weibliche Wistar-Ratten über 4 Wochen führt in der höchsten Konzentration von 1600 ppm bei den Tieren zu einer schweren hämolytischen Anämie mit Methämoglobinämie, kompensatorisch gesteigerter Erythropoese und Zyanose. In niedrigeren Konzentrationen treten die Effekte in abgeschwächter Form auf. Der no effect level liegt in dieser Studie für die männlichen Ratten bei 3 ppm und für die weiblichen Ratten bei 18 ppm. An männlichen Kaninchen, die drei Wochen lang an 5 Tagen/Woche Hydroxylaminnitrat auf die Haut appliziert erhielten, bewirken Dosierungen von 0,7 bis 11,7 mg/kg Körpergewicht an der mit Mull abgedeckten Applikationsstelle Hautnekrosen, die sich bereits nach der ersten Behandlungswoche zu entwickeln beginnen. Alle Dosierungen ab 1,5 mg/kg Körpergewicht führen bereits nach einer Woche dosisabhängig zur Anämie der Tiere mit erniedrigter Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration und starker Heinz-Körper-Bildung. Ab einer Dosierung von 2,9 mg/kg Körpergewicht ist das Milzgewicht deutlich erhöht. Sonstige toxische Effekte des Hydroxylaminnitrats werden nicht beobachtet.

Die akute Hautreizwirkung von Hydroxylaminhydrochlorid und Hydroxylaminsulfat ist nur gering. Die Augenreizwirkung von Hydroxylaminhydrochlorid ist jedoch stark und innerhalb von einer Woche nur langsam oder überhaupt nicht reversibel. Hydroxylaminsulfat wirkt, wie Hydroxylamin selbst, schwach bis mäßig reizend auf das Auge.

Hydroxylaminhydrochlorid und Hydroxylaminsulfat wirken nach den vorliegenden Untersuchungen sensibilisierend an der Haut.

Nach 3monatiger Gabe von Hydroxylaminsulfat über das Trinkwasser an Ratten kommt es in Konzentrationen von 250 und 50 ppm (entsprechend ca. 21 bzw. 4 mg/kg Körpergewicht/Tag) dosisabhängig zu Anämie mit entsprechenden hämatologischen Befunden und Hämosiderosis. Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration sind erniedrigt, die Zahl der Retikulozyten, der Heinz-Körper und der Jolly-Körper sowie die Bilirubinkonzentration im Serum steigt an. Mit der höchsten Konzentration kommt es zu einer Erhöhung des Milzgewichtes sowie des Leber- und Nierengewichtes. Hämosiderinspeicherungen werden in der Milz und der Leber beobachtet.

In der 50 ppm-Gruppe treten die Effekte in abgeschwächter Form auf. Die Konzentration von 10 ppm (entsprechend ca. 1 mg/kg Körpergewicht/Tag) bewirkt keine substanzbedingten Schädigungen. Bei etwa 5monatiger Zufuhr von Hydroxylaminhydrochlorid an Ratten in Dosen von 333 bis 380 mg/kg Körpergewicht über Trinkmilch werden Milzvergrößerungen um das 4- bis 5fache und Schilddrüsenatrophie beschrieben. Kaninchen zeigen nach intravenöser Injektion von 2,5 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht über einen Zeitraum von bis zu 19 Monaten Methämoglobinbildung, Anämie und Retikulozytose. Nach 12wöchiger Verabreichung von Hydroxylaminsulfat an Mäuse über das Trinkwasser (1640 bzw. 3280 mg/l) kommt es zu Anämie, Leukozytose und Milzvergrößerung. Diese Veränderungen erweisen sich nach 8 bzw. 18 Wochen als reversibel. Auch bei längerfristiger Behandlung von Hunden (50 bis 70 mg/kg Körpergewicht über 2 bis 4 Monaten), Meerschweinchen (300 bis 500 mg/kg Körpergewicht bis zu 235 Tagen) und Milchkühen (40 bis 60 bzw. 22 und 44 mg/kg Körpergewicht über bis zu 112 Tage) mit Hydroxylaminhydrochlorid haben als toxische Effekte Methämoglobinbildung und Schädigung des hämatopoetischen Systems im Vordergrund gestanden.

Zum gentoxischen Potential von Hydroxylamin und seinen Salzen liegt eine Vielzahl von Ergebnissen vor. Die Versuche sind allerdings meist nicht nach den heute üblichen Methoden durchgeführt worden und die Ergebnisse sind teilweise uneinheitlich. In vitro sind zahlreiche und verschiedene Teste auf Genmutationen positiv, mit Ausnahme der durchgeführten Salmonella/Mikrosomen-Teste, die mit und ohne metabolische Aktivierung fast ausschließlich negative Ergebnisse gezeigt haben. Untersuchungen auf klastogene Wirkung sind fast ausnahmslos positiv, desgleichen die Teste auf DNA-Wechselwirkungen. In vivo sind die Untersuchungen an *Drosophila melanogaster* fast ausnahmslos positiv, desgleichen ein Test an Heuschrecken. Hydroxylaminsulfat erweist sich im dominanten Letal-Test und im Mikronukleustest, Hydroxylaminhydrochlorid im Chromosomenaberrationstest im Knochenmark an Mäusen als negativ. Dem steht ein positives Ergebnis an Spermatozyten mit Hydroxylamin behandelte Mäuse gegenüber. Insgesamt ist eine gentoxische Wirkung des Hydroxylamins und dessen Salzen in vitro als gesichert anzusehen, und zwar sowohl im Sinne von Genmutationen als auch von Chromosomenmutationen. In vivo sind gentoxische Effekte in Insekten (Fliegen, Heuschrecken) nachweisbar, in Säugtieren kaum. Es entsteht der Eindruck, daß im letzteren Fall das hochreak-

tive Hydroxylamin-Molekül die Wirkorte im Organismus nicht erreicht. Die Möglichkeit, daß Hydroxylamin und seine Salze am Applikationsort gentoxische Schäden bewirken, kann allerdings nicht ausgeschlossen werden.

Gezielte Untersuchungen zur Kanzerogenität von Hydroxylamin und seinen Salzen nach den heute üblichen Prüfrichtlinien liegen nicht vor. Die vorliegenden Zelltransformationsteste sind teils positiv, teils negativ. In älteren Untersuchungen werden nach lebenslanger Gabe von Hydroxylaminhydrochlorid im Futter oder Trinkwasser bei Mäusen keine substanzbedingten Tumoren gefunden. Bei weiblichen C3H/HeN-Mäusen mit sehr hoher Rate an spontanen Mammatumoren bewirkt die lebenslange Gabe von Hydroxylamin-Salzen im Futter oder Trinkwasser eine erhebliche Reduktion der Zahl der Spontantumoren. Dieser Effekt wird auf die Beeinflussung hormoneller Faktoren zurückgeführt. An Ratten, bei denen Mammatumoren durch 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) ausgelöst wurden, treten deutliche Effekte auf die Ausbildung von Tumoren durch Gabe von Hydroxylaminsulfat im Trinkwasser nur dann auf, wenn die Hydroxylamin-Behandlung 14 Tage nach der Gabe von DMBA einsetzte und nicht, wenn schon 14 Tage vor der DMBA-Behandlung mit der Applikation von Hydroxylaminsulfat begonnen wurde. In einer neueren Studie an C3H/HeN- und C3H/HeJ(+)-Mäusen, die alle eine hohe Rate an spontanen Mammatumoren besitzen, wird nur bei den C3H/HeN-Mäusen eine deutliche Verringerung der Zahl der gebildeten Mammatumoren durch die lebenslange Gabe von Hydroxylaminsulfat im Trinkwasser bewirkt, nicht jedoch bei den C3H/HeJ(+)-Mäusen, bei denen die Tumoren durch das Milch-übertragene Virus (MIV) ausgelöst werden. In beiden Mäusestämmen ist die Gesamtzahl aller auftretenden neoplastischen Veränderungen mit und ohne Behandlung durch Hydroxylaminsulfat gleich, nur wird durch die Behandlung das Tumorspektrum verschoben. In beiden Mäusestämmen treten unter Hydroxylaminsulfat-Behandlung deutlich vermehrt Hämangiome der Milz bzw. der Lymphknoten auf. Die Autoren führen dieses auf die toxische Wirkung des Hydroxylamins auf die Milz und das hämatopoetische System zurück.

Eine embryotoxische bzw. teratogene Wirkung von Hydroxylamin bzw. Hydroxylaminhydrochlorid wird meist nur unter außergewöhnlichen Versuchsbedingungen (Injektion in die embryonale Leibeshöhle oder intravenöse Injektion bei Kaninchen, Injektion in die Luftkammer von Hühnereiern) beobachtet. Nach intraperitonealer Zufuhr treten bei Ratten selbst nach maternaltoxischen Dosen (bis 59,3 mg/kg Körpergewicht) bei den Nachkommen

keine Mißbildungen auf. Zwei weitere Untersuchungen (nach OECD-Richtlinie Nr. 414) an Ratten, die vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit per os mit der Schlundsonde bis in den maternaltoxischen Bereich mit Hydroxylaminsulfat behandelt worden sind, haben keine Anzeichen für eine teratogene, embryotoxische oder fetotoxische Wirkung des Stoffes gezeigt. Kälber von Kühen, die vom 3. Monat der Trächtigkeit an bis zum Abschluß der Gravidität über das Futter mit Hydroxylaminhydrochlorid behandelt sind, zeigen keine Mißbildungen. Eine 3monatige tägliche Behandlung von männlichen und weiblichen Ratten mit bis zu 21 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht über das Trinkwasser hat keine Veränderungen der Gewichte der Geschlechtsorgane oder der an ihnen erhobenen makroskopischen und mikroskopischen Befunde erbracht.

Es besteht ein Hinweis auf neurotoxische Wirkungen von Hydroxylaminhydrochlorid und -sulfat in hoher Dosierung bei Ratten. Die nach letalen bzw. subletalen Dosen auftretenden motorischen Erregungszustände und Krämpfe dürften Folge der durch die Methämoglobinbildung erzeugten Hypoxämie und somit sekundär sein.

Beim Umgang mit Hydroxylamin sollen am Ende eines Arbeitstages bei Beschäftigten Methämoglobinkonzentrationen von bis zu 25 % aufgetreten sein. Nach versehentlicher oraler Aufnahme von „zwei Schluck“ einer Hydroxylamin-Lösung ist es zu Übelkeit, Erbrechen, Zyanose und nur langsam reversibler hämolytischer Anämie gekommen. Beim Menschen sind lokale Hautirritationen durch Hydroxylaminhydrochlorid beschrieben worden. Diagnostische Tests auf Hautallergien gegen Hydroxylaminhydrochlorid und Hydroxylaminsulfat sind positiv ausgefallen.

Hydroxylamin und seine Salze sind von der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) in der MAK- und BAT-Werte-Liste 2000 mit „Sh“ für hautsensibilisierende Stoffe markiert worden. Im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG sind Hydroxylamin und seine Salze mit R43 als sensibilisierend legal eingestuft und gekennzeichnet worden.

Zur Zeit wird gemäß einer Empfehlung des wissenschaftlichen Beratergremiums der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie eine Kanzerogenitätsstudie von der BASF AG durchgeführt.

Summary and assessment

Hydroxylamine and its salts are absorbed by the body via both the skin, the respiratory tract and the gastrointestinal tract when the appropriate routes of exposure are chosen. There are no valid data on distribution in, and rate of elimination from, the body. Hydroxylamine is also formed as an intermediate in cellular metabolism. In various mammals, a hydroxylamine reductase has been detected, an enzyme which reduces hydroxylamine to ammonia and appears to be dependent upon species and age as regards activity. Metabolic oxidation of hydroxylamine to nitrite and nitrate has also been reported. Hydroxylamine and the products of its catabolism readily react with many of the body's own substances, such as proteins and nucleic acids.

The oral LD₅₀ values ascertained for hydroxylamine and its salts in the rat and mouse are predominantly in the range from 400 to 1000 mg/kg body weight, a criterion based upon which chemicals are considered harmful. The acute toxicity data found after dermal application and intraperitoneal administration largely are in good agreement with this perception. There is no acute risk of inhalation from hydroxylamine hydrochloride or hydroxylamine sulfate. Equally, 1-hour inhalation of aerosols prepared from saturated aqueous solutions of hydroxylamine hydrochloride and hydroxylamine sulfate (no details of the concentrations administered) was tolerated without clinical signs by rats. In all species studied, the target organ for hydroxylamine and its salts is the haematopoietic system. Dose-dependently but irrespective of the route of administration, single and repeated treatment results in haemolytic anaemia and methaemoglobinaemia with all their sequelae. At lethal and sublethal dose levels, the substances cause central excitation and convulsions. Haemolytic anaemia has been observed to occur in the rabbit after only a single occlusive dermal hydroxylamine sulfate dose of 10 mg/kg body weight.

In rabbits, repeated subcutaneous injection of 5 mg hydroxylamine hydrochloride/kg body weight for one week resulted in severe signs of intoxication with blood methaemoglobin levels of up to 60%, and death, whereas a dose of 1 mg/kg body weight administered over the same period of time produced no methaemoglobinaemia, but did cause anaemia of intermediate degree. In male and female Wistar rats, daily administration of the highest hydroxylamine sulfate concentration of 1600 ppm in the drinking wa-

ter for 4 weeks resulted in severe haemolytic anaemia with methaemoglobinemia, compensatory increase in erythropoiesis and cyanosis. At lower concentration levels, the effects were observed in less pronounced form. In this study, the no effect level for male and female rats was found to be 3 ppm and 18 ppm, respectively. When male rabbits had hydroxylamine nitrate applied to the skin 5 days/week for three weeks at dose levels ranging from 0.7 to 11.7 mg/kg body weight, cutaneous necrosis began to develop under the gauze dressing covering the application site after just one week of treatment. After one week's treatment, all doses from 1.5 mg/kg body weight caused dose-dependent anaemia with decreased red blood cell counts, lowered haemoglobin concentration and marked formation of Heinz bodies. At and above 2.9 mg/kg body weight, there was a marked increase in spleen weight. Other toxic effects of hydroxylamine nitrate were not observed.

The acute skin irritancy of hydroxylamine hydrochloride and hydroxylamine sulfate is low. In contrast, the eye irritation caused by hydroxylamine hydrochloride is severe and only slightly reversible, or irreversible, within one week. Hydroxylamine sulfate is mildly to moderately irritating to the eye, as is hydroxylamine itself.

According to the studies available, hydroxylamine hydrochloride and hydroxylamine sulfate have a sensitising effect on the skin.

Following 3-month administration of hydroxylamine sulfate in the drinking water of rats at concentrations of 250 and 50 ppm (equivalent to approx. 21 and 4 mg/kg body weight/day, respectively) the animals dose-dependently developed anaemia with corresponding haematological changes and haemosiderosis. Red blood cell count and haemoglobin concentration were decreased, while the reticulocyte count, the numbers of Heinz bodies and Jolly's bodies and the serum bilirubin concentration increased. At the highest concentration level, there was an increase in spleen and liver and kidney weights. Haemosiderin storage in the spleen and liver was observed. In the 50 ppm group, the effects were observed in less pronounced form. The 10 ppm concentration (equivalent to approx. 1 mg/kg body weight/day) caused no substance-related lesions. When rats were treated with hydroxylamine hydrochloride in milk at doses of 333 to 380 mg/kg body weight for approximately 5 months, 4 to 5-fold enlargement of the spleen and atrophy of the thyroid gland were reported. When rabbits were given intrave-

nous injections of hydroxylamine hydrochloride at 2.5 mg/kg body weight for a period of up to 19 months, they showed methaemoglobin formation, anaemia and reticulocytosis. Following 12-week administration of hydroxylamine sulfate in the drinking water (1640 or 3280 mg/l) of mice, anaemia, leukocytosis and enlargement of the spleen occurred. These changes were found to be reversible after 8 and 18 weeks, respectively. Longer term treatment of dogs (50 to 70 mg/kg body weight for 2 to 4 months), guinea pigs (300 to 500 mg/kg body weight for up to 235 days) and milk cows (40 to 60 or 22 and 44 mg/kg body weight for up to 112 days) with hydroxylamine hydrochloride produced toxic effects which primarily included methaemoglobin formation and damage to the haematopoietic system.

The genotoxic potential of hydroxylamine and its salts has been investigated in numerous studies. In many cases, however, the studies were not carried out according to the methods usual today, and the results are, in part, inconsistent. In vitro numerous, different tests for gene mutations gave positive results, with the exception of the Salmonella/microsome assays, nearly all of which gave negative results in the presence and absence of metabolic activation. Tests for clastogenic activity were positive, almost without exception, as were those for DNA interactions. In-vivo studies in *Drosophila melanogaster* gave positive results almost without exception, as did one test in grasshoppers. Results were negative with hydroxylamine sulfate in the dominant lethal test and the micronucleus test and with hydroxylamine hydrochloride in the chromosome aberration test conducted in the bone marrow of mice. This is in contrast with a positive result for spermatocytes from mice treated with hydroxylamine. Overall, the genotoxic activity of hydroxylamine and its salts seen in vitro can be regarded as an established fact, both with respect to gene mutations and chromosomal mutations. In vivo, genotoxic effects are detectable in insects (flies, grasshoppers), but hardly in mammals. In the latter case, it appears as though the highly reactive hydroxylamine molecule does not reach its sites of action in the body. None the less, the possibility can not be excluded that hydroxylamine and its salts cause genotoxic damage at the site of administration.

There are no specific carcinogenicity studies on hydroxylamine and its salts that comply with the current guidelines for testing. Of the cell transformation tests some are positive, others negative. In older studies, no substance-related tumours were found after lifelong administration of hydroxyl-

amine hydrochloride in the feed or drinking water of mice. In female C3H/HeN mice with a very high rate of spontaneous mammary tumours, lifelong administration of hydroxylamine salts in the feed or drinking water considerably reduced the number of spontaneous tumours. This effect was attributed to interactions with hormonal factors. In rats with mammary tumours induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA), clear effects on tumour formation following administration of hydroxylamine sulfate in the drinking water were only observed if hydroxylamine treatment was initiated 14 days after DMBA administration but not if hydroxylamine sulfate administration commenced 14 days prior to treatment with DMBA. In a more recent study in C3H/HeN and C3H/HeJ(+) mice which all had a high incidence of spontaneous mammary tumours, only the C3H/HeN mice showed a marked decrease in the number of mammary neoplasms following lifelong administration of hydroxylamine sulfate in the drinking water, whereas this was not observed in the C3H/HeJ(+) mice in which the tumours were induced by the milk-transmitted murine mammary tumour virus (MMTV). In both strains of mouse, the total number of neoplastic changes was the same in the presence and absence of hydroxylamine sulfate, the only difference being that the treatment causes a shift in the tumour spectrum. Following treatment with hydroxylamine sulfate, both strains of mouse showed a marked increase in haemangiomas of the spleen and lymph nodes. The investigators attributed these findings to the toxic actions of hydroxylamine on the spleen and the haematopoietic system.

Embryotoxic and teratogenic effects of hydroxylamine or hydroxylamine hydrochloride are mostly observed only under exceptional study conditions (injection into the embryonal body cavity or intravenous injection into rabbits, injection into the air chamber of hen's eggs). Intraperitoneal administration causes no malformation in the offspring of rats, even at maternally toxic doses (up to 59.3 mg/kg body weight). Two additional studies which were conducted (in accordance with OECD guideline No. 414) in rats treated by oral gavage with hydroxylamine sulfate at doses up to maternally toxic levels on days 6 to 15 of gestation gave no indications that the chemical had a teratogenic, embryotoxic or foetotoxic potential. Calves from cows treated with hydroxylamine hydrochloride in the feed from the 3rd month of pregnancy until birth showed no malformations. Daily treatment of male and female rats with hydroxylamine sulfate doses up to 21 mg/kg body weight in the drinking water for 3 months produced no changes in the re-

productive organs with regard to weight and results of microscopic and macroscopic examination.

There is evidence that hydroxylamine hydrochloride and hydroxylamine sulfate have a neurotoxic potential at high dose levels in rats. The motor excitability and convulsions which occur after lethal or sublethal doses are considered to be the result of hypoxaemia due to methaemoglobin formation, and are therefore likely to be secondary.

In workers dealing with hydroxylamine, methaemoglobin concentrations of up to 25% reportedly occurred at the end of a working day. Unintentional ingestion of „two gulps“ of a hydroxylamine solution caused nausea, vomiting, cyanosis as well as haemolytic anaemia that was only slowly reversible. In humans, hydroxylamine hydrochloride is reported to have caused local skin irritation. Diagnostic tests for skin allergy to hydroxylamine hydrochloride and hydroxylamine sulfate have given positive results.

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area („MAK-Kommission“) has designated hydroxylamine and its salts with „Sh“ for skin-sensitising substances in the 2000 edition of the List of MAK and BAT Values. In Annex I to Directive 67/548/EEC, hydroxylamine and its salts have been legally classified and assigned phrase R43 to indicate sensitising potential.

At present, a carcinogenicity study is being conducted by BASF AG on the advice of the BG Chemie Advisory Committee.

2 Stoffname

2.1	Gebrauchsname	Hydroxylamin und seine Salze
2.2	IUPAC-Name	Hydroxylamin
2.3	CAS-Nr.	7803-49-8 (Hydroxylamin) 5470-11-1 (Hydroxylaminhydrochlorid) 10039-54-0 (Hydroxylaminsulfat) 13465-08-2 (Hydroxylaminnitrat)
2.4	EINECS-Nr.	232-259-2 (Hydroxylamin) 226-798-2 (Hydroxylaminhydrochlorid) 233-118-8 (Hydroxylaminsulfat) 236-691-2 (Hydroxylaminnitrat)

3 Synonyme, Trivial- und Handelsnamen

Hydroxylamine
Hydroxylammonia
Hydroxylammoniak
Oxyammoniak

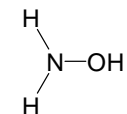
Hydroxylamine chloride
Hydroxylamin Hydrochlorid
Hydroxylamin-Hydrochlorid
Hydroxylammoniumchlorid
Hydroxylammonium chloride
Oxammonium hydrochloride

Bis(hydroxylamine)sulfate
Bis(hydroxylammonium)sulfat
Hydroxylaminsulfat
Hydroxylamin sulfate
Hydroxylammoniumsulfat
Hydroxylammonium sulfate

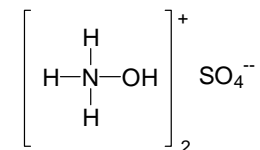
Hydroxylamin Nitrat
Hydroxylammonium nitrate

4 Struktur- und Summenformel

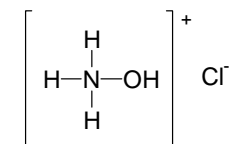
4.1 Strukturformel



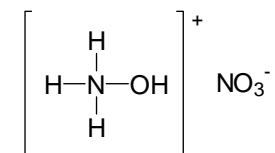
Hydroxylamin



Hydroxylaminsulfat



Hydroxylaminhydrochlorid



Hydroxylaminnitrat

4.2 Summenformel

H_3NO (Hydroxylamin)

$\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_9\text{S}$ (Hydroxylaminsulfat)

H_4NOCl (Hydroxylaminhydrochlorid)

$\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_4$ (Hydroxylaminnitrat)

5 Physikalisch-chemische Eigenschaften

5.1	Molekularmasse, g/mol	33,03 (Hydroxylamin) 69,50 (Hydroxylaminhydrochlorid) 164,14 (Hydroxylaminsulfat) 96,05 (Hydroxylaminnitrat)
5.2	Schmelzpunkt, °C	32,05 (Hydroxylamin) (Malle, 1977; Ritz et al., 1989) 33,10 (Hydroxylamin) (Falbe und Regitz, 1997) 152 (Zersetzung, Hydroxylaminhydrochlorid) (Malle, 1977) > 120 (Zersetzung, Hydroxylaminhydrochlorid) (Ritz et al., 1989) 151 (Hydroxylaminhydrochlorid) (Falbe und Regitz, 1997) 170 (Zersetzung, Hydroxylaminsulfat) (Malle, 1977; Falbe und Regitz, 1997) > 120 (Zersetzung, Hydroxylaminsulfat) (Ritz et al., 1989)
5.3	Siedepunkt, °C	56 - 57 (bei 29 hPa, Hydroxylamin) (Malle, 1977; Ritz et al., 1989) 58 (bei 29 hPa, Hydroxylamin) (Falbe und Regitz, 1997) 142 (auf 1013 hPa extrapoliert, Hydroxylamin) (Malle, 1977)
5.4	Dampfdruck, hPa	0,36 (bei 0 °C; Hydroxylamin) 7,1 (bei 32 °C; Hydroxylamin) (Malle, 1977)
5.5	Dichte, g/cm ³	1,216 (Hydroxylamin) (Malle, 1977) 1,206 (Hydroxylamin) (Falbe und Regitz, 1997) 1,676 (Hydroxylaminhydrochlorid) (Ritz et al., 1989) 1,67 (Hydroxylaminhydrochlorid) (Falbe und Regitz, 1997) 1,883 (Hydroxylaminsulfat) (Ritz et al., 1989)

5.6	Löslichkeit in Wasser	leicht löslich (Hydroxylamin) (Malle, 1977; Ritz et al., 1989; Falbe und Regitz, 1997) 94,5 g/100 g (bei 25 °C, Hydroxylaminhydrochlorid) (Malle, 1977) 46,6 g/100 g (bei 20 °C, Hydroxylaminhydrochlorid) (Ritz et al., 1989) sehr leicht löslich (Hydroxylaminhydrochlorid) (Falbe und Regitz, 1997) 63,8 g/100 g (bei 25 °C, Hydroxylaminsulfat) (Malle, 1977) 37,0 g/100 g (bei 20 °C, Hydroxylaminsulfat) (Ritz et al., 1989)
5.7	Löslichkeit in organischen Lösemitteln	sehr leicht löslich in Methanol und Ethanol (Hydroxylamin) (Malle, 1977; Ritz et al., 1989) sehr wenig löslich in Chloroform, Benzol, Diethylether und Ethylacetat (Hydroxylamin) (Malle, 1977) leicht löslich in Alkohol, unlöslich in Chloroform und Benzol (Hydroxylamin) (Falbe und Regitz, 1997) 17,5 g/100 g (bei 25 °C) in Methanol (Hydroxylaminhydrochlorid) (Malle, 1977) 10,5 g/100 g (bei 25 °C) in 95prozentigem Ethanol (Hydroxylaminhydrochlorid) (Malle, 1977) 14 g/100 g (bei 20 °C) in Methanol (Hydroxylaminhydrochlorid) (Ritz et al., 1989) leicht löslich in Alkohol (Hydroxylaminhydrochlorid) (Falbe und Regitz, 1997) 0,1 g/100 g (bei 25 °C) in Methanol (Hydroxylaminsulfat) (Malle, 1977) 0,2 g/100 g (bei 25 °C) in 95prozentigem Ethanol (Hydroxylaminsulfat) (Malle, 1977)
5.8	Löslichkeit in Fett	keine Information vorhanden

5.9	pH-Wert	alkalisch (Hydroxylamin) (Gross und Smith, 1985) 3,4 (bei 25 °C, Hydroxylaminhydrochlorid, 0,1 M) (Malle, 1977) 3,2 (bei 20 °C, Hydroxylaminhydrochlorid, 1 Gewichts-%) (Ritz et al., 1989) 3,7 (bei 25 °C, Hydroxylaminsulfat, 0,1 M) (Malle, 1977) 3,6 (bei 20 °C, Hydroxylaminsulfat, 1 Gewichts-%) (Ritz et al., 1989)
5.10	Umrechnungsfaktor	Hydroxylamin 1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 1,35 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,74 ml/m ³ (ppm) Hydroxylaminhydrochlorid 1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 2,84 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,35 ml/m ³ (ppm) Hydroxylaminsulfat 1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 6,70 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,15 ml/m ³ (ppm) Hydroxylaminnitrat 1 ml/m ³ (ppm) \triangleq 3,92 mg/m ³ 1 mg/m ³ \triangleq 0,26 ml/m ³ (ppm) (bei 1013 hPa und 25 °C)

6 Herstellung, Produktionsmenge und Verwendung

6.1 Herstellung

Hydroxylamin wird durch katalytische Hydrierung von Stickstoffmonoxid hergestellt (Malle, 1977).

6.2 Hergestellte oder eingeführte Menge

> 1000 t/Jahr (Hydroxylamin sowie Hydroxylaminsulfat; VCI, 1988).

6.3 Verwendung

Zur Herstellung von Oximen und Lactamen, insbesondere von Caprolactam; Polymerisationslenker in Butadien-Styrol-Gemischen; Reduktionsmittel in photographischen Entwicklerlösungen; Antioxidans; analytisches Reagens; Farbvermittler bei der Färbung von Acrylnitril-Fasern und dem Bedrucken von Wolle; Zwischenprodukt zur Herstellung von Schädlingsbekämpfungsmitteln und Pharmazeutika (Malle, 1977).

7 Experimentelle Befunde

7.1 Toxikokinetik und Metabolismus

Hydroxylamin und seine Salze werden sowohl durch die Haut als auch über die Atemwege und den Gastrointestinaltrakt bei entsprechender Exposition vom Körper aufgenommen. Über die Verteilung im Organismus und die Geschwindigkeit der Ausscheidung liegen keine Studien vor.

Hydroxylamin wird auch als Zwischenprodukt des normalen Zellstoffwechsels gebildet. Es entsteht bei der enzymatischen Reduktion von Nitrat und Nitrit oder durch die Oxidation von Ammoniak, was von den Autoren als intrazelluläre Detoxifizierungsreaktionen angesehen wurde (Budowsky, 1976; Gross und Smith, 1985).

In einer vergleichenden Studie mit Präparationen von Lebermitochondrien wurde nachgewiesen, daß von verschiedenen Tierspezies Hydroxylaminhydrochlorid durch die an die Mitochondrienmembran gebundene Hydroxylamin-Reduktase in Gegenwart von NADH zu Ammoniak reduziert wird. Die Aktivität der Mitochondrien variiert stark zwischen den einzelnen Spezies und Individuen, wobei Mäuse und Ratten die höchste Enzymaktivität aufwiesen. Bei Ratten stieg die Enzymaktivität mit zunehmendem Alter, bei weiblichen Tieren stärker als bei männlichen, an. Die Hydroxylamin-Reduktase fand sich auch in geringer Aktivität in den Nieren von Ratten und Katzen, nicht jedoch im Gehirn oder im Serum. Rinderherzen-Mitochondrien wiesen ebenfalls keine Enzymaktivität auf (Bernheim, 1972).

In einer zusammenfassenden Darstellung über den Stoffwechsel des Hydroxylamins im Organismus von Tieren wird die Bedeutung der Reduktion zu Ammoniak für die Entgiftung hervorgehoben. Unter physiologischen Be-

dingungen liegt freies oder gebundenes Hydroxylamin jedoch nur in sehr geringer Konzentration im Organismus vor, da es in einer Reihe von unspezifischen Fermentreaktionen mit Molekülen des Basisstoffwechsels umgesetzt wird. Die Hydroxylamin-Reduktasen zeigen eine starke Substrathemmung, d. h. sie arbeiten nur bei sehr niedrigen Hydroxylamin-Konzentrationen. Bei höheren Konzentrationen sind sie kaum wirksam. Dadurch wird der Organismus weitgehend davor geschützt, daß die umgekehrte Reaktion, nämlich die Oxidation des Ammoniaks zu Hydroxylamin, in größerem Maßstab abläuft (Neunhoffer, 1973).

Andererseits unterliegt Hydroxylaminhydrochlorid einer metabolischen Oxidation zu Nitrat, wie bei Ratten gezeigt wurde. 4 Sprague-Dawley-Ratten (194 ± 7 g) erhielten einmal 20 µmol ¹⁵N-Hydroxylaminhydrochlorid (entsprechend ca. 7 mg/kg Körpergewicht) per Schlundsonde. Die Gesamtausscheidung von ¹⁵N-Nitrat im Harn lag bei 4,7 % der zugeführten Radioaktivität. Der größte Anteil wurde am 4. Tag gefunden. Nach Induktion durch Behandlung der Tiere mit 500 mg Aroclor 1254/kg Körpergewicht war die Nitrat-Ausscheidung nicht verstärkt (Saul und Archer, 1984).

7.2 Akute und subakute Toxizität

Die ersten Beobachtungen über die Blutgiftwirkung von Hydroxylamin bzw. Hydroxylaminhydrochlorid wurden bereits vor über 100 Jahren veröffentlicht, sollen aber wegen ihres mehr historischen Interesses hier nicht weiter abgehandelt werden (Raimondi und Bertoni, 1882; Binz, 1888; Lewin, 1889).

Akute Toxizität

Die Ergebnisse der zahlreichen Studien zur akuten Toxizität von Hydroxylamin und seinen Salzen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Anfang Tabelle 1

Tabelle 1. Daten zur akuten Toxizität von Hydroxylamin und seinen Salzen					
Spezies, Stamm, Geschlecht*	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht bzw. mg/m ³)	Effekt	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Hydroxylamin					
Hund	oral	200	LD ₅₀ ; keine Angaben über Erbrechen bei Hunden und über autoptische Befunde	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Ratte	subkutan	29	LD ₅₀	keine Angaben	Lewis und Tatken, 1982
Ratte	intraperitoneal	59	LD ₅₀	keine Angaben	Lewis und Tatken, 1982
Maus	intraperitoneal	60	LD ₅₀	keine Angaben	Lewis und Tatken, 1982
Hydroxylaminhydrochlorid					
Ratte	oral	600	LD ₅₀ ; Dyspnoe, Krämpfe, Exsikkose, Zyanose	7 Tage	BASF, 1975
Ratte	oral	192	LD ₅₀	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Maus, weiblich	oral	419	LD ₅₀	keine Angaben	Riemann, 1950
Maus, männlich	oral	408	LD ₅₀	keine Angaben	Riemann, 1950
Maus	oral	420	LD ₅₀	keine Angaben	Lewis und Tatken, 1982
Maus	oral	400	LD ₅₀	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Hund	subkutan	70	LD ₅₀	keine Angaben	CHIP, 1984
Ratte	inhalativ	angereicherte Atmosphäre bei 20 °C	Inhalations-Risiko-Test; alle 12 Tiere vertrugen ohne Symptome die 8stündige Inhalation	keine Angaben	BASF, 1975
Ratte	inhalativ	atomisierter Stoff, vernebelt, eine Stunde	Inhalations-Risiko-Test; keine Todesfälle, keine toxischen Effekte	keine Angaben	CHIP, 1984
Ratte	intraperitoneal	140	LD ₅₀ ; starke Krämpfe	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Maus	intraperitoneal	180	LD ₅₀ ; Dyspnoe, Krämpfe	7 Tage	BASF, 1975
Maus	intraperitoneal	100	LD ₅₀	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Maus	intraperitoneal	250	LD ₅₀	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Maus, CD1, weiblich	intraperitoneal	127	LD ₅₀ ; Methämoglobinämie	24 Stunden	Smith und Layne, 1969
Meerschweinchen	intraperitoneal	70	LD ₅₀	keine Angaben	Gross und Smith, 1985; CHIP, 1984
Hydroxylaminsulfat					
Ratte	oral	642	LD ₅₀ ; Dyspnoe, Krämpfe, vergrößerte und blauviolett bis blauschwarz verfärbte Milz	7 Tage	BASF, 1969

Tabelle 1. Daten zur akuten Toxizität von Hydroxylamin und seinen Salzen

Spezies, Stamm, Geschlecht*	Zufuhrweg	Dosis (mg/kg Körpergewicht bzw. mg/m ³)	Effekt	Nachbeobachtungszeitraum	Literatur
Ratte	oral	545	LD ₅₀ ; Schädigung der Leber, Milz und Nieren (keine weiteren Angaben), schwarz verfärbte Milz	keine Angaben	Commercial Solvents Corporation, 1960
Ratte	oral	500 - 1000	LD ₅₀	keine Angaben	Allied Corporation, 1983 a
Maus	oral	1000	LD ₅₀	keine Angaben	Litton Bionetics, 1980
Katze	oral	200	von 3 männlichen und 3 weiblichen Tieren ein Weibchen gestorben; Methämoglobinämie, Apathie, Speichelfluß, vereinzelt Zyanose	1 - 9 Tage bis zur Symptommfreiheit	BASF, 1981
Kaninchen	dermal	400	24 Stunden Einwirkungszeit ohne Todesfälle, keinerlei Befunde	8 Tage	BASF, 1980
Ratte	inhalativ	angereicherte Atmosphäre bei 20 °C	Inhalations-Risiko-Test; alle 12 Tiere vertrugen ohne Symptome eine 8stündige Inhalation	keine Angaben	BASF, 1969
Ratte	inhalativ	atomisierter Stoff, vernebelt, eine Stunde	Inhalations-Risiko-Test, keine Todesfälle, keine toxischen Effekte	keine Angaben	CHIP, 1984
Maus	intraperitoneal	142	LD ₅₀ ; Dyspnoe, Krämpfe; vergrößerte und blauviolett bis blauschwarz verfärbte Milz	7 Tage	BASF, 1969
Kaninchen, Weiße Neuseeländer	dermal	1500 - 2000	LD ₅₀ ; starke Reizung mit nekrotischen Veränderungen der Haut, Zyanose, Hypothermie; Dunkelverfärbung und Vergrößerung der Milz; dosisabhängige Verminderung der Erythrozyten- und Leukozytenzahlen	14 Tage	Allied Corporation, 1983 b
Hydroxylaminnitrat					
Ratte	oral	882	LD ₅₀ ; Zyanose, Krämpfe, Dyspnoe	keine Angaben	U.S. Army Environmental Hygiene Agency, 1982
Kaninchen	oral	100	LD ₅₀ ; Zyanose, Krämpfe, Dyspnoe	keine Angaben	U.S. Army Environmental Hygiene Agency, 1982
Kaninchen	dermal	70	LD ₅₀ ; Zyanose, Krämpfe, Dyspnoe	keine Angaben	U.S. Army Environmental Hygiene Agency, 1982

* soweit angegeben

Ende Tabelle 1

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, führt die akute orale Gabe hoher Dosen von Salzen des Hydroxylamins (Hydrochlorid, Sulfat und Nitrat) an Ratten und Mäuse zu zwar schwankenden, aber in der Tendenz einheitlichen Werten für die LD₅₀. Danach besitzen die untersuchten Verbindungen eine mäßige akute Toxizität, die sich in LD₅₀-Werten zwischen 400 und 1000 mg/kg Körpergewicht ausdrückt und nach heutigen Gesichtspunkten eine Einstufung als „gesundheitsschädlich“ erfordert. Ein deutlicher Unterschied der Wirkungsstärke zwischen den drei Salzen des Hydroxylamins kann aus den vorliegenden Befunden nicht gefolgert werden, insbesondere wenn man die LD₅₀-Werte mit den entsprechenden Molekulargewichten auf die molare Ebene, d. h. in mM/kg Körpergewicht, umrechnet. Eine Ausnahme bildet der Befund der oralen LD₅₀ von 192 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht an Ratten, der sich in das Bild der sonstigen Daten nicht einfügt. Am Hund wurde mit Hydroxylamin eine orale LD₅₀ von 200 mg/kg Körpergewicht bestimmt, beim Kaninchen mit Hydroxylaminnitrat eine solche von 100 mg/kg Körpergewicht.

Zur akuten dermalen Toxizität liegen Untersuchungen an Kaninchen mit Hydroxylaminsulfat und Hydroxylaminnitrat vor. Während für Hydroxylaminsulfat der hohe LD₅₀-Wert von 1500 bis 2000 mg/kg Körpergewicht abgeleitet wird (Allied Corporation, 1983 b), liegt für Hydroxylaminnitrat der nur als Sekundärzitat belegte LD₅₀-Wert von 70 mg/kg Körpergewicht vor. Diese große Differenz kann nicht ohne weiteres erklärt werden, es sei denn, man nimmt an, daß bei den jeweils angewendeten Applikationsbedingungen Hydroxylaminsulfat wesentlich schlechter durch die Haut resorbiert wurde als Hydroxylaminnitrat. Bei der subkutanen Injektion von Hydroxylamin an Ratten und Hydroxylaminhydrochlorid an Hunden zeigten sich übereinstimmend niedrige Werte von 29 bzw. 70 mg/kg Körpergewicht.

In Inhalations-Risiko-Testen mit Hydroxylaminhydrochlorid und Hydroxylaminsulfat traten keine Todesfälle auf, was bei dem geringen Dampfdruck der zu prüfenden Stoffe auch zu erwarten ist.

Die intraperitoneale Applikation von Hydroxylamin in hohen Dosen führt bei Maus und Ratte zu gut übereinstimmenden Werten für die LD₅₀ von 59 bzw. 60 mg/kg Körpergewicht (Lewis und Tatken, 1982). Für Hydroxylaminhydrochlorid streuen die LD₅₀-Werte nach intraperitonealer Gabe bei Mäusen zwischen 100 und 250 mg/kg Körpergewicht. Für Ratten liegt der einzige berichtete Wert mit 140 mg/kg Körpergewicht im gleichen Bereich.

Eine Untersuchung am Meerschweinchen zeigte einen deutlich niedrigeren Wert von 70 mg/kg Körpergewicht. Mit Hydroxylaminsulfat liegt nur eine Untersuchung an Mäusen vor, die einen gut in das Gesamtbild passenden LD₅₀-Wert von 142 mg/kg Körpergewicht ergab.

Unabhängig vom Applikationsweg wurden bei der Zufuhr letaler Dosen von Hydroxylamin und seinen Salzen als klinische Symptome Zyanose, Dyspnoe und Krämpfe beobachtet. Schädigungen der Leber, der Nieren und insbesondere der Milz wurden beschrieben. Bei der dermalen Verabreichung hoher Dosen des Hydroxylaminsulfats kam es zu nekrotischen Veränderungen der Haut, Zyanose und Hypothermie. Vielfach wurde eine Methämoglobinämie beobachtet.

• **Wirkungen auf das hämatopoetische System**

Hydroxylaminhydrochlorid

Bei weiblichen CD1-Mäusen stieg der Methämoglobingehalt nach intraperitonealer Injektion von Hydroxylaminhydrochlorid innerhalb von 10 Minuten nach der Gabe von 97 bis 153 mg/kg Körpergewicht auf ein Maximum von 13 bis 14 % an, kehrte jedoch anschließend rasch (innerhalb von 60 Minuten) zum Normbereich zurück. Der Tod der Tiere trat nach hohen Dosen ebenfalls innerhalb von 10 Minuten ein (Smith und Layne, 1969).

76 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht führten nach intraperitonealer Injektion bei männlichen CD1-Mäusen bereits nach 7 Minuten zur Bildung eines maximalen Methämoglobingehaltes von ca. 35 %. Auch bei diesen Untersuchungen trat der Tod der Tiere innerhalb der Zeit ein, in der der Höchstgehalt an Methämoglobin erreicht war (7 bis 15 Minuten; Kruszyna et al., 1982).

Die einmalige subkutane Gabe von 5 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht bewirkte bei Kaninchen nach einer Stunde 18 % Methämoglobin. Nach wiederholter täglicher Gabe dieser Dosis über eine Woche kam es zu schwerer Allgemeinschädigung der Tiere mit Durchfall und Gewichtsverlust. 5/7 Kaninchen verendeten während des Versuches. Der Methämoglobingehalt des Blutes erreichte nach 10tägiger Behandlung bis zu 60 %. Bei einmaliger subkutaner Injektion von 20 mg/kg Körpergewicht an Kaninchen betrug der Methämoglobingehalt nach einer Stunde 23 bis 26 % und

nach 24 Stunden noch 16 bis 22 %. Die tägliche subkutane Verabreichung von 1 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht über eine Woche an Kaninchen führte zu mittelgradiger Anämie (Arnol'dova und Speranskii, 1963).

Hydroxylaminsulfat

Es wurde berichtet, daß die einmalige orale Verabreichung von 250 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht in wäßriger Lösung an 5 Ratten zu leichter vorübergehender Zyanose und Trägheit und die Gabe von 500 mg/kg Körpergewicht zu ausgeprägter Zyanose führte. Tränenfluß und Krämpfe fanden sich bei 2/5 Tieren, die innerhalb von einer Stunde nach der Behandlung starben (Methämoglobin positiv). Die überlebenden Tiere waren 24 Stunden nach der Applikation ohne Befund (ICI, 1984).

Zur Prüfung der Methämoglobinbildung durch Hydroxylaminsulfat erhielten 3 männliche und 3 weibliche Katzen 200 mg/kg Körpergewicht als 2prozentige wäßrige Lösung einmal oral per Schlundsonde. Die Tiere erbrachen wiederholt und 2 Katzen verendeten nach 2 Tagen. Die Methämoglobingehalte lagen 4 Stunden nach der Applikation zwischen 10 und 42 %. Die einmalige Gabe von 50 mg/kg Körpergewicht an 2 Katzen wurde mit Methämoglobinkonzentrationen von 12 bzw. 22 % überlebt. Es traten Speichelfluß und in einem Fall Zyanose und Erbrechen auf. Die Sektion der verendeten Tiere ergab uncharakteristische Befunde (BASF, 1981).

Hydroxylaminsulfat wurde sowohl nach subkutaner als auch nach epikutaner Applikation auf seine methämoglobinbildende Wirkung an Ratten geprüft. Subkutan wurden 10 mg/kg Körpergewicht injiziert, bei epikutaner Behandlung wurden Dosen von 10, 100 und 500 mg/kg Körpergewicht (50prozentig in destilliertem Wasser) appliziert, die auf der Applikationsstelle mit einer Plastikabdeckung fixiert wurden (okklusiv). Bei allen behandelten Ratten war der Methämoglobingehalt 48 Stunden nach der Exposition leicht, aber statistisch signifikant erhöht mit den höchsten Werten nach subkutaner Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht (3,3 %) und nach epikutaner Applikation von 500 mg/kg Körpergewicht (4,0 %). Bei diesen beiden Gruppen wurde eine statistisch signifikante Verminderung der Erythrozyten 14 Tage nach der Behandlung festgestellt. Die Retikulozyten waren mit

130000/ μ l nur nach epikutaner Applikation von 500 mg/kg Körpergewicht statistisch signifikant erhöht (Kontrolle 70000/ μ l; Derelanko et al., 1987).

In weiteren Untersuchungen zum Speziesvergleich zu Ratten wurden weiblichen Neuseeland-Kaninchen einmalig subkutan 10 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht injiziert. Andere Gruppen erhielten epikutane Applikationen von 1, 10, 100 und 500 mg/kg Körpergewicht unter einer Plastikabdeckung (okklusiv) sowie 100, 500 und 1000 mg/kg Körpergewicht unter einer Gaze-Abdeckung (semiokklusiv) über 24 Stunden. Während nach Dosen von bis zu 1000 mg/kg Körpergewicht unter der Gaze-Abdeckung keine Todesfälle beobachtet wurden, starben bei Verwendung der Plastikabdeckung nach Applikation von 500 mg/kg Körpergewicht 9/10 und nach Applikation von 100 mg/kg Körpergewicht 2/10 Kaninchen. Nach 24 Stunden zeigten sich im Applikationsbereich Hautirritationen und Nekrosen, die sich im Fall der Plastikabdeckung als schwerwiegender erwiesen. Zyanose wurde bei den Tieren beobachtet, denen 500 bzw. 100 mg/kg Körpergewicht unter der Plastikabdeckung appliziert worden waren und zu einem geringen Grad auch nach subkutaner Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht. Während 500 mg/kg Körpergewicht unter der Plastikabdeckung 48 Stunden nach Applikation einen Methämoglobinspiegel von 61 % auslösten, fanden sich selbst bei 1000 mg/kg Körpergewicht unter Gaze-Abdeckung zum gleichen Zeitpunkt nur 6,2 % Methämoglobin. Die Anzahl der Erythrozyten war nach epikutaner Applikation unter Plastikabdeckung dosisabhängig (nach 4 Tagen $1,2 \times 10^6$ bis $4,4 \times 10^6$ / μ l) sowie nach subkutaner Injektion (ca. 3×10^6 / μ l) reduziert, nach epikutaner Applikation unter Gaze-Abdeckung dagegen nur nach 1000 mg/kg Körpergewicht leicht vermindert ($4,4 \times 10^6$ / μ l, Kontrolle 6×10^6 / μ l). Entsprechend war die Retikulozytenzahl erhöht. Heinz-Körper fanden sich 4 Tage nach der Exposition in den Erythrozyten der Tiere bei Verwendung der Plastikabdeckung oder nach subkutaner Injektion ebenfalls mit erhöhter Inzidenz. Nach 14 Tagen zeigten die beobachteten Veränderungen einen Trend zur Reversibilität. Die Sektionsbefunde ergaben bei allen exponierten Kaninchen Vergrößerung und Dunkelverfärbung der Milz. Hydroxylaminsulfat erwies sich als toxischer für Kaninchen als für Ratten nach dermalen Applikation äquivalenter Dosen, die zu vergleichbaren hämatologischen Veränderungen führten (Derelanko et al., 1987).

• Mechanismus der Methämoglobinbildung

Der Mechanismus der toxischen Wirkung von Hydroxylamin und seinen Salzen auf die Erythrozyten ist in vitro ausführlich untersucht worden. Nach den vorliegenden Befunden ist der primäre Effekt die Methämoglobinbildung, bei der durch Reaktion von Hydroxylamin mit Hämoglobin freie Radikale gebildet werden, welche Lipidperoxidation, Hemmung reduktiver Enzyme und Glutathion-Verlust bewirken. Bei der Behandlung von menschlichem Blut mit Hydroxylamin in Konzentrationen von 0,033 und 0,23 mg/ml über eine Stunde bei 37 °C wurde eine dosisabhängige Methämoglobinbildung bis zu 54 % in der hohen Konzentration beobachtet. Die Freisetzung von Lipidperoxid-Produkten stieg von der niedrigen zur hohen Konzentration auf das 7½fache an und die Verminderung des Glutathions war auf mehr als das 10fache gesteigert. Gleichlaufend verhielten sich die Aktivitäten der NADPH-Methämoglobinreduktase und der Glutathion-S-Transferase (Spooen und Evelo, 1997).

Eine weitere Untersuchung bestätigt die vorstehenden Befunde. Es wurden Erythrozyten und Hämolysat aus menschlichem Blut eingesetzt und eine Stunde lang bei 37 °C mit Hydroxylamin (99prozentig) in Konzentrationen von 1 bis 7 mM (0,033 bis 0,23 mg/ml) inkubiert. Die Methämoglobinbildung im Hämolysat war konzentrationsabhängig und betrug bei 7 mM über 50 % des vorhandenen Hämoglobins. In der Erythrozytensuspension wurden mit 3 mM Hydroxylamin 88 % Methämoglobinbildung erreicht. Parallel dazu nahm konzentrationsabhängig der Gehalt an Glutathion ab (0,47 μ mol/g Hämoglobin/mmol Hydroxylamin in Hämolysat), die Aktivität der Glutathion-S-Transferase sank um bis zu 3,12 U/g Hämoglobin im Hämolysat bei 7 mM Hydroxylamin und die Lipidperoxidbildung (gemessen als Thiobarbitursäure reaktive Substanz) stieg bis auf 240 nmol/l im Hämolysat bei 2,5 mM Hydroxylamin an. In Suspensionen von Erythrozyten wurden vergleichbare Werte gemessen. Die Inkubation von primären Leberzellen, isoliert aus Lebern von männlichen Ratten (Stamm BN/M, etwa 250 g schwer) mit gleichen Konzentrationen an Hydroxylamin ergab keinen Anstieg der Lipidperoxidation und keine Absenkung des Glutathion-Gehaltes und der Glutathion-S-Transferase-Aktivität, woraus die Autoren schlossen, daß sich nur in den Erythrozyten mit Hydroxylamin Radikale bilden können, die für die Lipidperoxidation notwendig sind (Palmen und Evelo, 1998).

In einer dritten Studie wurden die bei der Einwirkung von Hydroxylaminhydrochlorid auf Erythrozyten entstehenden Reaktionsprodukte mit der Technik der Elektronenspinresonanz (ESR) und spektrophotometrischen Methoden *in vitro* untersucht. Bei der Vermischung einer Suspension von Rindererythrozyten (13,5 mM an Häm) mit einer 150 mM Hydroxylaminhydrochlorid-Lösung (entsprechend 10,4 mg/ml) in einem Durchflußsystem konnte die Existenz des Dihydrinitroxid-Radikals $\text{NH}_2\text{O}^\cdot$ nachgewiesen und die Bildung eines nicht stabilen Peroxy-Zwischenproduktes des Hämoglobins wahrscheinlich gemacht werden. Danach reagiert Hydroxylamin primär mit dem Hämoglobin in den Erythrozyten unter Bildung sehr reaktiver Radikale, was letztlich zur Methämoglobinbildung führt. Weiterhin wird Eisen aus dem Hämoglobin freigesetzt als Konsequenz der Öffnung des Prophyrinringes, wie durch Inkubation von Rindererythrozyten (2 mM an Häm) mit 2 mM Hydroxylaminhydrochlorid (entsprechend 0,15 mg/ml) nachgewiesen werden konnte. Der Gehalt an Gesamt-Thiol, im wesentlichen Glutathion, sinkt in den Erythrozyten um 45 % ab. Unter diesen Versuchsbedingungen kam es zu keiner Hämolyse durch die Einwirkung von Hydroxylaminhydrochlorid. Es wurde jedoch die Fluidität der Erythrozytenmembranen stark herabgesetzt als Konsequenz oxidativer Angriffe auf Bestandteile dieser Membranen (Stolze et al., 1996).

Um festzustellen, ob noch niedrige Dosen von Hydroxylaminsulfat zu hämatologischen Veränderungen bei Kaninchen nach dermalen Applikation führen, wurde eine Studie durchgeführt, bei der je 2 weibliche Neuseeland-Kaninchen 10, 50 und 100 mg/kg Körpergewicht auf die geschorene Rückenhaut unter Okklusivbedingungen erhielten. Um einen Verlust der kleinen Applikationsmenge zu verhindern, wurde die Applikationsstelle anstatt mit Gaze mit einer Plastikabdeckung versehen. Die Expositionsdauer betrug 24 Stunden. Die Blutuntersuchung ergab 4 Tage nach der Behandlung eine dosisabhängige hämolytische Anämie. Ein no effect level konnte nicht erreicht werden (Allied Corporation, 1983 b).

Subakute Toxizität

In einem Dosisfindungsversuch für eine subchronische Studie (siehe Kapitel 7.5; BASF, 1989 b) erhielten je 5 männliche und 5 weibliche Wistar-Ratten (mittleres Anfangsgewicht 164,8 bzw. 135,2 g) 4 Wochen lang 0 (Kontrollen), 25, 100, 400 bzw. 1600 ppm Hydroxylaminsulfat (Reinheitsgrad

$\geq 99 \%$) mit dem Trinkwasser. Die analytischen Werte lagen jedoch in den unteren Dosierungen mit 0 bis 3 ppm, 18 bis 37 ppm bzw. 235 bis 325 ppm deutlich niedriger. Die obere Dosis entsprach mit einem analytischen Wert von 1530 bis 1760 ppm etwa dem Soll-Wert (1600 ppm). Bei den männlichen und weiblichen Ratten der oberen Dosisgruppe kam es zu einer schweren hämolytischen Anämie und Methämoglobinämie mit kompensatorisch gesteigerter Erythropoese sowie den damit in Zusammenhang stehenden klinischen (Zyanose) und pathologischen (Organgewichtsveränderungen, Splenomegalie, Hämosiderose, extramedulläre Hämatopoese) Befunden. Sie traten in abgeschwächter Form auch bei den Ratten der 400 ppm-Gruppe (analytische Werte 235 bis 325 ppm) auf, aber nur vereinzelt bei den Ratten der 100 ppm-Gruppe (Ist-Wert ca. 18 bis 37 ppm). Die Tiere der 25 ppm-Gruppe (analytische Werte 0 bis 3 ppm) ließen keine substanzbedingten Befunde erkennen. Unter Berücksichtigung der analytischen Ergebnisse lag der no effect level in diesem Versuch für die männlichen Ratten bei 3 ppm und für die weiblichen Ratten bei 18 ppm (BASF, 1989 a).

Auf die geschorene Haut der Lendenregion von männlichen weißen Neuseeland-Kaninchen wurde an 5 Tagen/Woche 3 Wochen lang Hydroxylaminnitrat in Dosierungen von 0 (Wasserkontrollen), 0,7, 1,5, 2,9, 5,9 und 11,7 mg/kg Körpergewicht mit einer Mikrospritze aufgetragen (80prozentige Lösung in Wasser) und anschließend mit Mull abgedeckt. Nach 3 Wochen zeigten die Tiere aller Dosisgruppen Hautnekrosen an der Applikationsstelle, die sich bereits nach 3 bis 5 Behandlungstagen zu entwickeln begannen. Schon 24 Stunden nach Applikation wurden in der höchsten Dosis Heinz-Körper in den Erythrozyten der behandelten Tiere gefunden. Nach einer Woche waren sie dosisabhängig bei allen Dosisgruppen nachweisbar, mit Ausnahme der niedrigsten. Die Tiere aller Dosisgruppen, ausgenommen der niedrigsten, entwickelten dosisabhängig eine Anämie mit erniedrigten Erythrozytenzahlen, Hämoglobinkonzentrationen und Hämatokritwerten. In den 3 höchsten Dosisgruppen war das Milzgewicht deutlich erhöht und es trat Hämatopoese und Dunkelfärbung auf. In den beiden oberen Dosisgruppen wurde eine Hämatopoese der Leber beschrieben und zusätzlich in der höchsten Dosis eine Herzvergrößerung. Die klinisch-chemischen Untersuchungen zeigten keine Veränderungen gegenüber der Kontrolle. Die histopathologischen Untersuchungen bestätigten die oben beschriebenen Veränderungen in den Hauptzielorganen und dem Applikationsbereich. Weitere substanzbedingte histopathologische Veränderungen

wurden nicht festgestellt (U.S. Army Environmental Hygiene Agency, 1982).

7.3 Haut- und Schleimhautverträglichkeit

Hydroxylamin

Zur Hautreizwirkung von Hydroxylamin liegen keine Informationen vor.

Die Applikation einiger Tropfen einer 10prozentigen Hydroxylamin-Lösung in den Konjunktivalsack des Kaninchenauges rief eine mäßige Rötung und „Tränenträufeln“ hervor (Binz, 1888).

Hydroxylaminhydrochlorid

2 Kaninchen (weiße Wiener) erhielten eine 80prozentige wäßrige Anreibung von Hydroxylaminhydrochlorid für 1, 5 und 15 Minuten bzw. 20 Stunden auf die geschorene Rückenhaul (1 bis 15 Minuten semiokklusiv, 20 Stunden okklusiv). Nach einer Einwirkungszeit von 1 und 5 Minuten traten keine Reizungen auf, nach 15 Minuten kam es zu einer leichten fleckigen Rötung, die nach einer Woche reversibel war. Auch nach 20stündiger Einwirkung war der gleiche, nach einer Woche ebenfalls reversible Befund zu verzeichnen (BASF, 1975). Somit wirkte der Stoff leicht reizend an der Haut.

In einer Untersuchung an Meerschweinchen wurde die gefettete Haut mit einer 50prozentigen Anreibung von Hydroxylaminhydrochlorid behandelt, mit einer Ölschicht bedeckt und mit Plastikmaterial abgedeckt. Die Applikation wurde alle 24 Stunden neu durchgeführt und über 5 bis 8 Tage fortgesetzt. Im Applikationsbereich traten während der Behandlung Erytheme und Knötchen sowie Infiltrationen und Hautschuppungen auf (keine weiteren Angaben; Arnol'dova und Speranskii, 1963).

Am Kaninchenaug (2 Tiere) waren nach Instillation von 50 mg Hydroxylaminhydrochlorid in den Konjunktivalsack nach einer Stunde ein starkes Ödem zu beobachten sowie eine starke Trübung der Hornhaut mit schmieriger Auflage. Nach 24 Stunden bestanden Ödem, starke Trübung, ziliare Injektion und Eiterung, nach 8 Tagen starkes Ödem, starke Trübung, Iritis,

einwachsende Gefäße und ein Staphylo. Über den gesamten Zeitraum war eine grau-weiße Verfärbung der Konjunktiven und der Nickhaut zu verzeichnen (BASF, 1975). Somit wirkte der Stoff am Kaninchenaug stark reizend.

Wurde eine 8prozentige Lösung des Hydroxylaminhydrochlorids 5 Minuten lang kontinuierlich in den Konjunktivalsack des Kaninchenauges getropft, so kam es nicht zu Hornhautschädigung. Nach Tropfung der gleichen Lösung über 30 Minuten wurde jedoch eine extreme Bindehautschwellung mit Mydriasis beobachtet. Die Hornhaut war nicht getrübt, am nächsten Tag jedoch zyanotisch und stark ödematös (Grant, 1974).

Hydroxylaminsulfat

Eine kurz dauernde Einwirkungszeit (1, 5 und 15 Minuten) einer 40prozentigen wäßrigen Lösung von Hydroxylaminsulfat auf die Rückenhaul führte bei weißen Kaninchen zu keinerlei Zeichen einer primären Reizwirkung. Auch bei 20stündiger Applikation einer gesättigten Lösung kam es am Kaninchenrücken nur zu geringgradigen Rötungen, die innerhalb von 24 Stunden abgeklungen waren. Am Kaninchenohr fehlte jede Reizwirkung (BASF, 1956).

2 Kaninchen (weiße Wiener) bekamen eine 80prozentige wäßrige Anreibung von Hydroxylaminsulfat auf die geschorene Rückenhaul. Die Einwirkungszeiten betragen 1, 5 und 15 Minuten (semiokklusiv) sowie 20 Stunden (okklusiv). Nach 1- und 5minütiger Applikation traten keine Reizerscheinungen auf, nach 15minütiger Applikation kam es zu einer leichten Rötung und nach 20stündiger Einwirkung zu einer starken Rötung. Die Befunde waren nach 8 Tagen reversibel (BASF, 1969). Der Stoff wirkte somit in dieser Untersuchung schwach reizend an der Haut.

Die dermale Applikation einer 20prozentigen Hydroxylaminsulfat-Lösung auf die Innenseite des Kaninchenohres 2mal pro Tag an 3 aufeinanderfolgenden Tagen führte nicht zu Hautreizungen (ICI, 1984).

Die hautreizende Wirkung von Hydroxylaminsulfat wurde auch in vitro an Haut-Organ-Kulturen von Kaninchen untersucht. Rückenhaul von 6 weißen Neuseeland-Kaninchen wurde in 2 cm²-Stücken über 14 bis 16 Stunden in Kultur gehalten und die epidermale Seite nach vorsichtiger Trocknung mit

100 µl einer Hydroxylaminsulfat-Lösung (0,5 oder 5 %, entsprechend 5 oder 50 mg/ml) behandelt. Gemessen wurde der Austritt von Fettsäuren aus dem Gewebe, die Hemmung der Umwandlung des Tetrazoliumsalses MTT, die Hemmung der Zellproliferation und die histomorphologischen Veränderungen. Die höhere Konzentration an Hydroxylaminsulfat (50 mg/ml) zeigte in allen Testen signifikante Ergebnisse an der Kaninchenhaut. Bei der niedrigeren Konzentration wurden keine Effekte gefunden (van de Sandt und Rutten, 1995).

In einer weiteren in vitro-Prüfung wurde 97prozentiges Hydroxylaminsulfat in einem artifiziellen Hautmodell, das biomakromolekulare Proteine als 3 mm dicke Schicht auf einer Zellulosemembran verwendet, auf Hautreizung getestet. Es wurde ein Effekt beobachtet, der einer schwachen Reizwirkung des Hydroxylamins zugeordnet wurde. Die Vorhersagesicherheit der Methode ist bei schwach reizenden Stoffen noch nicht ausreichend belegt (Gordon et al., 1994).

An den Schleimhäuten des Kaninchenauges bewirkte ein Tropfen einer 40prozentigen wäßrigen Lösung von Hydroxylaminsulfat eine deutliche Rötung und geringe Schwellung der Bindehäute ohne sichtbare Schäden der Hornhaut. Die Reizerscheinungen waren nach 24 bis 48 Stunden völlig abgeklungen (BASF, 1956). Hydroxylaminsulfat wirkte demnach in der eingesetzten Konzentration leicht reizend am Kaninchenauge.

Die Instillation von 50 mg Hydroxylaminsulfat in den Konjunktivalsack des Kaninchenauges (2 Tiere) bewirkte nach einer Stunde leichte Rötung und leichtes Ödem und nach 24 Stunden leichte Rötung und starkes Ödem sowie starke Trübung der Cornea. Nach 8 Tagen waren diese Befunde bis auf eine fragliche Hornhauttrübung reversibel (BASF, 1969). Hydroxylaminsulfat wirkte demnach am Auge deutlich reizend.

7.4 Sensibilisierende Wirkung

Hydroxylamin

Keine Information vorhanden.

Hydroxylaminhydrochlorid

In einer Untersuchung zur sensibilisierenden Wirkung von Hydroxylaminhydrochlorid an Meerschweinchen, die bereits in der Studie zur Hautreizwirkung (siehe Kapitel 7.3; Arnol'dova und Speranskii, 1963) verwendet worden waren, wurden 12 Tage nach dem Auftreten der Hautveränderungen Bereiche der gesunden Haut mit Mull abgedeckt, der mit einer 25prozentigen Anreibung von Hydroxylaminhydrochlorid getränkt war. 24 Stunden später wurden Veränderungen der Haut in Form von Erythemen und Knötchenbildung im Applikationsbereich als Zeichen einer hautsensibilisierenden Wirkung beobachtet. Kontrolltiere ohne Vorbehandlung mit 50prozentiger Hydroxylaminhydrochlorid-Anreibung zeigten diese Effekte nicht (Arnol'dova und Speranskii, 1963).

In einer weiteren Untersuchung wurde die sensibilisierende Wirkung von Hydroxylaminhydrochlorid an Meerschweinchen mit subkutaner Vorbehandlung und intrakardialer Auslösung geprüft. Eine Gruppe von 6 Meerschweinchen erhielt in Intervallen von 12 Tagen 3mal subkutan je 7 mg/kg Körpergewicht (entsprechend 1/10 der letalen Dosis). Eine zweite Gruppe von 6 Meerschweinchen bekam in Intervallen von 6 Tagen 5mal subkutan je 13,5 mg/kg Körpergewicht (entsprechend 1/4 der letalen Dosis). Die Behandlung wurde symptomlos vertragen. 12 Tage nach der letzten subkutanen Injektion erhielt die erste Gruppe 3,5 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht (1/20 der letalen Dosis) intrakardial injiziert. Der zweiten Gruppe wurden 6 Tage nach der letzten subkutanen Injektion ebenfalls 3,5 mg/kg Körpergewicht intrakardial verabreicht. 15 bis 20 Minuten nach der Injektion verendeten 4 der insgesamt 12 Tiere. Die Übrigen waren unruhig, schüttelten die Köpfe, kratzten sich, hatten Atemnot und Zuckungen. 4 Meerschweinchen zeigten 1 bis 2 Minuten nach der Injektion Urin- und Kotabgang. Die gleiche intrakardiale Dosis von 3,5 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht wurde von 2 Kontrolltieren symptomlos vertragen. Die Autoren schlossen hieraus, daß Hydroxylaminhydrochlorid sensibilisierend wirkt (Arnol'dova und Speranskii, 1963).

Hydroxylaminsulfat

Zur Prüfung der hautsensibilisierenden Wirkung von Hydroxylaminsulfat wurden 15 Meerschweinchen (Stamm Hartley) in der Testgruppe und 6 in

der Kontrollgruppe dem Maximierungstest nach Magnusson und Kligman unterzogen. Für die intradermale Injektion wurde eine Konzentration von 5 %, für die topische Induktion von 25 % und für die Auslösung von 10 % Hydroxylaminsulfat in Wasser verwendet. 100 % der behandelten Tiere reagierten mit einer positiven allergischen Reaktion (keine weiteren Angaben; Gad et al., 1986).

Zur Prüfung der dermalen Sensibilisierung erhielten 10 Meerschweinchen werktäglich ca. 0,1 ml einer 40prozentigen wäßrigen Hydroxylaminsulfat-Lösung auf die linke geschorene Flankenhaut in Kreuzform aufgespritzt. Es kam bei allen Tieren zu deutlichen Hautreizungen, die nach 8 bis 10 Tagen wieder abgeklungen waren. 12 Tage nach der letzten Applikation wurde die rechte, bisher unbehandelte Flankenhaut einmal mit ca. 0,1 ml einer primär nicht reizenden 4prozentigen Hydroxylaminsulfat-Lösung bestrichen und die Hautreaktionen nach 8, 12 und 24 Stunden registriert. Bei 8/10 Tieren kam es zu lokalen Reaktionen mit Rötung, Ödem und Knötchen. Hydroxylaminsulfat erwies sich also in diesem Versuch als hautsensibilisierend (BASF, 1956).

Hydroxylaminsulfat wirkte auch im Mäuseohr-Schwellungstest sensibilisierend. An weiblichen CF-1-Mäusen wurde die Induktion und Auslösung mit 10prozentigem Hydroxylaminsulfat in 25prozentigem Ethanol ausgeführt. 33 % der behandelten Tiere reagierten positiv (Gad et al., 1986). Die Befunde konnten aber später im selben Laboratorium nicht bestätigt werden (Dunn et al., 1990).

Im Patch-Test nach Buehler am Meerschweinchen konnte keine hautsensibilisierende Wirkung für Hydroxylaminsulfat nachgewiesen werden. Von 20 Tieren der Versuchsgruppe reagierte keines auf die Behandlung mit einer 0,2prozentigen Hydroxylaminsulfat-Lösung (Griffith und Buehler, 1977).

In einer Studie wurde die hautsensibilisierende Wirkung eines Waschmittels, das 2 % Hydroxylaminsulfat enthielt, getestet. Gruppen von 10 weißen Meerschweinchen wurde das Waschmittel mit und ohne Zusatz des Hydroxylaminsulfats in einer 10prozentigen wäßrigen Zubereitung 3mal hintereinander in Kreuzform auf die enthaarte linke Flanke gespritzt (5mal wöchentlich, 2 Wochen lang). Nach einer Pause von 10 Tagen wurde zur Auslösung einer möglichen Kontaktallergie die enthaarte rechte Flanke der Tiere mit der gleichen 10prozentigen Zubereitung einmalig gespritzt. Es ergab

sich kein Anhaltspunkt für eine hautsensibilisierende Wirkung. Wurde die wiederholte Pinselung der Haut in den ersten 2 Wochen mit einer gesättigten Lösung von Hydroxylaminsulfat (etwa 50prozentig) durchgeführt, so zeigten bei der nachfolgenden einmaligen Pinselung nach 9 Tagen mit der gleichen Lösung 8 von 10 Tieren eine deutliche Sensibilisierung der Haut. Wurde nach weiteren 16 Tagen noch einmal mit einer 50prozentigen wäßrigen Zubereitung des Waschmittels, das 2 % Hydroxylaminsulfat enthielt, gespritzt, so zeigten alle 10 Tiere eine deutliche allergische Reaktion (BASF, 1970).

7.5 Subchronische und chronische Toxizität

Hydroxylamin

Keine Information vorhanden.

Hydroxylaminhydrochlorid

Gruppen von jeweils 10 weiblichen, 3 Monate alten Ratten wurden mit 100, 200, 300, 400 und 500 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht/Tag, formuliert in Milch, bis zu 16 Wochen oral behandelt. Jeweils 2 Tiere wurden nach 1, 2, 4, 8 und 16 Wochen getötet und verschiedene Organe makroskopisch und histopathologisch untersucht. Abhängig von der Höhe der verabreichten Dosis und der Verabreichungszeit wurden folgende Organschäden beschrieben: Magenschleimhautkeratinisierung, Enteritis und Colitis mit leukozytärer Infiltration, Vergrößerung und dunkle Verfärbung der Leber, zentrilobuläre Leberverfettung, Hypertrophie der Leberzellen, Koagulationsnekrose und mononukleare Infiltrate im Herzen, Milzhypertrophie und -hyperämie und Hämorrhagien in der Niere (keine weiteren Angaben; Sami, 1980).

Bei Ratten, die 5 Monate lang an 6 Tagen/Woche mit 333 bis 380 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht, formuliert in Milch, behandelt wurden, zeigten sich keine behandlungsabhängigen Effekte auf das Wachstum und den Allgemeinzustand. Es wurden jedoch Milzvergrößerung um das 4- bis 5fache und Atrophie der Schilddrüsen um ca. 50 % beschrieben (keine weiteren Angaben; Riemann, 1950).

An Meerschweinchen wurde an bis zu 235 Tagen 0,02 bis 0,3 % Hydroxylaminhydrochlorid im Trinkwasser verabreicht. Ab einer Dosis von 0,15 % (entsprechend 447 mg/kg Körpergewicht, berechnet aus der Wasseraufnahme der Tiere) traten Körpergewichtsverluste auf. 5 von 8 Tieren starben zwischen dem 17. und 60. Behandlungstag. Bei einer Dosis von 0,20 % (entsprechend 530 mg/kg Körpergewicht) starben alle Tiere innerhalb von 44 Tagen. Die mit einer Dosis bis zu 0,10 % (entsprechend 311 mg/kg Körpergewicht) behandelten Tiere überlebten ohne deutliche äußere Symptome. Pathologische Veränderungen, teilweise bis in die niedrigsten Dosisgruppen, waren Hydrothorax, Hämochromatose der Parenchymorgane, starke Splenomegalie, Hyperplasie der hämatopoetischen Gewebe und Veränderungen an Schilddrüse, Nebennieren (Teilatrophie) sowie den Genitalien (Atallah, 1966).

4 Milchkühe, denen nach dem 2. Monat der Trächtigkeit über die gesamte weitere Trächtigkeitsperiode täglich 40 bis 60 mg/kg Körpergewicht im Futter verabreicht wurden, wiesen Methämoglobingehalte von 10 bis 15 % sowie einen Abfall der Erythrozytenzahl (im Mittel von $6,4 \times 10^6$ auf $3,4 \times 10^6$) und des Hämatokritwertes (im Mittel von 54,5 auf 31,8 %) auf (Winter und Hokanson, 1964).

Zwei Gruppen von je 32 männlichen Holstein-Kälbern wurden täglich 22 bzw. 44 mg Hydroxylaminhydrochlorid (Reinheitsgrad 90 %)/kg Körpergewicht mit dem Futter über 95 bzw. 112 Tage verabreicht. Beide Dosierungen führten zu einer Verminderung der Futtermittelaufnahme und der Gewichtszunahme. In der höheren Dosisgruppe war der Hämoglobingehalt des Blutes signifikant erniedrigt und der Methämoglobingehalt signifikant erhöht. Der Allgemeinzustand der Tiere war nicht beeinflusst (Cunningham et al., 1968).

In einer Untersuchung wurden 172 Albino-Kaninchen 2,5 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht intravenös 6mal pro Woche bis zu 19 Monaten injiziert. Diese Behandlung führte bei den Tieren zu Methämoglobinbildung, Anämie und Retikulozytose. Eine Störung des erythropoetischen Systems wurde nicht festgestellt (Jacobsen et al., 1939).

Die tägliche Verabreichung von Hydroxylaminhydrochlorid in einer Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht, die progressiv im Lauf der Zeit bis auf 50 bis 70 mg/kg Körpergewicht gesteigert wurde, über 2 bis 4 Monate führte bei Hunden zu einer starken Methämoglobinurie und zur Steigerung des Am-

monium-Gehaltes im Blut bis zu 140 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ gegenüber 20 bis 30 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ im gesunden Tier (keine weiteren Angaben; Valdiguié et al., 1965).

Hydroxylaminsulfat

In einem subchronischen Trinkwasserversuch in Anlehnung an die OECD-Richtlinie Nr. 408 erhielten Gruppen zu je 10 männlichen und 10 weiblichen Wistar-Ratten (mittleres Anfangsgewicht 177 bzw. 136 g) 0 (Kontrollen), 10, 50 bzw. 250 ppm Hydroxylaminsulfat (Reinheitsgrad $\geq 99 \%$) 3 Monate lang mit dem Trinkwasser („Milli-Q-Reinstwasser“, entspricht vollentsalztem, bidestilliertem, über Feinstfilter und Aktivkohle filtriertem Wasser). Die analytische Überprüfung zu Versuchsbeginn sowie nach 6 und 12 Versuchswochen ergab für die untere Konzentration (10 ppm) 9,9, 9,3 bzw. 10,7 ppm, für die mittlere Konzentration (50 ppm) 48, 46 bzw. 53 ppm und für die obere Konzentration (250 ppm) 233, 223 bzw. 274 ppm. Die Stabilität der Prüfsubstanz in „Milli-Q-Reinstwasser“ über 4 Tage wurde bereits vor Versuchsbeginn ermittelt. Die verabreichten Dosierungen entsprachen einer durchschnittlichen täglichen Substanzaufnahme von ca. 0,9, 4 und 21 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht. In der 250 ppm-Gruppe kam es bei beiden Geschlechtern zu einer Dunkelfärbung des Harns und zu einer Erniedrigung der Erythrozyten- und Hämoglobin-Werte. Die weiblichen Ratten hatten erniedrigte Hämatokritwerte und die männlichen Tiere eine Reduktion der MCHC-Werte (mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration). Bei beiden Geschlechtern war ein Anstieg der MCV- und MCH-Werte (mittleres korpuskuläres Volumen und mittlerer Hämoglobingehalt des Einzelerythrozyten), der Retikulozyten, der Heinz-Körper, der Jolly-Körper und Bilirubin-Konzentration im Serum zu verzeichnen sowie eine verstärkte Polychromasie. Die Sektion ergab bei beiden Geschlechtern eine Erhöhung der absoluten und relativen Milzgewichte, bei den männlichen Tieren außerdem eine Erhöhung der relativen Lebergewichte sowie eine Erhöhung der absoluten und relativen Nebennierengewichte. Mikroskopisch ließen sich bei beiden Geschlechtern in der Milz erhöhte Hämosiderin-Ablagerungen und Sinuserweiterung mit Blutfülle nachweisen sowie eine Hämosiderin-Speicherung in der Leber. 50 ppm bewirkten bei beiden Geschlechtern einen leichten Retikulozyten-Anstieg und bei den weiblichen Ratten erniedrigte Hämoglobin- und Erythrozytenwerte sowie einen marginalen Anstieg der MCV-Werte und eine geringfügig verstärkte Polychromasie. Histopa-

thologisch fand sich bei beiden Geschlechtern eine mäßig verstärkte Hämosiderosis in der Milz. Die Gabe von 10 ppm bewirkte keine substanzbedingten Veränderungen. Somit führte bei den männlichen und weiblichen Tieren der 50 und 250 ppm-Gruppe die Gabe von Hydroxylammoniumsulfat zu einer hämolytischen Anämie, zur Methämoglobinämie sowie zu Organengewichtserhöhung in Milz und Leber sowie zu den entsprechenden histopathologischen Veränderungen in Milz und Leber. Der no effect level lag in diesem Versuch für beide Geschlechter bei 10 ppm (entsprechend ca. 1 mg/kg Körpergewicht/Tag; BASF, 1989 b).

4 Wochen alte männliche Swiss-Webster-Mäuse erhielten 10 oder 20 mmol Hydroxylaminsulfat/l (entsprechend ca. 1640 oder 3280 mg/l) im Trinkwasser verabreicht. Eine Gruppe wurde 12 Wochen, zwei weitere Gruppen wurden ebenfalls 12 Wochen mit der Substanz behandelt und danach 8 bzw. 18 Wochen auf reines Trinkwasser umgestellt. Nach 12 Wochen Behandlung fanden sich bei den Mäusen bei beiden Dosierungen gleichermaßen Milzvergrößerung, eine Verminderung der Erythrozyten und ein Anstieg der Leukozyten. Diese Veränderungen erwiesen sich jedoch als reversibel. Bei den nach 12 Wochen Behandlung für 8 bzw. 18 Wochen auf reines Trinkwasser umgestellten Mäusen lagen die untersuchten Parameter bei Versuchsende wieder im Normbereich (Yamamoto et al., 1967).

7.6 Gentoxizität

7.6.1 In vitro

Genmutagenität

Zur genmutagenen Wirkung von Hydroxylamin und Hydroxylaminhydrochlorid in vitro liegt eine große Zahl von Ergebnissen vor, die in der Tabelle 2 zusammengefasst sind. Die Versuche sind allerdings meist nicht nach den heute üblichen Prüfmethode durchgeführt worden und die Ergebnisse sind teilweise sehr uneinheitlich. Aus der Vielzahl der in den Jahren 1960 bis 1980 publizierten Untersuchungen zur Mutationsforschung unter Verwendung von Hydroxylamin sind nur die toxikologisch relevanten und einige beispielhafte Befunde ausgewählt und hier mitgeteilt worden. Eine gute Zusammenstellung aller Arbeiten findet sich bei Marfey und Robinson (1981).

Anfang Tabelle 2

Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Genmutationen) ¹⁾					
Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
1. Salmonella/Mikrosomen-Testsysteme					
Salmonella typhimurium G46, D3052, TA 1534, TA 1532	keine Angaben	keine	nicht geprüft	negativ (TA 1532), fraglich (G46), positiv (TA 1534, D3052)	Mitchell, 1974
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537	10 - 5000 µg/Platte	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	McCann et al., 1975
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100	70 - 350 µg/Platte	-	nicht geprüft	negativ	Wang, 1977
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1536, TA 1537, TA 1538	bis 1000 µg/Platte	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Simmon, 1979 b
Salmonella typhimurium TA 1535, TA 1538	25 - 250 µg/Platte	S9-Mix aus nicht induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Rosenkranz und Poirier, 1979
Salmonella typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538	0,3 - 333 µg/Platte, > 95 % rein	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ (identische Ergebnisse in 4 Laboratorien)	negativ (identische Ergebnisse in 4 Laboratorien)	Dunkel et al., 1984
Salmonella typhimurium TA 104	0,1 - 10 µg/ml (Hydroxylamin)	keine	nicht geprüft	positiv	Menevse et al., 1984
Englische Zusammenfassung einer türkischen Arbeit; mit steigender Wirkstoffkonzentration Abnahme der Wirkung.					
Salmonella typhimurium TA 1535/pSK 1002 (umu-Test)	bis 83 µg/ml (Hydroxylamin)	S9-Mix aus Phenobarbital-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Nakamura et al., 1987
Salmonella typhimurium TA 97, TA 98, TA 100, TA 1535	10 - 333 µg/Platte, > 99 % rein, ab 500 µg/Platte toxisch	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Leber von Ratten und Syrischen Hamstern	schwach positiv (nur Stamm TA 100)	negativ	Zeiger et al., 1992
Salmonella typhimurium TA 102	bis 5000 µg/Platte (Hydroxylamin)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ (identische Ergebnisse in 3 Laboratorien)	nicht geprüft	Jung et al., 1992; Müller et al., 1993
2. Escherichia coli-Testsysteme					
Escherichia coli WP2uvrA (Tryptophan-abhängig im Wachstum), Rückmutation zur Tryptophan-Unabhängigkeit	keine Angaben	-	nicht geprüft	negativ	Mitchell, 1974
Escherichia coli B/r (strahlensensible Mutante mit DNA-Repair-Defizienz), Mutation zur Trimethoprin-Resistenz	49500 µg/ml, 90 % Bakterientoxizität	-	nicht geprüft	positiv	Sweet und Moseley, 1976

Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Genmutationen)¹⁾

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Escherichia coli PQ35 (SOS-Chromo-Test), sfiA-Expression gemessen als β-Galaktosidase-Aktivität	keine Angaben (Hydroxylamin)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Quillardet et al., 1985
Escherichia coli K12uvr ⁺ /K12uvr ⁻ , Mutation zur Unfähigkeit, Glukose zu verstoffwechseln Nur sehr kurze Zusammenfassung einer russischen Arbeit.	keine Angaben	-	nicht geprüft	positiv	Soyfer et al., 1976
Escherichia coli AB2500, Rückmutation von 2 temperatursensiblen Mutanten	keine Angaben (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv	Pekhov und Reshetnikova, 1977
Escherichia coli polA ⁺ und polA ⁻ (DNA-Polymerase I-Mangelmutante), Wachstumsunterschiede zwischen polA ⁺ und polA ⁻	500 µg/Platte	-	nicht geprüft	positiv	Rosenkranz und Poirier, 1979
Escherichia coli WP2uvrA (Tryptophan-abhängig im Wachstum), Rückmutation zur Tryptophan-Unabhängigkeit	keine Angaben (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv	Hemminki et al., 1980
Escherichia coli WP2uvrA (Tryptophan-abhängig im Wachstum), Rückmutation zur Tryptophan-Unabhängigkeit	0,3 - 333,3 µg/Platte	keine Angaben	nicht geprüft	negativ (identische Ergebnisse in 4 Laboratorien)	Dunkel et al., 1984
Escherichia coli K12 mit rII-Mutante von T ₄ -Phagen, Rückmutation zu Phagen, die im Bakterium wachsen können	ca. 70 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Freese et al., 1961
Escherichia coli C mit Mutanten von S13-Phagen, Rückmutation zu Phagen, die im Bakterium wachsen können	ca. 1,4 - 1,75 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Tessman et al., 1965
Escherichia coli W1709 (lambda), Streptomycin-abhängig, Induktion von Bakteriophagen (lambda), die Plaques bilden	2,5 µg/ml (Hydroxylaminsulfat)	-	nicht geprüft	positiv	Heinemann, 1971
Escherichia coli Lysogene K12 envAuvrB lambda und lambda cIts857, Induktion von Prophagen, die mit dem Endolysin-Test bestimmt werden	100 µg/ml	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	nicht geprüft	Ho und Ho, 1981

Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Genmutationen)¹⁾

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Escherichia coli K12, für Bakteriophagen unempfindlicher und empfindlicher Stamm, Induktion von Mu-Prophagen, Bestimmung der Verstärkung der Phagenbildung	keine Angaben (Hydroxylamin)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	negativ	negativ	Shinder et al., 1984
3. Bacillus subtilis-Testsysteme					
Bacillus subtilis 60087 (Tryptophan-Mangelmutante), behandelt mit DNA des Stammes 60009, die mit dem Agens behandelt wurde, Messung des Wachstums auf Tryptophan-freiem Nährboden und Bildung einer fluoreszierenden Mutante	35 - 140 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv in beiden Testen	Bautz Freese und Freese, 1964
Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens und T4-Phagen, Mutanten der Phagen führen zu einer besonderen Morphologie der Koloniebildung des Bacillus subtilis	keine Angaben (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv	Yamafuji, 1964
Bacillus subtilis SHGw-DNA behandelt mit Agens und Mutationen nachgewiesen, wie bei Bautz Freese und Freese, 1964	70 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Bresler et al., 1968
Bacillus subtilis BG7044-DNA (Mutante mit Störung des Isoleucin-Valin-Stoffwechsels), wird mit Agens behandelt und mit dieser DNA wird durch Transformation in dem Ausgangsstamm die Stoffwechselstörung behoben	70 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Phillips et al., 1980
Bacillus subtilis 168WT-DNA behandelt mit Agens und durch Transformation in Bacillus subtilis Stamm T3 gebracht, führt zur Aufhebung der Tryptophan-Abhängigkeit dieses Stammes, der jetzt Indol verwertet, Mutante fluoresziert	keine Angaben	-	nicht geprüft	positiv	Heard und Matney, 1980

Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Genmutationen)¹⁾

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Bacillus subtilis 168, Stamm BR95 und dessen Phagen epsilon 105, Phagen-DNA wird mit Agens behandelt und durch Transformation in das Bacillus eingebaut, Mutanten erkennbar durch Änderung der Morphologie der Koloniebildung	33 mg/ml (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv	Mahna, 1984
4. Sonstige Mikroorganismen als Testsysteme					
Neurospora crassa, Sporen von dem heterokaryotischen Stamm #12 mit Agens behandelt, unterschiedliches Wachstum auf verschiedenen Mangelnährböden	33 mg/ml (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv	Malling und de Serres, 1971
Haemophilus influenzae, Bestimmung der durch Mutation entstandenen Resistenz gegen Novobiocin	0,7 - 87 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Kimball und Hirsch, 1975
Proteus mirabilis, Wildtyp PG273 und Reparaturmangelmutante PG713, unterschiedliche Wachstumshemmung nach Behandlung mit dem Agens	10,4 mg/Platte (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ	Adler et al., 1976
Hefestämme S2614C, TD13-22, TD114, erhalten durch Rückmutation die Fähigkeit, bestimmte Aminosäuren wieder zu synthetisieren, Wachstumstest auf Mangelnährboden	70 - 115 mg/ml, 2 - 30 % überlebende Zellen	-	nicht geprüft	positiv (mit mehreren diploiden Stämmen wurde nachgewiesen, daß die Reversion wesentlich auf Rekombination beruht)	Putrament und Baranowska, 1971
Saccharomyces cerevisiae ad _{2,1} /ad _{2,2} , trp _{5,12} /trp _{5,27} und ad _{2,1} can, verlieren durch Mutation ihre Abhängigkeit für Adenin und Tryptophan bzw. Tryptophan alleine, Wachstumstest auf Mangelnährboden	keine Angaben	-	nicht geprüft	negativ	Mitchell, 1974

Tabelle 2. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Genmutationen)¹⁾

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Saccharomyces cerevisiae D3, Rekombination zu Adenin-abhängiger Mutante, Bestimmung rotgefärbter Kolonien	2 mg/ml, 27 % überlebende Zellen	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	positiv	nicht geprüft	Simmon, 1979 a
Schizosaccharomyces pombe (rad3) und Wildtyp, Farbänderung der Kolonien	69 mg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Nasim und Hannan, 1977
Schizosaccharomyces pombe SPadeG-60/rad, purpurgefärbte Kolonien werden durch Vorwärtsmutation zur Bildung ungefärbter Kolonien verändert	3,3 mg/ml - 0,1 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Dow Chemical, 1982
5. Säugetierzellen-Testsysteme					
Zellen des Chinesischen Hamsters, CHO und CHO-K1, nach Behandlung mit Agens benötigten mutierte Zellen Glycin, Hypoxanthin, Thymin oder Inositol zum Wachstum	150 µg/ml, 20 % überlebende Zellen (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ	Kao und Puck, 1969
Zellen des Chinesischen Hamsters, V79, nach Behandlung mit Agens sind mutierte Zellen gegen Thioguanin resistent, Wachstumstest (HPRT-Test)	keine Angaben (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ	Taylor et al., 1985
Maus-Lymphomzellen L5178Y, nach Behandlung mit Agens sind mutierte Zellen gegen Trifluorthyminid resistent	31,3 - 100 µg/ml, > 90 % Toxizität bei 120 µg/ml	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	Toxizität und Mutagenität deutlich herabgesetzt, positiv bei 220 - 300 µg/ml	positiv	Myhr und Caspary, 1988
Maus-Lymphomzellen L5178Y, nach Behandlung mit Agens sind mutierte Zellen gegen Trifluorthyminid resistent	67 - 205 µg/ml	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	positiv	positiv	Mitchell et al., 1988

¹⁾ in den überwiegenden Fällen wurde mit Hydroxylaminhydrochlorid gearbeitet; war dies nicht der Fall, ist der verwendete Stoff in der Spalte „geprüfter Konzentrationsbereich“ angegeben

²⁾ sofern nicht anders angegeben, finden sich in den Publikationen keine quantifizierbaren Angaben zur zytotoxischen bzw. bakteriotoxischen Wirkung sowie zur Reinheit der verwendeten Prüfsubstanzen

Ende Tabelle 2

Obgleich Hydroxylamin und sein Hydrochlorid in einer Reihe von Testsystemen in der Lage sind, Genmutationen zu erzeugen, werden im Salmonella/Mikrosomen-Test nach Ames fast ausschließlich negative Ergebnisse berichtet. Von zahlreichen Veröffentlichungen, in denen alle gebräuchlichen Teststämme insgesamt eingesetzt wurden und mit und ohne metabolische Aktivierung gearbeitet wurde, konnte nur in einem Fall bei dem Stamm TA 104 und in einem weiteren Fall bei den Stämmen TA 1534 und D3052 eine genmutagene Wirkung nachgewiesen werden. Im ersteren Fall handelte es sich um eine nicht nachvollziehbare Untersuchung (Menevse et al., 1984), im zweiten Fall wurden neben den positiven Ergebnissen an den Stämmen TA 1534 und D3052 auch negative (TA 1532) und fragliche (G46) Ergebnisse mit anderen Stämmen berichtet (Mitchell, 1974). Insgesamt kann davon ausgegangen werden, daß Hydroxylamin und seine Salze im Salmonella/Mikrosomen-Test keine genmutagene Wirkung zeigten.

Die Untersuchungen mit *Escherichia coli* als Testorganismus sind in ihren Ergebnissen wesentlich uneinheitlicher. Die Rückmutation des Tryptophan-abhängigen Stammes *Escherichia coli* WP2uvrA zur Tryptophan-Unabhängigkeit wurde in zwei Testen durch Hydroxylaminhydrochlorid nicht beeinflusst (Mitchell, 1974; Dunkel et al., 1984), in einem Test mit Hydroxylamin trat ein deutlicher mutagener Effekt auf (Hemminki et al., 1980). Positiv im Sinn einer mutagenen Wirkung waren auch Tests mit *Escherichia coli* B/r, K12uvr und polA (Sweet und Moseley, 1976; Soyfer et al., 1976; Rosenkranz und Poirier, 1979). Hier löste Hydroxylaminhydrochlorid Vorwärtsmutationen aus. Negativ verlief dagegen ein weiterer Rückmutationstest an *Escherichia coli* PQ35 (SOS-Chromo-Test), bei dem sich Hydroxylamin als wirkungslos erwies (Quillardet et al., 1985). Demgegenüber zeigte ein weiterer Test mit *Escherichia coli* AB2500, daß Hydroxylamin hier Rückmutationen auslösen konnte (Pekhov und Reshetnikova, 1977). Insgesamt entsteht der Eindruck, daß in der überwiegenden Zahl der Fälle in *Escherichia coli* durch Hydroxylamin bzw. sein Hydrochlorid Genmutationen ausgelöst werden können. Es gibt aber eine Reihe von ernstzunehmenden negativen Ergebnissen. Eine Erklärung für diese Diskrepanz findet sich in der Literatur nicht.

Hydroxylamin und seine Salze reagieren mit der DNA von Bakteriophagen und erzeugen Mutationen. Als Wirtszellen für die Phagen wurden häufig Stämme von *Escherichia coli* und *Bacillus subtilis* verwendet. An der großen Zahl der bis in die Gegenwart vorliegenden Veröffentlichungen mit

durchweg positiven Ergebnissen, die weniger toxikologischen als wissenschaftlichen Fragestellungen der Genetik dienen sollen, sind in Tabelle 2 nur einige wenige beispielhaft zusammengestellt worden. Sie sind fast durchweg positiv. Bei den beiden einzigen negativen Befunden, die bei der Durchsicht der Literatur gefunden wurden (Ho und Ho, 1981; Shinder et al., 1984), fällt auf, daß sie als einzige mit metabolischer Aktivierung erhalten wurden. Nur in einem der Fälle ergab auch die Nachprüfung ohne metabolische Aktivierung ein negatives Ergebnis. Die aufgeführten Testergebnisse mit *Escherichia coli* als Wirtszellen zeigen, daß sowohl Rückmutationen von Phagen, die innerhalb oder außerhalb der Wirtszellen mit Hydroxylamin behandelt wurden, möglich sind (Freese et al., 1961; Tessman et al., 1965) als auch die Induktion von Bakteriophagen in mit Hydroxylaminsulfat behandelten Wirtszellen.

Mit *Bacillus subtilis* als Wirtszellen konnten ebenfalls Transformationen der Phagen-DNA nachgewiesen werden, die mit Hydroxylamin oder dessen Hydrochlorid behandelt wurden (Yamafuji, 1964; Mahna, 1984). Der Einbau von vorbehandelter DNA in die Wirtszellen führt in allen bekannten Fällen zu nachweisbaren Mutationen (Bautz Freese und Freese, 1964; Bresler et al., 1968; Phillips et al., 1980; Heard und Matney, 1980).

Diese Wirkung von Hydroxylamin auf die DNA von Bakteriophagen wurde bereits Anfang der 60er Jahre entdeckt (Freese et al., 1961) und seither vielfach in der Genforschung eingesetzt (Zusammenfassungen bei Budowsky, 1976, und Marfey und Robinson, 1981). Hydroxylamin reagiert mit Basenbausteinen der DNA und erzeugt dadurch gezielte Genmutationen. Bevorzugter Angriffspunkt ist Cytosin und damit eine Wirkung auf das Cytosin-Guanin-Basenpaar des DNA-Moleküls (Freese, 1963). Phagen werden durch niedrigere Konzentrationen von Hydroxylamin inaktiviert, hohe Konzentrationen erzeugen Mutationen (Freese et al., 1961). Die Inaktivierung bei niedrigen Hydroxylamin-Konzentrationen ist Sauerstoff-abhängig und erfolgt über die Bildung von Nitroxyl (HNO), H₂O₂ und intermittierenden Radikalen, die bei der Reaktion von Hydroxylamin mit Sauerstoff entstehen und die bei hohen Konzentrationen von Hydroxylamin durch Reaktion mit diesem abgefangen werden (Freese und Bautz Freese, 1965; Tessman et al., 1965). Neben Cytosin kann auch Uracil von der DNA in geringem Umfang mit Hydroxylamin reagieren. Neben diesen direkten Einwirkungen des Hydroxylamin-Moleküls auf Basenbausteine der DNA und RNA, die bestimmte Bedingungen der Versuchsdurchführung (pH- und

Salzgehalt des Mediums, Hydroxylamin-Konzentration) voraussetzen, kann dieser Stoff auch indirekt über seine Oxidationsprodukte und gebildetes Wasserstoffperoxid (H₂O₂) auf die DNA und RNA einwirken und Mutationen erzeugen (Tessman et al., 1965; Yamafuji, 1964). In diesem Fall können alle Basenbausteine angegriffen werden.

Eine Untersuchung an *Neurospora crassa* zeigt, daß die Hydroxylamin-Behandlung hier Mutationen erzeugt, die ebenfalls auf den Angriff am Cytosin und die Wirkung auf das Basenpaar Cytosin-Guanin der DNA zurückzuführen sind (Malling und de Serres, 1971). Negativ verlief ein Rekombinationstest mit *Proteus mirabilis* (Adler et al., 1976). Bei *Hämophilus influenzae* trat nach Behandlung mit Hydroxylaminhydrochlorid eine Mutation auf, die zur Resistenz gegen Novobiocin führte (Kimball und Hirsch, 1975).

Mit Hefen liegen insgesamt 5 Untersuchungen vor, von denen 4 ein positives Ergebnis zeigten. In diesen Fällen handelt es sich um 4 Rekombinationsteste und einen Vorwärtsmutationstest. Von den 4 positiv verlaufenden Testen wurden 3 (Putrament und Baranowska, 1971; Nasim und Hannan, 1977; Dow Chemical, 1982) ohne metabolische Aktivierung durchgeführt. Ein Test erfolgte mit metabolischer Aktivierung (Simmon, 1979 a). Der negative Befund, der ohne metabolische Aktivierung erhalten wurde, stammt aus einer Testreihe, in der mehrere verschiedene Mutagenitätsteste an verschiedenen mutagen wirkenden Stoffen erprobt wurden (Mitchell, 1974).

Untersuchungen zur Auslösung von Genmutationen durch Hydroxylamin und sein Hydrochlorid unter Verwendung von Säugerzellkulturen sind nur vereinzelt durchgeführt worden. 2 negativ verlaufenen Testen (Kao und Puck, 1969; Taylor et al., 1985) stehen zwei Teste mit positivem Ergebnis gegenüber (Myhr und Caspary, 1988; Mitchell et al., 1988). Es fällt auf, daß die negativ verlaufenden Teste ohne metabolische Aktivierung durchgeführt wurden und für alle Teste sehr hohe Konzentrationen an Hydroxylamin bzw. Hydroxylaminhydrochlorid eingesetzt wurden.

In der Zusammenschau aller Ergebnisse, die in Tabelle 2 zusammengestellt sind, kann festgestellt werden, daß Hydroxylamin und seine Salze in der Lage sind, an unterschiedlichen Testsystemen Genmutationen zu erzeugen. Eindeutige Ausnahme ist der *Salmonella*/Mikrosomen-Test nach Ames.

Chromosomenschädigende Wirkung

In Tabelle 3 sind die Untersuchungen zur Erzeugung von Chromosomenmutationen durch Hydroxylamin und seine Salze zusammengestellt, die an Säugetierzellkulturen alle ohne zusätzliche metabolische Aktivierung durchgeführt wurden.

Anfang Tabelle 3

Tabelle 3. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Chromosomen-Mutationen) ¹⁾					
Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Zellen des Chinesischen Hamsters, 11dFAF28, Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	5 und 25 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv (Chromatid- und Chromosomenbrüche)	Somers und Hsu, 1962
Zellen des Chinesischen Hamsters, mit Methylcholanthren induziertem Tumor, Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	2 - 20 µg/ml, ab 7 µg/ml toxisch	-	nicht geprüft	positiv (Chromosomenabnormalitäten und -brüche)	Borenfreund et al., 1964
Mäuseembryozellen (keine weiteren Angaben), Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	2 - 20 µg/ml, ab 7 µg/ml toxisch	-	nicht geprüft	positiv	Borenfreund et al., 1964
menschliche Leukozyten der Autoren, Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens.	5 - 35 µg/ml	-	nicht geprüft	negativ	Oppenheim und Fishbein, 1965
Die Autoren räumten technische Fehler ein, Kontaminierung mit Hämoglobin, die zu den negativen Ergebnissen geführt haben könnten					
menschliche Fibroblasten, Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	10 µg/ml (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv (Chromosomenbrüche)	Engel et al., 1967
Zellen des Chinesischen Hamsters, CHO und CHO-K1, Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	80 - 130 µg/ml, 25 % überlebende Zellen bei der hohen Dosis (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv (Chromatidenbrüche)	Kao und Puck, 1969

Tabelle 3. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen (Chromosomen-Mutationen)¹⁾

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Dauerkultur einer Nierenzelllinie, R-1CA, von Affen (<i>Cercopithecus aetiops</i>), Bestimmung der Zellkerngröße und Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	6,25 - 100 µg/ml, ab 25 µg/ml dosisabhängig toxisch	-	nicht geprüft	positiv (azentrische Chromosomenfragmente, Mikronuklei)	Mironescu et al., 1969
Nieren- und Lungenzellen sowie embryonale Zellen des Hamsters <i>Phodopus sungorus</i> , Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	10 und 25 µg/ml, 50 µg/ml waren toxisch (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ	Sokova et al., 1970
menschliche Leukozyten, Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	25 - 100 µg/ml, ab 50 µg/ml toxisch	-	nicht geprüft	positiv (Brüche und Bildung von Gaps, kein Schwester-Chromatid-Austausch)	Brögger, 1971
Lymphozytenkulturen vom Muntjak (indisches Rotwild, <i>Muntiacus muntjak</i>), Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	50 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv (Chromatidenbrüche und Gaps bevorzugt in der Zentromerenregion der Chromosomenpaare 1, 2 und X)	Gupta und Sharma, 1981
Lymphozytenkulturen vom Muntjak (indisches Rotwild, <i>Muntiacus muntjak</i>), Bestimmung der Chromosomenschädigung nach Behandlung mit dem Agens	25 und 50 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv (die Behandlung in späteren Phasen des Teilungszyklus war wirksamer als in frühen Phasen; Gaps und Chromosomenbrüche)	Gupta und Sharma, 1982 a

¹⁾ in den überwiegenden Fällen wurde Hydroxylaminhydrochlorid geprüft; war dies nicht der Fall, ist der verwendete Stoff in der Spalte „geprüfter Konzentrationsbereich“ angegeben
²⁾ sofern nicht anders angegeben, finden sich in den Publikationen keine quantifizierbaren Angaben zur zytotoxischen Wirkung sowie zur Reinheit der verwendeten Prüfsubstanz

Ende Tabelle 3

Überwiegend erbrachten die Untersuchungen auf Chromosomenmutationen positive Ergebnisse. So zeigten sich in 4 Fällen Chromosomenschäden bei

Zellen des Chinesischen Hamsters nach der Behandlung mit Hydroxylamin bzw. Hydroxylaminhydrochlorid (Somers und Hsu, 1962; Kao und Puck, 1969; Speit et al., 1980). Auch mit Mäuseembryozellen, Affennierenzellen, menschlichen Fibroblasten und Leukozyten wurden positive Ergebnisse erhalten (Borenfreund et al., 1964; Mironescu et al., 1969; Engel et al., 1967; Brögger, 1971). Schließlich konnte in mehreren Untersuchungen nachgewiesen und reproduziert werden, daß Hydroxylaminhydrochlorid in Lymphozytenkulturen vom Muntjak, einer indischen Rotwildart, Chromosomenschädigungen hervorruft (Gupta und Sharma, 1981, 1982 a). Demgegenüber stehen zwei negative Befunde. Eine Untersuchung mit menschlichen Leukozyten und Hydroxylaminhydrochlorid, bei der die Autoren technische Fehler einräumten und darauf hinwiesen, daß das Ergebnis durch starke Kontaminierung mit Hämoglobin verfälscht sein könnte, kann nur bedingt gewertet werden (Oppenheim und Fishbein, 1965). Die zweite Arbeit wurde mit Zellen des Hamsters *Phodopus sungorus* und Hydroxylamin durchgeführt (Sokova et al., 1970). Über dieses Versuchstier liegen keine vergleichenden Ergebnisse vor. Insgesamt kann festgestellt werden, daß eine klastogene Wirkung von Hydroxylamin und seinen Salzen in in vitro-Testen mit großer Sicherheit angenommen werden kann.

Die in Tabelle 4 zusammengestellten Untersuchungsergebnisse zeigen, daß Hydroxylamin und Hydroxylaminhydrochlorid den Einbau von 3H-Thymidin in die DNA als Maß für die Synthesegeschwindigkeit der DNA in Zellkulturen nur in wenigen Fällen hemmte, in der überwiegenden Zahl der Fälle aber wirkungslos blieb. Positive Ergebnisse wurden nur in einer älteren Studie von Young und Hodas (1964) mit HeLa-Zellen berichtet. Positiv verlief auch ein Test an menschlichen Lymphozyten (MacKinney und Vyas, 1975), allerdings nur in einem Konzentrationsbereich, in dem auch die Proteinsynthese der Zellen gehemmt war. In einer dritten Studie an der menschlichen Zelllinie EUE konnte eine Hemmung des 3H-Thymidin-Einbaus durch Hydroxylamin nur autoradiographisch, nicht aber durch Szintillationsmessung nachgewiesen werden (Abbondandolo et al., 1978). Demgegenüber stehen 5 eindeutig negative Prüfergebnisse an menschlichen Zellen und Zellkulturen von Ratten und Mäusen.

In zwei Testen zum Schwester-Chromatid-Austausch in Zellen des Chinesischen Hamsters (V79) sowie Lymphozytenkulturen vom Muntjak wurden positive Ergebnisse erhalten.

Schließlich sind in Tabelle 4 noch 3 Untersuchungen aufgenommen worden, die belegen, daß Hydroxylamin und Hydroxylaminhydrochlorid mit isolierter DNA in Suspension reagierte und diese chemisch veränderte (Bendich et al., 1963; Chu et al., 1979; Premaratne et al., 1995). Die DNA wurde fast ausschließlich aus Viren und Phagen isoliert, so daß sich die Ergebnisse eng an die in Tabelle 2, Punkt 2 und 3, dargestellten, an Bakteriophagen erhobenen Befunde anschließen und diese bestätigen.

Anfang Tabelle 4

Tabelle 4. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen - DNA-schädigende Wirkung ¹⁾					
Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
1. Teste mit Säugerzellen					
HeLa-Zellen (permanente menschliche Krebszelllinie), Einbau von ³ H-Thymidin in die DNA	3 - 200 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv (auch der Einbau von ³ H-Uridin in die RNA wird gehemmt)	Young und Hodas, 1964
Humanleukozyten und HeLa-Zellkulturen, Einbau von ³ H-Thymidin (UDS-Test)	25 und 100 µg/ml (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ	Brøgger, 1971
Humanlymphozyten, Einbau von ³ H-Thymidin	1,2 und 12 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv (nur bei der hohen Dosis, hier auch Proteinsynthese gehemmt)	MacKinney und Vyas, 1975
Hodenzellen von Mäusen, die intraperitoneal behandelt wurden, Einbau von ³ H-Thymidin	100 mg/kg Körpergewicht (Hydroxylamin)	durch in vivo-Behandlung	negativ, keine Hemmung der DNA-Synthese	nicht geprüft	Seiler, 1977
Heteroploide Humanzelllinie EUE, Einbau von ³ H-Thymidin in Hydroxyharnstoff-behandelte Zellen (UDS-Test)	keine Angaben (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ bei Szintillationsmessung, positiv bei Autoradiographie	Abbondandolo et al., 1978
Nur kurzer Abstract ohne genaue Angaben.					
Heteroploide Humanzelllinie EUE, Einbau von ³ H-Thymidin in Hydroxyharnstoff-behandelte Zellen (UDS-Test)	3,3 - 330 µg/ml (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	negativ (nur Szintillationsmessung)	Bianchi et al., 1982

Tabelle 4. In vitro-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen - DNA-schädigende Wirkung ¹⁾					
Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Primäre Hepatozytenkulturen von F344-Ratten, Einbau von ³ H-Thymidin als Maß für die DNA-Reparatur (DNA-Repair-Test)	1000 und 2000 µg/ml, Toxizität bei 2000 µg/ml	-	nicht geprüft	negativ	Williams et al., 1982
Humanfibroblasten YH1 mit SV40-Viren transformierte Zellkultur, Hemmung der DNA-Synthese, gemessen als ³ H-Thymidin-Einbau	26 µg/ml (Hydroxylamin)	S9-Mix aus PCB-induzierter Rattenleber	negativ	nicht geprüft	Yanagisawa et al., 1987
Zellen des Chinesischen Hamsters, V79, Schwester-Chromatid-Austausch-Test	0,7 - 350 µg/ml, ab 35 µg/ml toxisch	-	nicht geprüft	positiv (nur leicht, dosisabhängig)	Speit et al., 1980
Lymphozytenkulturen vom Muntjak (indisches Rotwild, Muntiacus muntjak), Bestimmung des Schwester-Chromatid-Austausches nach Behandlung mit dem Agens	25 und 50 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv (nur schwach bei Behandlung eine Stunde nach Einsatz der Zellen, Zellzyklus verlangsamt)	Gupta und Sharma, 1982 b
2. Teste mit isolierter DNA					
DNA isoliert aus Säugerzellen und Phagen (keine weiteren Angaben)	keine Angaben	-	nicht geprüft	positiv (deutliche Erniedrigung der Viskosität und des Sedimentationskoeffizienten, doppelsträngige Fragmente mit 5 x 10 ⁵ Molekulargewicht)	Bendich et al., 1963
DNA, isoliert aus Herpes simplex-Viren (HSV1, Stamm KOS), Bestimmung von temperaturempfindlichen Mutanten	8 mg/ml (Hydroxylamin)	-	nicht geprüft	positiv (nur sehr schwache Effekte auf die intakten Viren bis 60 mg/ml)	Chu et al., 1979
Virale M13mp18 Einzelstrang-DNA, Identifizierung von Addukten mit dem Agens durch Sequenzierung	25 - 250 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Premaratne et al., 1995

¹⁾ in den überwiegenden Fällen wurde Hydroxylaminhydrochlorid geprüft; war dies nicht der Fall, ist der verwendete Stoff in der Spalte „geprüfter Konzentrationsbereich“ angegeben
²⁾ sofern nicht anders angegeben, finden sich in den Publikationen keine quantifizierbaren Angaben zur zytotoxischen Wirkung sowie zur Reinheit der verwendeten Prüfsubstanz

Ende Tabelle 4

7.6.2 In vivo

Untersuchungen zur Gentoxizität von Hydroxylamin und seinen Salzen in vivo sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Anfang Tabelle 5

Tabelle 5. In vivo-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen ¹⁾				
Testsystem	Dosis/Behandlungsschema ²⁾	Toxizität	Ergebnis	Literatur
1. Untersuchungen an Drosophila melanogaster				
Drosophila melanogaster, Oregon-K-Stamm, männliche Tiere und Eier in der Embryonalentwicklung; untersucht wurden Eier von unbehandelten Weibchen, die mit behandelten Männchen verpaart wurden, auf dominante Letalmutationen und die Testes der behandelten Männchen auf Genmutationen im X- und 2. Chromosom sowie auf Chromosomenaberrationen; die erwachsenen Tiere aus den behandelten Eiern und der 2. und 3. Generation wurden auf mutagene Effekte untersucht	Injektion von 0,25 µl/Tier in das Hämocoel, entsprechend 0,08 bis 2 µg/Tier	88 % bei 2 µg/Tier	negativ, keine Veränderung der Chromosomenstrukturen	Fahmy und Fahmy, 1970
Drosophila melanogaster, Oregon-K-Stamm, männliche Tiere und Larven (70 bis 80 Stunden nach der Eiablage), wurden behandelt; nach dem Auswachsen der Larven wurden die männlichen Tiere mit unbehandelten Weibchen verschiedener genetischer Konfiguration verpaart und die Nachkommen auf Mutationen untersucht	Verabreichung mit dem Futter, 1 µg/ml (Hydroxylamin)	keine Angaben	positiv, v- und m-Mutationen am X-Chromosom	Shukla, 1972
Drosophila melanogaster, Oregon-K-Stamm, Larven (am 3. Tag nach der Eiablage), wurden behandelt; die ausgewachsenen Männchen wurden mit unbehandelten Weibchen bestimmter genetischer Konfiguration verpaart und die Nachkommen auf Mutationen untersucht	Verabreichung mit dem Futter, 0,33 - 1,32 µg/ml (Hydroxylamin)	keine Angaben	positiv bei 7 von 12 untersuchten Loci am X-Chromosom	Jain und Shukla, 1972
Drosophila melanogaster, Oregon-K-Stamm, Larven, wurden behandelt; untersucht wurden die Chromosomen von Zellen der Speicheldrüse von Larven des Stadiums III	Verabreichung mit dem Futter, 500 µg/ml (Hydroxylaminsulfat)	keine Angaben	positiv, häufige Inversionen (35) und eine Deletion von 84 untersuchten Larven	Parkash und Miglani, 1978
Drosophila melanogaster, Oregon-K-Stamm, Männchen, wurden behandelt; Test auf geschlechtsgebundene rezessive Letalmutationen in der F ₂ - und F ₃ -Generation	Tiere wurden für 48 Stunden auf Papier gehalten, das mit 0,1 molar Hydroxylamin (entsprechend 3300 µg/ml) im Phosphatpuffer getränkt war	keine Angaben	positiv, nur sehr schwach in der F ₂ -, eindeutig in der F ₃ -Generation	Shukla und Auerbach, 1979

Tabelle 5. In vivo-Gentoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen¹⁾

Testsystem	Dosis/Behandlungsschema ²⁾	Toxizität	Ergebnis	Literatur
Drosophila melanogaster, Oregon-K-Stamm, Larven (75 bis 80 Stunden nach Eiablage), wurden behandelt; die geschlüpften Männchen wurden mit unbehandelten Weibchen verpaart und die Männchen der nächsten Generation auf geschlechtsgebundene rezessive Mutationen untersucht	Verabreichung mit dem Futter, 2000 µg/ml	20 % Toxizität	positiv bei 8 von 13 untersuchten Mutationsmöglichkeiten	Vijaykumar und Jain, 1979
Drosophila melanogaster, die heterozygot für 2 vererbare Veränderungen der Flügelhaare sind, Larven, wurden 72 Stunden alt behandelt; in den ausgewachsenen Tieren wurden die Mutationen (mwh) und (flr) beobachtet	Verabreichung mit dem Futter für 48 Stunden, 0,045 molar (entsprechend 1500 µg/ml) (Hydroxylamin)	keine Angaben	positiv für große Flecken, negativ für kleine und Doppelflecken	Graf et al., 1983
2. Untersuchungen an Mäusen				
Männliche Mäuse, 2,5 bis 4 Monate alt, wurden behandelt; Spermatozoen und Spermatozoen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten (21, 123, 312 Stunden) auf Chromosomenanomalien zu Beginn der Metaphase I untersucht	50 und 100 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal in 0,5 ml physiologischer Lösung, einmalig (Hydroxylamin)	keine Angaben	positiv, dosisabhängig hauptsächlich Translokationen in Spermatozoen (bis zu 20 %)	Ramaiya, 1969
Männliche Mäuse, Stamm ICR/Ha Swiss, 8 bis 10 Wochen alt, wurden behandelt und mit unbehandelten Weibchen des gleichen Stammes verpaart; 13 Tage später wurden die Weibchen getötet und auf die Gesamtzahl an Implantationen und den frühen fetalen Tod untersucht (Dominant-Letal-Test)	102 und 112 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal in Wasser, einmalig (Hydroxylaminsulfat)	1 Tier von 16 gestorben	negativ	Epstein et al., 1972
Erwachsene männliche und weibliche Mäuse, Stamm CD-1, wurden behandelt und 6 Stunden danach getötet; das Knochenmark aus den Oberschenkelknochen wurde auf Erythrozyten mit Mikrokernen untersucht (Mikronukleustest)	1,0, 15,6 und 125 mg/kg Körpergewicht in Wasser oral mit der Schlundsonde über 30 Stunden in zwei Dosierungen gesplittet verabreicht (Hydroxylaminsulfat)	keine Angaben	negativ (Auswertung nur zu einem Tötungszeitpunkt)	Brusick und Stetka, 1984; Litton Bionetics, 1980
Mäuse, Stamm C57BL/6J, wurden behandelt und Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen untersucht (keine weiteren Angaben)	6,7 und 67 mg/kg Körpergewicht in physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal	die höchste Dosis ist 1/3 der LD ₅₀	negativ	Volgareva, 1991
Männliche und weibliche Mäuse, Stamm NMR1, von etwa 27 g Gewicht wurden behandelt und 16, 24 und 48 Stunden danach getötet; das Knochenmark aus den Oberschenkelknochen wurde auf Erythrozyten mit Mikrokernen untersucht (Mikronukleustest)	300, 600 und 1200 mg/kg Körpergewicht, gelöst in Wasser, oral mit der Schlundsonde, einmalig (Hydroxylaminsulfat)	keine Todesfälle, aber deutliche Zeichen von Toxizität	negativ	BASF, 1992 a

Tabelle 5. In vivo-Genotoxizitätsteste mit Hydroxylamin und seinen Salzen¹⁾

Testsystem	Dosis/Behandlungsschema ²⁾	Toxizität	Ergebnis	Literatur
3. Sonstiges				
Männliche Heuschrecken (<i>Spathosternum prasiniferum</i>) wurden behandelt und 36 Stunden später die Spermatozyten auf Chromosomenaberrationen untersucht	350 µg/Tier in 0,05 ml Salzlösung in das Abdomen injiziert	keine Angaben	positiv, Brüche, Fragmentierungen und Brückenbildung der Chromosomen	Bhattacharya et al., 1986
¹⁾ wenn nicht anders angegeben, wurde Hydroxylaminhydrochlorid geprüft				
²⁾ Angaben zur Reinheit der verwendeten Testsubstanzen liegen nicht vor				

Ende Tabelle 5

Einer älteren umfassenden Prüfung mit Hydroxylaminhydrochlorid an *Drosophila melanogaster*, die ein negatives Ergebnis erbrachte (Fahmy und Fahmy, 1970), stehen mehrere später durchgeführte Untersuchungen mit positiven Ergebnissen gegenüber (siehe Tabelle 5). Dabei wurde mit verschiedenen Versuchsanordnungen gearbeitet. In einer Studie, in der Männchen von *Drosophila* mit Hydroxylamin behandelt und die Nachkommen auf geschlechtsgebundene rezessive Letalmutationen untersucht wurden, zeigten sich in der F₂-Generation nur schwache Effekte, in der F₃-Generation aber eindeutige. Die Autoren leiteten daraus die Annahme ab, daß Hydroxylamin bevorzugt mit einsträngiger DNA und kaum mit zweisträngiger DNA reagiert (Shukla und Auerbach, 1979).

Die an Mäusen erhobenen Befunde (siehe Tabelle 5) sind mit einer Ausnahme negativ. Es handelt sich um einen Dominant-Letal-Test (Epstein et al., 1972) und zwei Mikronukleusteste (Brusick und Stetka, 1984; BASF, 1992 a) mit Hydroxylaminsulfat und eine Untersuchung, bei der an Mäusen nach Behandlung mit Hydroxylaminhydrochlorid Chromosomenaberrationen in Knochenmarkzellen untersucht wurden (Vulgareva, 1991). Die einzige Untersuchung mit positivem Ergebnis zeigte an Mäusen, die intraperitoneal mit Hydroxylamin im Dosisbereich der LD₅₀ behandelt worden waren, Chromosomenaberrationen an Spermatozyten (Ramaiya, 1969). Insgesamt machen die Befunde deutlich, daß es nicht wahrscheinlich ist, daß die Gabe von Hydroxylamin oder seinen Salzen im Säugetierorganismus zu manifesten Schädigungen der Erbsubstanz führt oder an weit vom Applikationsort liegenden Stellen Mutationen in Somazellen auslöst. Letzteres wäre auch mit der hohen Reaktivität des Hydroxylamin-Moleküls nicht vereinbar.

In diesem Zusammenhang ist der Befund interessant, der unter Punkt 3 in Tabelle 5 aufgeführt wird. An männlichen, mit Hydroxylaminhydrochlorid

behandelten Heuschrecken wurden 36 Stunden später in den Spermatozyten deutliche Chromosomenschäden gefunden (siehe Tabelle 5; Bhattacharya et al., 1986). Dieser Befund schließt an die mit *Drosophila melanogaster* erhaltenen Ergebnisse an und zeigt, daß an niedrigeren Tierarten mit Hydroxylamin mutagene Effekte ausgelöst werden können.

7.7 Kanzerogenität

In vitro

Zum zelltransformierenden Potential von Hydroxylaminhydrochlorid und Hydroxylaminsulfat wurden einige Untersuchungen durchgeführt. Die in Tabelle 6 zusammengefaßten Zelltransformationsteste sind in ihren Ergebnissen widersprüchlich.

Tabelle 6. Zelltransformationsteste¹⁾ mit Hydroxylamin und seinen Salzen

Testsystem	Geprüfter Konzentrationsbereich ²⁾	Metabolische Aktivierung	Ergebnisse		Literatur
			mit metabolischer Aktivierung	ohne metabolische Aktivierung	
Primäre Zellen von Embryonen des Syrischen Hamsters, Veränderung der Morphologie der gebildeten Zellkolonien	0,01 - 100 µg/ml, sehr toxisch bei 100 µg/ml	S9-Mix aus Hamsterleberhomogenat	negativ (bis 10 µg/ml getestet)	negativ	Pienta, 1980
Rauscher-Leukämie-Virus-infizierte Rattenembryozellkultur 2FR450, Zellwachstumsbeschleunigung als Maß für das Fehlen von Kontaktinhibition bei den transformierten Zellen	24 µg/ml	-	nicht geprüft	positiv	Traul et al., 1981
Mäuseembryozellkulturen, BALB/3T3, Bestimmung der morphologisch veränderten Foci (Zellkolonien) auf der Monolayer „normaler“ Zellen	0,2 - 25 µg/ml, 10 - 20 % überlebende Zellen bei der höchsten Dosis	-	nicht geprüft	negativ	Dunkel et al., 1981
Mäuseembryozellkulturen, BALB/3T3, Bestimmung der morphologisch veränderten Foci (Zellkolonien)	3 - 30 µg/ml, 17 - 77 % Toxizität, keine Toxizität beim Zusatz von S9-Mix (Hydroxylaminsulfat)	S9-Mix aus Aroclor-induzierter Rattenleber	positiv (nur bei 30 µg/ml)	positiv	Microbiological Associates, 1981 a, b

¹⁾ in den überwiegenden Fällen wurde Hydroxylaminhydrochlorid geprüft; war dies nicht der Fall, ist der verwendete Stoff in der Spalte „geprüfter Konzentrationsbereich“ angegeben

²⁾ sofern nicht anders angegeben, finden sich in der Publikation keine quantifizierbaren Angaben zur zytotoxischen Wirkung sowie zur Reinheit der verwendeten Prüfsubstanz

Jeweils ein Test an BALB/3T3-Mäusezellen verlief negativ und positiv (Dunkel et al., 1981; Microbiological Associates, 1981 a, b). Ein weiterer Zelltransformationstest an SHE-Zellen zeigte mit und ohne metabolische Aktivierung ein negatives Ergebnis (Pienta, 1980) und eine Untersuchung an Rattenembryozellen mit Rauscher-Leukämie-Infektion hatte ohne metabolische Aktivierung ein positives Ergebnis (Traul et al., 1981). Auch eine kürzlich veröffentlichte Untersuchung weist mit ihrem Ergebnis in die gleiche Richtung. Danach hemmte die Zugabe von Hydroxylamin zu einem Kulturrasen von Leberzellen die interzelluläre Kommunikation, gemessen als Ausbreitung eines Farbstoffes bestimmter Molekülgröße, dosisabhängig bis zu 90 % (siehe Kapitel 7.11; Na et al., 1995).

Untersucht wurde ebenfalls in vitro der Einfluß von Hydroxylamin auf die interzelluläre Kommunikation in Zellkulturen von normalen Rattenlebern (Clon-9-Zellen). Die Interaktionen von Zelle zu Zelle werden während des Prozesses der Karzinogenese verändert. Maß für den Austausch von Material zwischen den Zellen (Gap Junctional Communication) ist die Ausbreitung eines fluoreszierenden Farbstoffes (Luzifer-Gelb) bestimmter Molekülgröße in einem Zellrasen, in den er in einer Linie „eingekratzt“ wird. Zellen mit intakter Membran nehmen den Farbstoff aus dem Medium nicht auf, geben ihn aber von Zelle zu Zelle weiter. Hydroxylamin in einer Konzentration von 1,5 mg/ml hemmte die Zellkommunikation zu 27 %, in einer Konzentration von 3 mg/ml zu 90 %. Der Effekt war dem bekannter Karzinogene vergleichbar, wie Benzo(a)pyren oder N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (Na et al., 1995).

In vivo

Hydroxylamin

Keine Information vorhanden.

Hydroxylaminhydrochlorid

In einer Langzeitstudie erhielten weibliche C3H- und männliche Swiss-Mäuse über ihre Lebensdauer pelletiertes Futter, dem 1 bzw. 2 Gewichts-% Hydroxylaminhydrochlorid zugesetzt worden war. Gemessen wurde die Anzahl überlebender Tiere über 21 bzw. 29 Monate und die Zahl

der Tiere, die durch Palpation erkennbare Tumoren aufwiesen (keine Autopsien). Als Kontrollen dienten Mäuse beider Stämme, die mit dem gleichen Futter ohne Zusatz von Hydroxylaminhydrochlorid gehalten wurden. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse zusammengestellt:

Tabelle 7. Wirkung von Hydroxylaminhydrochlorid auf die Überlebenszeit und die Ausbildung von Tumoren an Mäusen

Alter (Monate)	Untersuchung an C3H-Mäusen						Untersuchung an Swiss-Mäusen					
	Kontrolle		Hydroxylaminhydrochlorid				Kontrolle		Hydroxylaminhydrochlorid			
	Zahl der Tiere	Tiere mit Tumoren	1 %		2 %		Zahl der Tiere	Tiere mit Tumoren	1 %		2 %	
Zahl der Tiere			Tiere mit Tumoren	Zahl der Tiere	Tiere mit Tumoren	Zahl der Tiere			Tiere mit Tumoren	Zahl der Tiere	Tiere mit Tumoren	
4	83	0	36	0	24	0	51	0	37	0	37	0
9	78	1	32	0	20	0	47	0	34	0	35	0
10	77	5	32	0	16	0	47	0	34	0	35	0
11	76	8	30	2	14	0	46	0	34	0	34	0
12	72	11	29	1	14	0	46	0	34	0	30	0
13	61	11	28	1	12	0	46	0	34	0	29	0
14	43	7	23	1	11	0	38	1	32	0	27	0
15	40	8	20	1	10	0	37	0	31	0	27	0
16	27	4	16	2	9	0	37	0	30	0	25	0
17	22	3	12	1	5	0	36	0	29	0	23	0
18	21	3	12	1	3	1	35	2	27	1	22	0
19	17	3	9	0	0	-	32	1	26	1	22	0
20	14	3	8	0	-	-	30	1	19	1	19	0
21	13	2	7	1	-	-	29	2	19	1	17	0
24							19	1	9	2	8	1
25							16	0	6	1	7	1
26							14	0	5	1	4	0
27							11	0	5	0	4	0
28							9	0	4	0	3	0
29							7	0	4	0	2	0
*	14,5 Monate		15,5 Monate		13,0 Monate		22 Monate		21 Monate		21 Monate	
* Halbwertsüberlebenszeit												

Auf die Überlebenszeit der Mäuse hatte die Gabe von Hydroxylaminhydrochlorid in keinem Fall einen deutlichen Einfluß. In der Gruppe der weiblichen C3H-Mäuse wurde die Bildung von spontanen Tumoren (keine Angabe zur Tumorart) durch 1 % Hydroxylaminhydrochlorid im Futter sehr deutlich gehemmt und durch 2 % fast vollständig unterbunden. Bei den männlichen Swiss-Mäusen war dieser Effekt nicht so deutlich ausgeprägt, aber auch unverkennbar vorhanden. Eine Interpretation dieser Befunde wurde vom Autor nicht vorgenommen (Harman, 1961). Es muß jedoch davon ausgegangen werden, daß es sich trotz der zu kleinen Tierzahlen und der fehlenden Dokumentation der beobachteten Tumoren (spontane Mammatumoren bei den C3H-Mäusen) um eine tatsächliche Wirkung des Hydroxylaminhydrochlorids handelt.

Hydroxylaminsulfat

In einer weiteren Studie erhielten männliche Swiss-Webster-Mäuse 52 Wochen lang Hydroxylaminsulfat in Konzentrationen von 0 (Wasserkontrolle), 10 bzw. 20 mmol/l (entsprechend 1640 bzw. 3280 mg/l) im Trinkwasser verabreicht. Autopsien erfolgten nach 12, 20, 36 und 52 Wochen Behandlungszeit in Gruppen von je 8 Tieren (nach 52 Wochen noch 5 Tiere). Am Ende der Behandlungszeit waren die Milzgewichte gegenüber den Kontrollen etwa 10fach erhöht und nahezu 50 % der Mäuse wiesen Bezirke von Knochenbildung in der Milz auf. Behandlungsabhängige Tumoren wurden zu keinem Zeitpunkt beobachtet. Bei je 10 weiblichen C3H/HeN-Mäusen, die mit den gleichen Dosierungen an Hydroxylaminsulfat behandelt wurden, fanden sich nach 52 Wochen keine spontanen Mammatumoren im Vergleich zu einer 100prozentigen Inzidenz bei 10 unbehandelten Weibchen. Selbst 2 Jahre überlebende behandelte Mäuse zeigten keine Tumoren (Yamamoto et al., 1967). Schon aufgrund der geringen Tierzahlen ist diese Studie zur Bewertung des kanzerogenen Potentials von Hydroxylaminsulfat nicht geeignet.

Weiterhin wurde an 218 weiblichen C3H/HeN-Mäusen, die mit großer Häufigkeit virusbedingte spontane Mammatumoren entwickeln, der Einfluß von Hydroxylaminsulfat nach Gabe einer 10 mM Lösung im Trinkwasser (entsprechend 1640 mg/l) über 50 bis 70 Wochen auf Mamma, Ovarien und Hypophyse untersucht. In verschiedenen Experimenten wurde mit der Behandlung zu unterschiedlichen Alterszeitpunkten (6, 13, 18, 24 und 28 Wochen) begonnen. Bei Behandlungsbeginn im Alter von 6 Wochen (98 Mäuse) und Zwischentötungen alle 3 Wochen fand sich eine deutliche Entwicklungsverzögerung der Mamma und der Ovarien. Die Häufigkeit spontaner Mammatumoren war nach 2 Wochen Behandlung in den Kontrollen und in der behandelten Gruppe gleich (40 %), am Ende der Untersuchung mit 31 % in der behandelten Gruppe im Vergleich zu 100 % bei den Kontrollen signifikant verringert. Wurde mit der Behandlung im Alter von 13 Wochen begonnen (30 Tiere), war die Mammatumorrates nach 19 Wochen Behandlung in den Kontrollen und in der behandelten Gruppe gleich (20 %), am Ende der Untersuchung waren es 40 % in der behandelten Gruppe im Vergleich zu den Kontrollen (100 %). Bis zum Alter von 32 Wochen zeigte sich in Zwischentötungen (je 5 Tiere) durch die Verminderung der Corpora lutea und durch den Anstieg der Anzahl reifer Follikel ein deutlicher Effekt auf die Ovarien. Bei Behandlungsbeginn im Alter von 18 Wochen (30 Tiere) fand

sich bei Versuchsende noch eine schwache Erniedrigung der Mammatumorrates durch Hydroxylaminsulfat (80 % bei den behandelten Tieren gegenüber 100 % in der Kontrolle). Wurde die Behandlung in einem Lebensalter der Mäuse von 24 bzw. 28 Wochen begonnen, kehrte sich der Effekt nach der 19. Behandlungswoche um. Die Tumorfrequenz bei den Kontrollen betrug jeweils 60 % am Ende der Untersuchung, während 100 % der behandelten Tiere Tumoren trugen (Gruppe von 5 Tieren). Bei den behandelten Mäusen ohne Tumoren war der Prolactingehalt in der Hypophyse gegenüber der Kontrolle signifikant erhöht, wogegen sich bei den Mäusen mit Tumoren kein Unterschied beobachten ließ. Bei einem Alter von 20 Wochen war das Brustdrüsengewebe voll entwickelt und Hydroxylaminsulfat hatte keinen hemmenden Effekt mehr auf die Ausbildung spontaner Mammatumoren. Diese Befunde lassen nach Aussage der Autoren vermuten, daß beim Ausbleiben der Entwicklung von Mammatumoren hormonelle Faktoren eine Rolle gespielt haben (Evarts und Brown, 1977). Diese Studie ist nicht geeignet, das allgemeine Potential von Hydroxylaminsulfat in Bezug auf eine kanzerogene Wirkung zu bewerten.

In einer neueren Studie wurde der Einfluß von Hydroxylaminsulfat auf die Tumorzinzenz und die Lebenszeit von Mäusen der Stämme C3H/HeN und C3H/HeJ(+), die beide mit großer Häufigkeit virusbedingte spontane Tumoren jedoch unterschiedlicher Genese entwickeln, noch einmal geprüft. 6 Wochen alte weibliche C3H/HeN-Mäuse, die das Provirus des Murin-Mamma-Tumor-Virus (MMTV) tragen, erhielten 123 Wochen lang Hydroxylaminsulfat mit dem Trinkwasser (10 mM, entsprechend 1640 mg/l) verabreicht. Verglichen wurde mit einer Gruppe von Tieren, die ohne jede Behandlung blieben. Die Beobachtung auf palpierbare Tumoren wurde regelmäßig durchgeführt, moribunde Tiere wurden während der Behandlungszeit getötet, wie auch alle Tiere am Ende der Untersuchung und alle bei der Autopsie als verändert gefundenen Organe wurden histopathologisch untersucht. Die Befunde sind in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Tabelle 8. Einfluß von Hydroxylaminsulfat auf das Auftreten von spontanen Tumoren und das Tumorspektrum bei Mäusen

Mäusestamm und Geschlecht	Anzahl der Tiere		Tiere mit Tumoren	Behandlung	Häufigkeit des Auftretens verschiedener Tumoren						
	zu Beginn	ausgewertet			Mammakarzinome	Leberkarzinome	Hämangiome		Lungenadenome	Lymphome	Sonstige
C3H/HeN ♀	60	58	33	keine	14*	6	0	0	7	4	18
C3H/HeN ♀	40	36	27	HAS	3	8	10**	0	3	5	11
C3H/HeJ (+) ♀	56	44	39	keine	32	4*	1	1	3	0	16
C3H/HeJ (+) ♀	50	50	42	HAS	42	0	0	1	3	3	16
C3H/HeJ (+) ♂	50	44	25	keine	-	19	2	5	6	0	7
C3H/HeJ (+) ♂	50	48	41	HAS	-	21	1	13*	2	5*	12

HAS Hydroxylaminsulfat
 * signifikant mit $p < 0,05$
 ** signifikant mit $p < 0,01$

Die Entstehung von Mammakarzinomen war signifikant vermindert (14 in der Kontrolle, 3 in der behandelten Gruppe). Die Zahl aller beobachteten neoplastischen Veränderungen war in der Kontrollgruppe und unter Behandlung nicht deutlich unterschiedlich, wohl aber das Spektrum der entstandenen Tumoren. So wurden nach Hydroxylaminsulfat-Behandlung bei 36 beobachteten Mäusen 10 Hämangiome der Milz beobachtet, während bei den 58 Kontrolltieren keine derartigen Veränderungen auftraten. Das wurde jedoch durch eine höhere Zahl an Lungenadenomen und Mammakarzinomen in den Kontrollen aufgehoben. Bei 6 Wochen alten weiblichen und männlichen Mäusen des Stammes C3H/HeJ, die das exogene Milchübertragene Virus (MIV) tragen und ebenfalls über die ganze Lebenszeit (105 Wochen) mit 10 mM Hydroxylaminsulfat im Trinkwasser (entsprechend 1640 mg/l) behandelt und wie die C3H/HeN-Mäuse untersucht wurden, war eine Verlängerung der Überlebenszeit oder eine Verringerung der Inzidenz an Mammatumoren nicht zu beobachten. Bei insgesamt hohen Zahlen an Spontantumoren bei Männchen und Weibchen ergaben sich auch hier Verschiebungen im Spektrum aller beobachteten neoplastischen Veränderungen bei den Tieren. So war bei den Weibchen die Zahl der hepatozellulären Karzinome in den Kontrollen erhöht sowie die Zahl der Lymphome bei den mit Hydroxylaminsulfat behandelten Tieren (nicht signifikant). Bei den Männchen traten signifikante Erhöhungen der Zahl der Lymphome und Hämangiome der Lymphknoten unter der Behandlung mit Hydroxylaminsul-

fat auf. Das verstärkte Auftreten von Hämangiomen in beiden Mäusestämmen nach Behandlung mit Hydroxylaminsulfat führen die Autoren auf die toxischen Wirkungen dieses Stoffes auf die Milz und das hämatopoetische System zurück, die von verschiedenen Autoren belegt worden sind (Stenbäck et al., 1987). Es wurden in der vorliegenden Untersuchung allerdings nur minimale toxische Effekte durch die lebenslange Gabe des Hydroxylaminsulfats beobachtet, so daß eine schlüssige Erklärung für die hier beobachteten Wirkungen des Stoffes daraus nicht abgeleitet werden kann.

An weiblichen Sprague-Dawley-Ratten wurde der Einfluß von Hydroxylaminsulfat auf die durch 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) induzierte Mammatumorentwicklung untersucht. Die 36 Tage alten Tiere wurden in 5 Gruppen aufgeteilt, von denen Gruppe II und III 10 mM Hydroxylaminsulfat (entsprechend 1640 mg/l) im Trinkwasser verabreicht erhielten. Gruppe I, IV und V erhielt Trinkwasser ohne Hydroxylaminsulfat. An ihrem 50. Geburtstag erhielten die Tiere der Gruppen III, IV und V 11 mg DMBA je Tier gelöst in Maiskeimöl mit der Schlundsonde verabreicht. Bei den Tieren der Gruppe IV wurde dann 14 Tage später das Trinkwasser ebenfalls mit 10 mM Hydroxylaminsulfat versetzt. Die Behandlung mit Hydroxylaminsulfat wurde in den Gruppen II, III und IV bis zum 210. Lebenstag fortgesetzt. Zwischentötungen am 50., 69. und 85. Tag von je 3 bis 5 Tieren wurden in allen Gruppen durchgeführt und das Brustdrüsengewebe wurde, wie auch am Ende der Behandlung, histopathologisch untersucht. In Gruppe III, IV und V wurden die Tiere nach der Applikation von DMBA einmal wöchentlich auf Tumoren durch Palpation untersucht. In Tabelle 9 sind das Behandlungsschema der 5 Gruppen sowie die Daten zur Tumorbildung nach DMBA-Applikation und deren Beeinflussung durch Hydroxylaminsulfat aufgezeigt.

Anfang Tabelle 9

Tabelle 9. Wirkung von Hydroxylaminsulfat auf die durch DMBA induzierte Bildung von Mammatumoren an Ratten	
Behandlungsschema	
Gruppe I	15 Tiere, 36 Tage alt, reines Wasser bis zum 210. Tag (Kontrolle)
Gruppe II	15 Tiere, 36 Tage alt, 10 mM Hydroxylaminsulfat bis zum 210. Tag
Gruppe III	25 Tiere, 36 Tage alt, 10 mM Hydroxylaminsulfat, 50 Tage alt, 11 mg DMBA
Gruppe IV	25 Tiere, 50 Tage alt, 11 mg DMBA, 64 Tage alt, 10 mM Hydroxylaminsulfat
Gruppe V	25 Tiere, 36 Tage alt, reines Wasser, 50 Tage alt, 11 mg DMBA

Tabelle 9. Wirkung von Hydroxylaminsulfat auf die durch DMBA induzierte Bildung von Mammatumoren an Ratten

Befunde*	Tumorinzidenz (%)	mittlere Latenzzeit (Tage)	mittlere Anzahl von Tumoren/tumortragendem Tier	mittleres Gewicht der Tumoren/tumortragendem Tier
Gruppe III	73	63,1	3,6	7,0
Gruppe IV	71	102,4	2,0	2,1
Gruppe V	94	62,9	4,9	5,3

* in Gruppe I und II traten keine Tumoren auf
Ende Tabelle 9

Die Tumorinzidenz am Ende der Untersuchung war in den drei Gruppen, die mit DMBA behandelt worden waren, nicht deutlich unterschiedlich. Die Latenzzeit der Tumorbildung konnte durch die Behandlung mit Hydroxylaminsulfat deutlich verlängert werden, wenn diese Behandlung 14 Tage nach der DMBA-Gabe einsetzte. Dann wurde auch die Zahl der Tumoren und das Tumorgewicht/tumortragendem Tier deutlich herabgesetzt. Eine Hydroxylaminsulfat-Behandlung, die 14 Tage vor der DMBA-Gabe einsetzte, hatte keine Wirkung auf die Tumorbildung. Die histopathologischen Untersuchungen zeigten eine durch die Hydroxylaminsulfat-Behandlung hervorgerufene Hypertrophie und Steigerung der sekretorischen Aktivitäten des Brustdrüsengewebes und eine durch DMBA bewirkte Atrophie der Drüsenkanäle. Die Autoren sahen eine Wirkung des Hydroxylaminsulfats auf den Hormonhaushalt des Brustdrüsengewebes in der vorliegenden Untersuchung als gegeben an, versuchten aber keine Erklärung, warum die Hydroxylaminsulfat-Behandlung nur dann wirksam war, wenn sie 14 Tage nach der Gabe von DMBA erfolgte und nicht bei Behandlungsbeginn 14 Tage vor Gabe des Kanzerogens (Evarts et al., 1979). Auch diese Untersuchung, die im wesentlichen dem Studium des Entwicklungsmechanismus von durch Chemikalien erzeugten Mammatumoren diente, gibt kaum Aufschluß über eine mögliche kanzerogene Potenz von Hydroxylaminsulfat.

7.8 Reproduktionstoxizität

Hydroxylamin

Bei der Untersuchung embryotoxischer Wirkungen von Hydroxylamin an Neuseeland-Kaninchen wurden zur Vermeidung der Methämoglobinämie bei den Muttertieren 50 bis 200 µg/Applikationsstelle am 12. Tag der Gravi-

dität direkt in die sekundäre embryonale Leibeshöhle (Zölon) injiziert (wahrscheinlich nach Laparotomie (DeSesso und Goeringer, 1990). Höhere Dosen führten in hohem Maße zu fetalen Resorptionen. Bei den mit den niedrigeren Dosen behandelten Feten wurden craniofaciale und Extremitätenanomalien beobachtet. Histopathologisch fanden sich Nekrosen im Mesenchym des Neuralrohres, der Extremitäten und der Gesichtsregion, die sich innerhalb von 2 Stunden entwickelten. Aus diesen Ergebnissen zog der Autor die Schlußfolgerung, daß Hydroxylamin eine potente embryotoxische Wirkung besitzt (DeSesso, 1980). Die Bedeutung dieser Befunde muß aber wegen des außergewöhnlichen Zufuhrweges erheblich eingeschränkt werden.

Nach einer nur im Referat vorliegenden Untersuchung erhielten Kaninchen am 12. Trächtigkeitstag Hydroxylamin (ohne Dosisangaben) subkutan oder intrauterin injiziert. 4 Stunden später wurden die Embryonen lichtmikroskopisch untersucht. Hydroxylamin verursachte Zelltod in den Extremitätenknospen. Gleichzeitige Injektion von Propylgallat (ebenfalls ohne Dosisangabe) verhinderte diese Wirkung (keine weiteren Angaben; DeSesso, 1987). Auch diese Ergebnisse haben nur begrenzten Aussagewert.

Hydroxylaminhydrochlorid

Trächtigen Wistar-Ratten wurden 50 bis 2000 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht in 2 molarem Phosphatpuffer entweder am 9., 10., 11. oder 12. Tag der Gravidität intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden am 21. Tag getötet. Trotz maternaltoxischer und embryotoxischer Wirkungen, die von den Autoren jedoch nicht näher beschrieben wurden, wiesen die Feten keine Mißbildungen auf (Murphy und Chaube, 1964).

In einer weiteren Studie erhielten trächtige, 6 bis 8 Wochen alte Wistar-Ratten Einzelinjektionen von 3 bis 15, 29 bis 35 und 47 bis 59,3 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht intraperitoneal am Tag 11 oder 12 der Gravidität. Die Feten wurden am 21. Tag p.c. entbunden und auf Mißbildungen untersucht. Die Resorptionsstellen und die Anzahl toter Feten wurden ebenfalls ausgewertet. Dosen von 47 bis 59,3 mg/kg Körpergewicht, verabreicht am 11. Tag der Gravidität, waren für 8/12 Muttertieren tödlich. Die hier geschätzte LD₅₀ für die trächtige Ratte wurde mit 59,3 mg/kg Körpergewicht angegeben. Bei den lebenden Feten aller überleben-

den Muttertiere fanden sich keine Anomalien (nicht teratogen). Nach Applikation von 47 mg/kg Körpergewicht am 12. Tag der Gravidität wurden am Tag 21 p.c. jedoch 32 % Resorptionsstellen beobachtet. Die embryotoxische Wirkung wurde von den Autoren auf die Maternaltoxizität zurückgeführt (Chaube und Murphy, 1966).

Andere Autoren fanden, daß Hydroxylaminhydrochlorid nach intravenöser Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht am 3. oder 8. Tag p.c. bei Mischlingskaninchen unterschiedlicher Größe und Abstammung (keine Angaben zur Zahl der verwendeten Tiere) teratogene Effekte induzierte. Eine makroskopische Untersuchung der Feten sowie Bestimmung der Körperlänge erfolgte entweder am 11. oder 17. Tag p.c.. Die Corpora lutea jedes Weibchens wurden gezählt und die Anzahl lebender normaler, lebender mißgebildeter und toter sowie resorbierter Embryonen bzw. Feten ermittelt. Am 17. Tag waren 90 % der Feten der am 3. Tag behandelten Muttertiere entweder mißgebildet oder tot. Die Feten, deren Mütter am 8. Tag behandelt wurden, waren am 17. Tag tot oder resorbiert. Unter den Muttertieren, die am 3. Tag behandelt und am 11. Tag getötet wurden, wiesen über 50 % der Feten keine Anomalien auf. Bei den Feten der am 8. Tag behandelten und am 11. Tag getöteten Muttertiere waren die Verhältnisse ähnlich. Die beobachteten Anomalien traten vorwiegend in der Kopfregion auf (Zimmermann und Gottschewski, 1966). Die Arbeit von Zimmermann und Gottschewski ist jedoch mit erheblichen methodischen Mängeln behaftet (z. B. inhomogene Versuchstierpopulation, nur einmalige und intravenöse Verabreichung, keine Aussage zur Maternaltoxizität) und hat daher nur geringe Aussagekraft.

Trächtige Neuseeland-Kaninchen erhielten am 12. Tag der Gestation 50 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht intravenös (2 Tiere) oder 600, 450, 300 oder 200 mg/kg Körpergewicht (je ein Tier) bzw. 50 mg/kg Körpergewicht (7 Tiere) subkutan verabreicht. Kontrollen wurden nicht mitgeführt. Die mit 50 mg/kg Körpergewicht intravenös behandelten Kaninchen wurden zyanotisch und verendeten innerhalb von 10 Minuten. Nach subkutaner Injektion von 200 bis 600 mg/kg Körpergewicht trat der Tod der Muttertiere 5 bis 26 Minuten nach der Injektion ein und von den Tieren, die 50 mg/kg Körpergewicht subkutan erhielten, starb eines innerhalb von 4 Stunden und ein zweites während der folgenden Nacht. Die verbliebenen 5 Kaninchen wurden nach 5 Stunden (3 Tiere) oder 8 Stunden (2 Tiere) getötet und ihre Uteri untersucht. Letztere waren zyanotisch. Alle Embryonen

der nach 5 Stunden getöteten Muttertiere lebten, wiesen aber Erweiterungen der vorderen und hinteren Kardialvenen auf. Außerdem wurden bei 20 von 21 Embryonen petechiale Hämorrhagien in der Schädelgegend und bei 7 von 21 Embryonen rote Flüssigkeitsansammlungen in der Perikardhöhle beobachtet. Die 16 Embryonen der nach 8 Stunden untersuchten Muttertiere waren abgestorben. Diese Effekte wurden von den Autoren als Folge der Maternaltoxizität von Hydroxylaminhydrochlorid gedeutet. Um diese zu vermeiden, wurde in einem weiteren Versuch das Produkt nach Laparotomie der Muttertiere direkt in das Zölom der Embryonen injiziert. Die Dosierungen betragen 200 µg (4 Muttertiere), 100 bis 175 µg (4 Muttertiere), 75 µg (6 Muttertiere), 50 µg (6 Muttertiere) bzw. 25 µg (5 Muttertiere) pro Embryo. Die kontralateralen Embryonen erhielten als Kontrolle Kochsalzlösung. Dosen von 75 µg und höher erwiesen sich mit einer Resorptionsrate von 84 bis 100 % als embryolethal. Die hier überlebenden insgesamt 5 Feten hatten ein statistisch signifikant erniedrigtes Körpergewicht und 2 darüber hinaus Schädel- und Sternummißbildungen. Nach 25 und 50 µg/Embryo betrug die Resorptionsrate etwa 60 %, doch zeigten die überlebenden Feten weder vermindertes Körpergewicht noch strukturelle Mißbildungen. Auch hier kam es, ähnlich wie nach Applikation von Hydroxylamin (siehe DeSesso, 1980), mikroskopisch zu Nekrosen der Extremitätenknospen. Somit erwies sich Hydroxylaminhydrochlorid bei direkter Injektion in das Zölom bereits in Dosen von 25 µg/Embryo als embryotoxisch. Die Veränderungen der Extremitätenknospen deuten auf ein teratogenes Potential hin, wenn der Stoff den Wirkungsort, wie bei der oben beschriebenen Versuchsanordnung, erreicht (DeSesso und Goeringer, 1990). Die Aussagekraft dieser Befunde für die Verhältnisse der Praxis ist auch hier zweifelhaft.

Die wiederholte Gabe von 0,1 % Hydroxylaminhydrochlorid im Trinkwasser an Meerschweinchen führte bei einem trächtigen Tier zu Spätaborten. Ab 0,15 % kam keine Trächtigkeit mehr zustande (3 Tiere). 2 Meerschweinchen, die 0,03 % Hydroxylaminhydrochlorid im Trinkwasser erhielten, hatten normale Nachkommen. Bei Gabe von 0,02 bis 0,05 % wurden bei den Tieren Veränderungen der Geschlechtsorgane, wie Atrophie der Leydig-Zellen, partielle Aspermie, Atrophie der Samenblasen sowie nicht ausreifende Follikel, abnorme Gelbkörper und Nekrosen der Plazenta, beobachtet (keine weiteren Angaben; Atallah, 1966).

Hydroxylaminhydrochlorid wurde an 4 trächtige Milchkühe in Dosen von 40 bis 60 mg/kg Körpergewicht mit Getreide verfüttert, wobei jeweils 1/4 der Dosis 4mal täglich verabfolgt wurde. Die Behandlung begann nach dem 2. Monat der Trächtigkeit und dauerte bis zu deren Ende. Die Kälber wurden innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt seziiert. Bei den Muttertieren waren neben einem erhöhten Methämoglobingehalt von 10 bis 15 % Erythrozytenzahl und Hämatokrit reduziert, der Trächtigkeitsverlauf blieb dennoch unbeeinflusst. Keines der Kälber wies Mißbildungen auf (Winter und Hokanson, 1964).

Weiterhin wurde über die Wirkung von Hydroxylaminhydrochlorid auf die embryonale Entwicklung von Küken berichtet. Am 3. Tag der Inkubation wurde ein Fenster in die Eier gebohrt und dieses mit einem durchsichtigen Klebestreifen verschlossen. Am 3., 6., 7., 10., 12. oder 13. Tag der Inkubation erfolgte die Injektion von 0,1 ml einer Hydroxylaminhydrochlorid-Lösung in die Luftkammer. Drei verschiedene Dosen wurden am 3. Tag appliziert: 0,25 bis 1,0 mg, 0,012 bis 0,1 mg und 0,001 bis 0,006 mg. Am 6., 7., 10. und 12. Tag wurden 0,006 mg und am 13. Tag 0,012 mg injiziert. Am 14. Tag der Inkubation wurden alle Embryonen getötet und makroskopisch auf Mißbildungen untersucht. Die Kontrollen wiesen insgesamt 10,6 % Mißbildungen auf im Vergleich zu 15 % in den mit dem Hydrochlorid behandelten Gruppen. Aus diesen Ergebnissen schlossen die Autoren, daß Hydroxylaminhydrochlorid einen sehr schwachen teratogenen Effekt nach Applikation an Hühnerembryonen am 6. bis 13. Tag der Inkubation induzierte, der sich in einer erhöhten Häufigkeit an Kurzflügeligkeit („Brachymelia“) in den mit dem Hydroxylaminhydrochlorid behandelten Gruppen im Vergleich zu den Kontrollen darstellte. Hinsichtlich weiterer Mißbildungen zeigten sich praktisch keine Unterschiede zwischen der Kontrolle und den behandelten Gruppen (Stoll et al., 1967 a, b). Eine Übertragung dieser Befunde auf Säugersysteme ist jedoch kaum möglich, da die bei Säugern vorhandenen Resorptionsschranken und Entgiftungsmechanismen unberücksichtigt bleiben. Weiterhin ist dieses Versuchssystem überhöht empfindlich und es kann nicht zwischen teratogenen und embryoletalen Wirkungen unterschieden werden (Skofitsch, 1988; Neubert et al., 1992; Neubert, 1993; Heinrich-Hirsch, 1992).

Hydroxylaminsulfat

In einer Dosisfindungsstudie zu einer umfassenden Untersuchung zur pränatalen Toxizität von Hydroxylaminsulfat wurden Gruppen von je 10 trächtigen Wistar-Ratten mit Dosierungen von 5, 15 und 30 mg/kg Körpergewicht vom 6. bis 15. Tag der Trächtigkeit täglich oral mit der Schlundsonde behandelt. Das Hydroxylaminsulfat (98,6 % rein) war jeweils in 5 ml Wasser/kg Körpergewicht gelöst. Eine Kontrollgruppe erhielt nur Wasser. Der Futterverbrauch, die Entwicklung des Körpergewichtes und auftretende klinische Symptome wurden von allen Tieren bis zum Versuchsende beobachtet. Am 16. Tag der Trächtigkeit wurden alle Tiere getötet, Untersuchungen des Blutes durchgeführt, die Gewichte von Leber, Nieren und Milz bestimmt sowie der Uterus und die vorhandenen Feten untersucht. An den Muttertieren wurde eine Reihe von Reproduktionsparametern, wie die Zahl der Gelbkörper, der Implantationsstellen und der Prä- und Postimplantationsverluste, bestimmt. An den Feten wurde das Gewicht gemessen, lebende und tote Feten gezählt und eine äußerliche Examination der Feten vorgenommen. Histopathologische Untersuchungen wurden in keinem Fall durchgeführt. Alle Tiere überlebten bis zum Versuchsende und zeigten keine substanzbedingten Abweichungen des Futterverbrauches, der Körpergewichtsentwicklung oder klinische Symptome bis zur höchsten Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht. In den beiden oberen Dosisgruppen traten signifikante Veränderungen des roten Blutbildes und der Zahl der Leukozyten auf, die Ausdruck einer schweren Anämie mit Heinz-Körper-Bildung waren. Der Anstieg der Leukozyten war deutlich dosisabhängig, ebenso wie der Anstieg der Retikulozyten und die massive Vermehrung der Heinz-Körper. Hämoglobin und Hämatokrit waren signifikant erniedrigt. Der Sauerstoffgehalt und die Sauerstoffkapazität im peripheren Blut der mit 15 und 30 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht behandelten Tiere war signifikant erniedrigt. Die Blutgerinnung wurde durch die Gabe der Prüfsubstanz nicht verändert, die blutchemischen und klinisch-chemischen Parameter zeigten keine Abweichungen von der Norm, bis auf das Gesamtbilirubin, das in Korrelation zum erhöhten Zerfall roter Blutzellen in den beiden hohen Dosisgruppen erhöht war. Das absolute und relative Milzgewicht war in diesen Dosisgruppen (15 und 30 mg/kg Körpergewicht) deutlich erhöht, in der niedrigsten Gruppe (5 mg/kg Körpergewicht) nur schwach, aber signifikant. Die Gewichte von Leber, Nieren und Uterus der Tiere waren durch die Substanzgabe nicht beeinflusst. Alle untersuchten Reproduktionsparameter

der Muttertiere sowie die Zahl und das Gewicht der Feten waren durch die Behandlung mit Hydroxylaminsulfat mit keiner der eingesetzten Dosierungen verändert. Die äußerliche Begutachtung der Feten zeigte in keinem Fall eine Wirkung des Stoffes (BASF, 1992 b).

In der anschließenden umfassenden Studie (entsprechend OECD-Richtlinie Nr. 414) wurden Gruppen von 22 bis 24 trächtigen Wistar-Ratten mit Hydroxylaminsulfat (98,4 % rein) in Dosierungen von 0 (Kontrollen), 1, 3, 10 und 20 mg/kg Körpergewicht mit der Schlundsonde per os vom 6. bis 15. Tag post coitum behandelt. Die Testsubstanz wurde in einer wässrigen Lösung in einem Volumen von 5 ml/kg Körpergewicht verabreicht. Am 20. Tag p.c. wurden alle Tiere getötet und wie in der Dosisfindungsstudie untersucht, einschließlich der Bestimmung der Milzgewichte. Die Feten wurden herausgenommen, Geschlecht und Gewicht bestimmt und auf äußerliche Mißbildungen sowie auf etwaige Befunde am Skelett und an den Weichteilen untersucht. Mit keiner der verabreichten Dosierungen an Hydroxylaminsulfat wurden substanzbedingte teratogene Wirkungen beobachtet. Auch Anzeichen für eine Embryo- oder Fetotoxizität fehlten. Bei den mit 10 und 20 mg/kg Körpergewicht behandelten Muttertieren zeigten sich toxische Effekte, die sich als statistisch signifikante Vergrößerung der Milz um 100 bzw. 60 % manifestierten, als Ursache einer schweren hämolytischen Anämie mit den entsprechenden Veränderungen des Blutbildes, wie auch in der vorstehend beschriebenen Dosisfindungsstudie mit Dosierungen von 5, 15 und 30 mg Hydroxylaminsulfat/kg Körpergewicht an trächtigen Wistar-Ratten gezeigt wurde. Sonstige, durch Hydroxylaminsulfat bewirkte toxische Veränderungen wurden an den Muttertieren nicht beobachtet (BASF, 1994).

Im Rahmen einer Studie zur subchronischen Toxizität von Hydroxylaminsulfat, bei der männliche und weibliche Wistar-Ratten 3 Monate lang mit Dosierungen von täglich bis zu 21 mg/kg Körpergewicht über das Trinkwasser behandelt wurden (siehe Kapitel 7.5), erfolgte auch eine Befundung makroskopischer und mikroskopischer Veränderungen der Geschlechtsorgane. Prüfsubstanzbedingte Veränderungen wurden weder bei den Hodengewichten noch bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Ovarien, des Uterus und der Hoden gefunden (BASF, 1989 b).

7.9 Wirkungen auf das Immunsystem

Keine Information vorhanden.

7.10 Neurotoxizität

Bereits 1889 wurden bei einem Kaninchen, dem subkutan 55 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht appliziert wurden, 10 Minuten nach der Behandlung Unruhe, klonische Zuckungen, Strychnin-artige Streckung, Nystagmus und erhöhte Respirationsfrequenz beobachtet. Die Symptome hielten bis zu 7 Stunden nach der Applikation an (Lewin, 1889).

Nach Verabreichung von 10 ml einer 2prozentigen Hydroxylaminhydrochlorid-Lösung oder einer 3prozentigen Hydroxylaminsulfat-Lösung/kg Körpergewicht an Ratten (entsprechend 200 bzw. 300 mg/kg Körpergewicht) mit der Schlundsonde an jedem zweiten Tag über 2 Monate wurde bei klinisch nicht sicher diagnostizierbaren motorischen Lähmungen an den Extremitäten lichtmikroskopisch ein massiver Markscheidenabbau am Nervus ischiadicus beobachtet, der vergleichbar mit der nervenfaserschädigenden Wirkung von Isoniazid war (keine weiteren Angaben; Klinghardt, 1961).

In einer Untersuchung an Schafen, die Dosierungen an Hydroxylaminhydrochlorid in einer Höhe erhielten, die ihr Überleben für mehr als einige Tage ermöglichte, wurde eine deutliche Methämoglobinämie, aber keine Abnormalitäten des zentralen Nervensystems beobachtet. Die Angaben zu den verabreichten Dosierungen sind unklar. Es heißt: „Einzeldosierungen betragen zwischen 25 und 50 mg/kg. 6 Schafe erhielten von 150 bis 3225 mg/kg in 6 bis 184 Tagen“ (keine weiteren Angaben; Hurst, 1942).

7.11 Sonstige Wirkungen

Hydroxylamin

Es wurde berichtet, daß die Inkubation von Ochsen- oder Schweineleber-Carboxylesterasen (in vitro) mit einer 0,25 M Konzentration von Hydroxylamin (entsprechend 8,25 mg/ml) eine rasche Inaktivierung dieser Enzyme bewirkte (Runnegar et al., 1968).

Beschrieben wurde auch eine Steigerung der Aromatase-Aktivität des mikrosomalen Cytochrom P-450 der menschlichen Plazenta in vitro durch eine 5×10^{-2} M Konzentration (entsprechend 16,5 mg/ml) von Hydroxylamin. Die Aktivität betrug 140 % derjenigen der Kontrolle (Zachariah et al., 1976).

In der Mitochondrienfraktion eines Hirnrindenhomogenates von männlichen Wistar-Ratten stimulierte Hydroxylamin in einer Konzentration von 2 mM (entsprechend 66 µg/ml) die Guanylat-Cyclase bis zum 25fachen der normalen Aktivität. Eine Aufspaltung der rohen Mitochondrienfraktion durch fraktionierte Zentrifugation zeigte, daß sich die Guanylat-Cyclase selbst in der löslichen Fraktion befand, der sie aktivierende Faktor aber in den Mitochondrien lokalisiert war, auf die das Hydroxylamin einwirkte (Deguchi, 1977).

Hydroxylaminhydrochlorid

Die subkutane Injektion von 0,015 mmol/Maus (entsprechend ca. 50 mg/kg Körpergewicht) an 4 aufeinanderfolgenden Tagen führte zu einer vorübergehenden Inhibierung der Katalaseaktivität in Blut und Leber, die jedoch nach 6 Tagen reversibel war (Adams und Roe, 1953).

Bei der Untersuchung der Wirkung von Hydroxylaminhydrochlorid auf Rinderherz-Zytochromoxidase in vitro wurde eine dosisabhängige Hemmung in einem Konzentrationsbereich von $1,6 \times 10^{-5}$ bis $4,6 \times 10^{-3}$ M (entsprechend 1,1 bis 320 µg/ml) festgestellt (Yoshikawa und Orii, 1970).

Hydroxylaminhydrochlorid wurde auf seine therapeutische Wirkung bei Cyanid-Vergiftung an männlichen CD-Mäusen untersucht. Nach intraperitonealer Injektion von Natriumcyanid betrug die LD_{50} 6 mg/kg Körpergewicht. Die intraperitoneale Injektion von 76 mg Hydroxylaminhydrochlorid/kg Körpergewicht 10 Minuten vor der Cyanid-Injektion resultierte in einer Cyanid- LD_{50} von 8,8 mg/kg Körpergewicht. Die Schutzwirkung war damit nur schwach ausgeprägt und nur etwa halb so stark wie die von Natriumnitrit (Kruszyna et al., 1982).

20 männliche Wistar-Ratten (248 ± 20 g) erhielten 1 bis 63 Tage lang 0,3 g Hydroxylaminhydrochlorid/l Trinkwasser (4,3 mM). Am Ende des Versuches betrug die kumulierte Menge 755 ± 121 µmol/kg Körpergewicht (entsprechend 53 ± 8 mg/kg Körpergewicht). Gemessen wurden einige bioche-

mische Parameter nach 1, 49 und 63 Behandlungstagen im Gesamthirnhomogenat, im Gliazellhomogenat und im Muskelhomogenat (je 5 Ratten). Von den untersuchten Enzymaktivitäten der Acetylcholinesterase, Succinat-Dehydrogenase, Kreatinkinase und zyklische Nukleotid-Phosphohydrolase war nach 62 Behandlungstagen nur die Aktivität der Kreatinkinase im Muskelgewebe schwach erhöht (Savolainen, 1984). Die Bedeutung dieser Befunde ist unklar.

An anästhesierten Hunden und Katzen bewirkte die intravenöse Injektion von Hydroxylaminhydrochlorid eine dosisabhängige Blutdrucksenkung. Bei Katzen sank der Blutdruck nach 2, 4, 6 bzw. 8 mg/kg Körpergewicht auf 57, 61, 63 bzw. 53 % der Ausgangswerte. Die Effekte waren langsamer reversibel als nach 6 mg Natriumnitrit/kg Körpergewicht (Kruszyna et al., 1984).

Hydroxylaminhydrochlorid hemmte die Insulinsekretion von isolierten Langerhans'schen Inseln und von Insulin-ausscheidenden Zellen der Linien HIT-T15 und RINm5F in vitro. Die Langerhans'schen Inseln wurden aus erwachsenen weiblichen Ratten (Sprague-Dawley) isoliert und nach 30 Minuten Vorinkubation für weitere 30 Minuten mit einer Konzentration von 1 mM Hydroxylaminhydrochlorid (entsprechend 70 µg/ml) inkubiert. Die gleiche Versuchsanordnung wurde für Glukose-induzierte HIT-T15-Zellen (Passage 76-80) und Glycerinaldehyd-induzierte RINm5F-Zellen (Passage 101-102) angewendet. In allen Fällen wurde die Insulinsekretion stark und signifikant bis zu 75 % gehemmt. Der Gehalt an zyklischem GMP (Guanosinmonophosphat) wurde in den Langerhans'schen Inseln erhöht, in den Zellkulturen nicht. Eine Erhöhung des Gehaltes an zyklischem AMP (Adenosinmonophosphat) war nur in der RINm5F-Kultur nachweisbar. Die Autoren führten die Wirkung des Hydroxylaminhydrochlorids auf die Bildung von NO als Zwischenprodukt bei der Oxidation von Hydroxylamin zu Nitrit und Nitrat zurück (Cunningham et al., 1994).

Hydroxylaminsulfat

Keine Information vorhanden.

8 Erfahrungen beim Menschen

Hydroxylamin

Es wurde berichtet, daß am Ende eines Arbeitstages bei Beschäftigten nach dem Umgang mit Hydroxylamin im Blut Methämoglobinkonzentrationen von bis zu 25 % gefunden wurden (keine weiteren Angaben; CHIP, 1984).

Hydroxylaminhydrochlorid

Es liegt ein Bericht über eine akute Vergiftung durch Hydroxylaminhydrochlorid beim Menschen nach oraler Aufnahme vor, in dem die Befunde bei einer Frau beschrieben wurden, die angeblich etwa „2 Schluck“ einer Lösung des Hydroxylaminhydrochlorids versehentlich getrunken hatte. Unmittelbar nach der Aufnahme fanden sich keine Beschwerden, jedoch 2 Stunden später stellten sich Übelkeit, Erbrechen und Zyanose der Nägel ein. Des weiteren entwickelte sich eine progressive hämolytische Anämie mittleren Grades mit Leukozytose und erhöhter Blutsenkungsgeschwindigkeit. Die Rekonvaleszenz dauerte 5 Wochen. Thrombozytenzahl, Blutungszeit und Gerinnungszeit waren normal (Makotcenko und Rutstejn, 1974).

Nach einem kasuistischen Beitrag führte die dermale Exposition gegenüber Hydroxylaminhydrochlorid bei 5 von 13 Beschäftigten zu einer ekzematösen Dermatitis, die an den oberen Extremitäten, im Gesicht und am Hals lokalisiert war. Nach diagnostischer Testung wiesen alle 5 Personen eine positive Hautreaktion als Zeichen einer Kontaktallergie gegen Hydroxylaminhydrochlorid auf (Gobbi, 1970).

Es wurde weiterhin berichtet, daß der Kontakt der Haut mit Hydroxylaminhydrochlorid zu Irritationen mit Juckreiz führte, der sich während der Nacht verstärkte. Nach längerer Exposition kam es in einigen Fällen zur Entwicklung einer allergischen Dermatitis vom erythematös-squamösem Typ, wobei hauptsächlich Rumpf und unteres Drittel der Unterarme betroffen waren. Diese trat meist 1 bis 2 Wochen nach Arbeitsbeginn, manchmal jedoch auch erst nach längerer Dauer (bis zu 3 bis 5 Jahren) auf (Parmeggiani, 1983).

Bei 7 von 20 in der Produktion von Hydroxylaminhydrochlorid Beschäftigten entwickelte sich innerhalb von 2 bis 60 Tagen eine Kontaktdermatitis. Alle Personen zeigten bei der diagnostischen Epikutantestung mit einer 0,1- bzw. 1prozentigen Hydroxylaminhydrochlorid-Lösung eine positive Hautreaktion (Folesky et al., 1971).

In einer weiteren Kasuistik wurde über 11 Personen berichtet, die alle aus dem gleichen Betrieb stammten und mit Hydroxylaminhydrochlorid und -sulfat gearbeitet hatten. 4 hatten ekzematöse Hautveränderungen an den Händen mit Nagelveränderungen, 6 klagten nur über subjektive Empfindungen, wie Kribbeln und Juckreiz. 6 der 11 Patienten reagierten auf eine Testung mit 2- und 1prozentiger wäßriger Lösung von Hydroxylaminsulfat positiv, 3 von 11 auch auf eine 0,1prozentige Lösung. Von 34 Kontrollpersonen reagierten allerdings ebenfalls 14 auf eine Testung mit 2- und 1prozentiger Lösung positiv (Pellerat und Chabeau, 1975).

Auch bei einer nicht atopischen, vorher gesunden 32jährigen Frau, die als Laborantin in einem Wasserlabor 0,5 bis 2 Stunden täglich mit einer Lösung von Hydroxylaminhydrochlorid in Berührung kam, stellte sich eine Dermatitis an den Händen ein, die sich später auf ihre Arme und ihr Gesicht ausbreitete. Im Patch-Test wurde nachgewiesen, daß es sich um eine Kontaktallergie gegen Hydroxylamin handelte. Bei Vermeidung des Kontaktes verschwand die Erkrankung (Estlander et al., 1997).

Hydroxylaminsulfat

Es wurde über einen Arbeiter berichtet, der beruflich mit Farbenentwicklungschemikalien beschäftigt war. Er hatte mit verschiedenen Farbentwicklern zu tun, von denen einer u. a. Hydroxylaminsulfat enthielt. 5 Monate nach Beginn seiner Beschäftigung entwickelte sich ein chronisches Handekzem mit teilweiser Ablösung der Fingernägel. Pilzinfektionen konnten ausgeschlossen werden. Im Patch-Test erwies sich nur der Hydroxylaminsulfat-haltige Entwickler und von dessen Komponenten nur Hydroxylaminsulfat (2- und 5prozentig in Wasser) nach 24 Stunden als positiv und nach 96 Stunden als stark positiv (Goh, 1990).

In einer Untersuchung an freiwilligen Probanden wurden alle Testpersonen an 3 Tagen/Woche für 24 Stunden okklusiv mit einer Lösung von 0,05 % Hydroxylaminsulfat in Wasser über 3 Wochen an der gleichen Hautstelle

behandelt. Nach einer Wartezeit von weiteren 2 Wochen erfolgte die Auslösung in einem Patch-Test an einer unbehandelten Hautstelle. Probanden mit auf ein allergisches Hautekzem hinweisendem Befund wurden zur Bestätigung einer zweiten Auslösung 3 Wochen später unterzogen. Von 76 Testpersonen reagierten 3 eindeutig positiv (Griffith und Buehler, 1977).

9 Einstufungen und Grenzwerte

Hydroxylamin und seine Salze sind von der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (MAK-Kommission) in der MAK- und BAT-Werte-Liste 2000 mit „Sh“ für hautsensibilisierende Stoffe markiert worden (DFG 2000; Greim, 2000).

Im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG sind Hydroxylamin und seine Salze mit R43 als sensibilisierend legal eingestuft und gekennzeichnet worden.

10 Arbeitsmedizinische Empfehlungen

Im Hinblick auf die Methämoglobinbildung - auch nach dermalen Aufnahme - sind arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen, angelehnt an den Berufsgenossenschaftlichen Grundsatz G33 (aromatische Nitro- und Aminoverbindungen), angezeigt, obwohl es sich um ein nicht aromatisches Amin handelt.

Literatur

- Abbondandolo, A., Fiorio, R., Durante, M., Bonatti, S.
Evaluation of a short-term test for the detection of genetic damage in human cultured cells
Mutat. Res., 53, 141 (1978)
- Adams, D.H., Roe, F.J.C.
The action of some chemical substances on mouse liver catalase activity in vivo
Br. J. Cancer, 7, 509 - 518 (1953)
- Adler, B., Braun, R., Schöneich, J., Böhme, H.
Repair-defective mutants of *Proteus mirabilis* as a prescreening system for the detection of potential carcinogens
Biol. Zentralbl., 95, 463 - 469 (1976)
- Allied Corporation
Product safety data sheet hydroxylamine sulfate (1983 a)
NTIS/OTS 0503910
- Allied Corporation, Department of Toxicology
Acute dermal toxicity study of hydroxylamine sulfate
Bericht Nr. MA-164-81-3 (1983 b)
NTIS/OTS 0503910
- Arnol'dova, K.A., Speranskii, N.N.
Some aspects of the effect of hydroxylamine hydrochloride on animals (englische Übersetzung aus dem Russischen)
Gig. Tr. Prof. Zabol., Heft 7, 38 - 42 (1963)
- Atallah, O.A.A.
Experimental nitrate, nitrite and hydroxylamine toxicosis in the guinea pig
Michigan State University (1966)
siehe auch: Diss. Abstr., B 27, 3160-B (1967)
- BASF AG, Gewerbehygienisch-pharmakologisches Institut
Bericht über die orientierende biologische Prüfung von Hydroxylammoniumsulfat
unveröffentlichter Bericht (1956)
- BASF AG, Gewerbehygienisch-pharmakologisches Institut
Hydroxylammoniumsulfat - Ergebnis der gewerbetoxikologischen Vorprüfung
unveröffentlichter Bericht (1969)
- BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie
Bericht über die Prüfung der akuten Toxizität und Hautwirkung von Vollwaschmittel M, mit und ohne Zusatz von Hydroxylammoniumsulfat
unveröffentlichter Bericht (1970)
- BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie
Hydroxylammoniumchlorid techn. rein - Ergebnis der gewerbetoxikologischen Vorprüfung
unveröffentlichter Bericht (1975)

BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie
Hydroxylammoniumsulfat - Prüfung der akuten dermalen Toxizität an der Rückenhaut weißer Kaninchen
unveröffentlichter Bericht (1980)

BASF AG, Gewerbehygiene und Toxikologie
Hydroxylammoniumsulfat - Prüfung der methämoglobinbildenden Wirkung an Katzen
unveröffentlichter Bericht (1981)

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Bericht über die Prüfung der Toxizität von Hydroxylammoniumsulfat an Ratten bei 4wöchiger Gabe über das Trinkwasser (Range finding-Versuch)
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 22C0389/8429 (1989 a)

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Prüfung der oralen Toxizität von Hydroxylammoniumsulfat an Ratten, Verabreichung im Trinkwasser (Milli-Q-Reinstwasser) über 3 Monate
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 32C0389/8474 (1989 b)

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Cytogenetic study in vivo of Hydroxylammonium-sulfat (Festsalz) in mice, micronucleus test, single oral administration
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 26M0188/914310 (1992 a)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Preliminary study of the prenatal toxicity of Hydroxylammoniumsulfat in rats after oral administration (gavage)
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 10R0188/91032 (1992 b)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

BASF AG, Abteilung Toxikologie
Study of the prenatal toxicity of hydroxylammoniumsulfate in Wistar rats after oral administration (gavage)
unveröffentlichter Bericht, Projekt-Nr. 30R0188/91070 (1994)
im Auftrag der Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie

Bautz Freese, E., Freese, E.
Two separable effects of hydroxylamine on transforming DNA
Proc. Natl. Acad. Sci., 52, 1289 - 1297 (1964)

Bendich, A., Borenfreund, E., Korngold, G.C., Krim, M.
Action of hydroxylamines on DNA and chromosomes
Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol., 22, 582 (1963)

Bernheim, M.L.C.
The reduction of hydroxylamine and some aryl hydroxamates by liver mitochondria from mammals and birds
Enzymologia, 43, 167 - 176 (1972)

Bhattacharya, A.K., Biswas, A., Haldar, G.
Genotoxicity of amino acids - a probe
Indian J. Exp. Biol., 24, 460 - 463 (1986)

Bianchi, V., Nuzzo, F., Abbondandolo, A., Bonatti, S., Capelli, E., Fiorio, R., Giulotto, E., Mazzaccaro, A., Stefanini, M., Zaccaro, L., Zantedeschi, A., Levis, A.G.
Scintillometric determination of DNA repair in human cell lines - a critical appraisal
Mutat. Res., 93, 447 - 463 (1982)

Binz, C.
Toxikologisches über das Hydroxylamin
Virchows Arch., 113, 1 - 9 (1888)

Borenfreund, E., Krim, M., Bendich, A.
Chromosomal aberrations induced by hyponitrite and hydroxylamine derivatives
J. Natl. Cancer Inst., 32, 667 - 679 (1964)

Bresler, S.E., Kalinin, V.L., Perumov, D.A.
Inactivation and mutagenesis on isolated DNA. II. Kinetics of mutagenesis and efficiency of different mutagens
Mutat. Res., 5, 1 - 14 (1968)

Brøgger, A.
Chromosome damage in human cells induced by hydroxylamine
Hereditas, 69, 19 - 24 (1971)

Brusick, D.J., Stetka, D.
Mutagenic assessment of hydroxylamine sulfate in the mouse micronucleus assay
Proc. Symp. Ind. Approach Chem. Risk Assess., 229 - 232 (1984)

Budowsky, E.I.
The mechanism of the mutagenic action of hydroxylamines
Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol., 16, 125 - 188 (1976)

Chaube, S., Murphy, M.L.
The effects of hydroxyurea and related compounds on the rat fetus
Cancer Res., 26, 1448 - 1457 (1966)

CHIP (Chemical Hazard Information Profile)
Hydroxylamine, hydroxylamine hydrochloride, hydroxylamine sulfate (2:1) (salt), hydroxylamine sulfate (1:1) (salt)
Office of Toxic Substances, US Environmental Protection Agency (1984)

Chu, C.T., Parris, D.S., Dixon, R.A.F., Farber, F.E., Schaffer, P.A.
Hydroxylamine mutagenesis of HSV DNA and DNA fragments: introduction of mutations into selected regions of the viral genome
Virology, 98, 168 - 181 (1979)

Commercial Solvents Corporation
Hydroxylammonium salts
Toxicology of CSC-Products, Office Memorandum (1960)

Cunningham, G.N., Wise, M.B., Barrick, E.R.
Influence of nitrite and hydroxylamine on performance and vitamin A and carotene metabolism of ruminants
J. Anim. Sci., 27, 1067 - 1072 (1968)

Cunningham, J.M., Mabley, J.G., Delaney, C.A., Green, I.C.
The effect of nitric oxide donors on insulin secretion, cyclic GMP and cyclic AMP in rat islets of Langerhans and the insulin-secreting cell lines HIT-T15 and RINm5F
Mol. Cell. Endocrinol. 102, 23 - 29 (1994)

Deguchi, T.
Activation of guanylate cyclase in cerebral cortex of rat by hydroxylamine
J. Biol. Chem., 252, 596 - 601 (1977)

Derelanko, M.J., Gad, S.C., Gavigan, F.A., Babich, P.C., Rinehart, W.E.
Toxicity of hydroxylamine sulfate following dermal exposure: variability with exposure method and species
Fundam. Appl. Toxicol., 8, 583 - 594 (1987)

DeSesso, J.M.
Demonstration of the embryotoxic effects of hydroxylamine in the New Zealand white rabbit
Anat. Rec., 196, 45A - 46A (1980)

DeSesso, J.M.
Embryonic cell death caused by hydroxyurea and three other hydroxylamine-containing compounds
Teratology, 35 (2), 43A (1987)

DeSesso, J.M., Goeringer, G.C.
Developmental toxicity of hydroxylamine: an example of a maternally mediated effect
Toxicol. Ind. Health, 6 (1), 109 - 121 (1990)

DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Prüfung gesundheits-schädlicher Arbeitsstoffe)
MAK- und BAT-Werte-Liste 2000
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2000)

Dow Chemical Company
In vivo mutagenicity studies with trichloroethylene and other solvents (preliminary results) prepared by Laboratorio di Genetica Dell'Universita Degli Studi (1982)
NTIS/OTS 206128

Dunkel, V.C., Pienta, R.J., Sivak, A., Traul, K.A.
Comparative neoplastic transformation responses of Balb/3T3 cells, Syrian hamster embryo cells, and Rauscher murine leukemia virus-infected Fischer 344 rat embryo cells to chemical carcinogens
J. Natl. Cancer Inst., 67, 1303 - 1315 (1981)

Dunkel, V.C., Zeiger, E., Brusick, D., McCoy, E., McGregor, D., Mortelmans, K., Rosenkranz, H.S., Simmon, V.F.
Reproducibility of microbial mutagenicity assays: I. Tests with Salmonella typhimurium and Escherichia coli using a standardized protocol
Environ. Mutagen., 6, Suppl. 2, 1 - 254 (1984)

Dunn, B.J., Rusch, G.M., Siglin, J.C., Blaszcak, D.L.
Variability of a mouse ear swelling test (MEST) in predicting weak and moderate contact sensitization
Fundam. Appl. Toxicol., 15, 242 - 248 (1990)

Engel, W., Krone, W., Wolf, U.
Die Wirkung von Thioguanin, Hydroxylamin und 5-Bromdesoxyuridin auf menschliche Chromosomen in vitro
Mutat. Res., 4, 353 - 368 (1967)

Epstein, S.S., Arnold, E., Andrea, J., Bass, W., Bishop, Y.
Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse
Toxicol. Appl. Pharmacol., 23, 288 - 325 (1972)

Estlander, T., Jolanki, R., Kanerva, L.
Hydroxylammonium chloride as sensitizer in a water laboratory
Contact Dermatitis, 36, 161 - 162 (1997)

Evarts, R.P., Brown, C.A.
Morphology of mammary gland, ovaries, and pituitary gland of hydroxylamine-fed C3H/HeN mice
Lab. Invest., 37, 53 - 63 (1977)

Evarts, R.P., Brown, C.A., Atta, G.J.
The effect of hydroxylamine on the morphology of the rat mammary gland and on the induction of mammary tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene
Exp. Mol. Pathol., 30, 337 - 348 (1979)

Fahmy, O.G., Fahmy, M.J.
Hydroxylamine and derivatives: cytotoxicity without mutagenicity in cellular genetic systems
Chem. Biol. Interact., 2, 331 - 348 (1970)

Falbe, J., Regitz, M. (Hrsg.)
Römpp Chemie Lexikon
10. Aufl., Bd. 3, S. 1850 - 1851
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1997)

Folesky, H., Nickel, H., Rothe, A., Zschunke, E.
Allergisches Ekzem durch Salze des Hydroxylamins (Oxammonium)
Z. Gesamte Hyg., 17, 353 - 356 (1971)

Freese, E.
Molecular mechanism of mutations
in: Taylor, J.H. (ed.)
Molecular genetics, Part 1, Chapter 5, p. 207 - 269
Academic Press, New York and London (1963)

Freese, E., Bautz Freese, E.
The oxygen effect on deoxyribonucleic acid inactivation by hydroxylamine
Biochemistry, 4, 2419 - 2433 (1965)

Freese, E., Bautz, E., Bautz Freese, E.
The chemical and mutagenic specificity of hydroxylamine
Proc. Natl. Acad. Sci., 47, 845 - 855 (1961)

Gad, S.C., Dunn, B.J., Dobbs, D.W., Reilly, C., Walsh, R.D.
Development and validation of an alternative dermal sensitization test: the mouse ear swelling test (MEST)
Toxicol. Appl. Pharmacol., 84, 93 - 114 (1986)

Gobbi, A.
Kontaktexzem durch Hydroxylamin bei der Herstellung von Cycloserin
Med. Lav., 61, 387 - 391 (1970)

Goh, C.L.
Allergic contact dermatitis and onycholysis from hydroxylamine sulphate in colour developer
Contact Dermatitis, 22, 109 (1990)

Gordon, V.C., Mirhashemi, S., Wei, R., Harutunian, V.
A new in vitro method to determine the corrosivity potential of surfactants and surfactant-based formulations
Commun. J. Com. Esp. Deterg., 25, 11 - 27 (1994)

Graf, U., Juon, H., Katz, A.J., Frei, H.J., Würgler, F.E.
A pilot study on a new Drosophila spot test
Mutat. Res., 120, 233 - 239 (1983)

Grant, W.M.
Toxicology of the eye
2nd ed., p. 569
Thomas, C.C., Springfield, Illinois (1974)

Greim, H. (Hrsg.)
Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen)
Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (2000)

Griffith, J.F., Buehler, E.V.
Prediction of skin irritancy and sensitizing potential by testing with animals and man in: Cutaneous toxicity, p. 155 - 173
Academic Press, New York (1977)

Gross, P., Smith, R.P.
Biological activity of hydroxylamine: a review
Crit. Rev. Toxicol., 14 (1), 87 - 99 (1985)

Gupta, P., Sharma, T.
Non-random distribution of aberrations and identification with C- and G-bandings of the position of breakage points of muntjac chromosomes induced by mitomycin C, bromodeoxyuridine and hydroxylamine
Mutat. Res., 81, 63 - 74 (1981)

Gupta, P., Sharma, T.
Differential sensitivity of muntjac lymphocyte chromosomes to mitomycin C, bromodeoxyuridine and hydroxylamine at different cell-cycle stages
Mutat. Res., 93, 161 - 174 (1982 a)

Gupta, P., Sharma, T.
Effect of mitomycin C, hydroxylamine & bromodeoxyuridine on cell cycle kinetics & sister chromatid exchange frequency of muntjac lymphocytes
Indian J. Exp. Biol., 20, 726 - 730 (1982 b)

Harman, D.
Prolongation of the normal lifespan and inhibition of spontaneous cancer by antioxidants
J. Gerontol., 16, 247 - 254 (1961)

Heard, J.T., jr., Matney, T.S.
Requirement of a partially diploid donor for the chemical induction of mutations in transforming DNA
Mutat. Res., 69, 217 - 224 (1980)

Heinrich-Hirsch, B.
Possible contribution of in vitro methods to risk assessment; discussion of the presentation in: Neubert et al., S. 471 (1992)

Heinemann, B.
Prophage induction in lysogenic Escherichia coli with simple hydroxylamine and hydrazine compounds
Appl. Microbiol., 21, 726 - 731 (1971)

Hemminki, K., Falck, K., Vainio, H.
Comparison of alkylation rates and mutagenicity of directly acting industrial and laboratory chemicals
Arch. Toxicol., 46, 277 - 285 (1980)

Ho, Y.L., Ho, S.K.
Screening of carcinogens with the prophage λ clts857 induction test
Cancer Res., 41, 532 - 536 (1981)

Hurst, E.W.
Experimental demyelination of the central nervous system. 3. Poisoning with potassium cyanide, sodium azide, hydroxylamine, narcotics, carbon monoxide, etc., with some consideration of bilateral necrosis occurring in the basal nuclei
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 20, 297 - 312 (1942)

ICI (Imperial Chemical Industries)
Information on hydroxylamine sulphate (salt), letter to US EPA of 20 March 1984
NTIS/OTS 04840298

Jacobsen, E., Plum, C.M., Milwertz, I.
Experimental anemias with hydroxylamine and their relation to human pernicious anemia
Nord. Med., 3, 2851 - 2858 (1939)

Jain, H.K., Shukla, P.T.
Locus specificity of mutagens in Drosophila
Mutat. Res., 14, 440 - 442 (1972)

Jung, R., Engelhart, G., Herbolt, B., Jäckh, R., Müller, W.
Collaborative study of mutagenicity with Salmonella typhimurium TA102
Mutat. Res., 278, 265 - 270 (1992)

Kao, F.T., Puck, T.T.
Genetics of somatic mammalian cells. IX. Quantitation of mutagenesis by physical and chemical agents
J. Cell. Physiol., 74, 245 - 258 (1969)

Kimball, R.F., Hirsch, B.F.
Tests for the mutagenic action of a number of chemicals on *Haemophilus influenzae* with special emphasis on hydrazine
Mutat. Res., 30, 9 - 20 (1975)

Klinghardt, G.W.
Experimentelle, degenerative Nervenschädigungen durch Verbindungen des Hydrazins und Hydroxylamins
Naturwissenschaften, 48, 381 (1961)

Kruszyna, R., Kruszyna, H., Smith, R.P.
Comparison of hydroxylamine, 4-dimethylaminophenol and nitrite protection against cyanide poisoning in mice
Arch. Toxicol., 49, 191 - 202 (1982)

Kruszyna, R., Kruszyna, H., Doherty, P.A., Smith, R.P.
Hypotensive effects of hydroxylamine in intact anesthetized dogs and cats
Arch. Toxicol., 55, 203 - 205 (1984)

Lewin, L.
Über Hydroxylamin. Ein Beitrag zur Kenntnis der Blutgifte
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 25, 306 - 325 (1889)

Lewis, R.J., sr., Tatken, R.L. (eds.)
Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (1980 ed.)
U.S. Department of Health and Human Services, 913 (1982)
zitiert in: Gross und Smith (1985)

Litton Bionetics, Inc.
Mutagenicity evaluation of hydroxylamine sulfate in the mouse micronucleus test
Bericht, LBI Project No. 21064 (1980)
im Auftrag der Industrial Health Foundation
NTIS/OTS 0290

MacKinney, A.A., Vyas, R.
Effects of 5,5-diphenylhydantoin and related carbamates and hydroxylamines on nucleic acid and protein synthesis of proliferating human lymphocytes
Toxicol. Appl. Pharmacol., 33, 38 - 45 (1975)

Mahna, S.K.
Transfection assay test system: assay of four chemical mutagens
Indian J. Exp. Biol., 22, 338 - 339 (1984)

Makotcenko, V.M., Rutstejn, L.P.
Eine Vergiftung mit Hydroxylaminhydrochlorid (deutsche Übersetzung aus dem Russischen)
Vrach. Delo., 7, 125 - 127 (1974)

Malle, K.G.
Hydroxylamin
in: Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie
4. Aufl., Bd. 13, S. 169 - 172
Verlag Chemie, Weinheim (1977)

Malling, H.V., de Serres, F.J.
Hydroxylamine-induced purple adenine (ad-3) mutants in *Neurospora crassa*. I. Characterization of mutants by genetic tests
Mutat. Res., 12, 35 - 46 (1971)

Marfey, P., Robinson, E.
The genetic toxicology of hydroxylamines
Mutat. Res., 86, 155 - 191 (1981)

McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N.
Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: assay of 300 chemicals
Proc. Natl. Acad. Sci., 72, 5135 - 5139 (1975)

Menevse, S., Kustimur, S., Menevse, A., Ekmekci, A., Ergin, M.
Salmonella tester strain TA104, for the detection of mutagenic and carcinogenic chemicals in our environment
Mikrobiyol. Bült., 18, 99 - 106 (1984)

Microbiological Associates, Bethesda, Maryland
Activity of T1680 in the in vitro mammalian cell transformation assay in the absence of exogenous metabolic activation
unveröffentlichter Bericht, Project No. T1680.108 (1981 a)
im Auftrag der BASF AG

Microbiological Associates, Bethesda, Maryland
Activity of T1680 in the in vitro mammalian cell transformation assay in the presence of exogenous metabolic activation
unveröffentlichter Bericht, Project No. T1680.109 (1981 b)
im Auftrag der BASF AG

Mironescu, S., Burducea, O., Sahnazarov, N.
Nucleolar and mitotic abnormalities produced by thioacetamide and hydroxylamine in monkey kidney cells cultivated in vitro
Exp. Cell Res., 57, 193 - 204 (1969)

Mitchell, I. de G.
A comparison of the sensitivity and specificity of microbial systems for assessing genetic damage
Agents Actions, 4/4, 286 - 294 (1974)

Mitchell, A.D., Rudd, C.J., Caspary, W.J.
Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International
Environ. Mol. Mutagen., 12, Suppl. 13, 37 - 101 (1988)

Müller, W., Engelhart, G., Herbold, B., Jäckh, R., Jung, R.
Evaluation of mutagenicity testing with *Salmonella typhimurium* TA102 in three different laboratories
Environ. Health Perspect., 101, Suppl. 3, 33 - 36 (1993)

Murphy, M.L., Chaube, S.
Preliminary survey of hydroxyurea (NSC-32065) as a teratogen
Cancer Chemother. Rep., 40, 1 - 7 (1964)

Myhr, B.C., Caspary, W.J.
Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at Litton Bionetics, Inc.
Environ. Mol. Mutagen., 12, Suppl. 13, 103 - 194 (1988)

Na, M.R., Koo, S.K., Kim, D.Y., Park, S.D., Rhee, S.K., Kang, K.W., Joe, C.O.
In vitro inhibition of gap junctional intercellular communication by chemical carcinogens
Toxicology, 98, 199 - 206 (1995)

Nakamura, S., Oda, Y., Shimada, T., Oki, I., Sugimoto, K.
SOS-inducing activity of chemical carcinogens and mutagens in *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002: examination with 151 chemicals
Mutat. Res., 192, 239 - 246 (1987)

Nasim, A., Hannan, M.A.
Induction of mutations by chemicals and gamma rays in mutants of yeast refractory to UV-mutagenesis
Can. J. Genet. Cytol., 19, 323 - 330 (1977)

Neubert, D., Kavlock, R.J., Merker, H.J., Klein, J. (eds.)
Risk assessment of prenatally-induced adverse health effects
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (1992)

Neubert, D.
persönliche Mitteilung (1993)

Neunhoffer, O.
Die Metabolisierung des Hydroxylamins und organischer Hydroxylaminverbindungen im Organismus der Tiere
Der Deutsche Apotheker, 4, 192 - 198 (1973)

Oppenheim, J.J., Fishbein, W.N.
Induction of chromosome breaks in cultured normal human leukocytes by potassium arsenite, hydroxyurea and related compounds
Cancer Res., 25, 980 - 985 (1965)

Palmen, N.G.M., Evelo, C.T.A.
Oxidative effects in human erythrocytes caused by some oximes and hydroxylamine
Arch. Toxicol., 72, 270 - 276 (1998)

Parmeggiani, L. (ed.)
Encyclopaedia of occupational health and safety
3rd (revised) ed., vol. 1, p. 1091 - 1092
International Labor Office, Genf (1983)

Parkash, R., Miglani, G.S.
Hydroxylammonium sulphate and maleic hydrazide induced chromosomal aberrations in *Drosophila*
Caryologia, 31, 1 - 5 (1978)

Pekhov, A.P., Reshetnikova, V.N.
Test strains of *Escherichia coli* for the detection of chemical mutagens
Bull. Exp. Biol. Med., 84, 1043 - 1045 (1977)

Pellerat, M., Chabeau, G.
Hydroxylamine et dermatoses professionnelles, 238 - 239
Société Française de Dermatologie et de Syphiligraphie, Réunion de Saint-Etienne, Séance du 11 Octobre 1975

Phillips, R.A., Zahler, S.A., Garro, A.J.
Detection of mutagen-induced lesions in isolated DNA using a new *Bacillus subtilis* transformation-based assay
Mutat. Res., 74, 267 - 281 (1980)

Pienta, R.J.
Evaluation and relevance of the Syrian hamster embryo cell system
in: Williams, G.M. et al. (eds.)
The predictive value of short-term screening tests in carcinogenicity evaluation, 149 - 169
Elsevier/North-Holland Biomedical Press (1980)

Premaratne, S., Mandel, M., Mower, H.F.
Detection of mutagen specific adduct formation in DNA using sequencing methodology
Int. J. Biochem. Cell Biol., 27, 789 - 794 (1995)

Putrament, A., Baranowska, H.
Induction of intragenic mitotic recombination in yeast by hydroxylamine and its mutagenic specificity
Mol. Gen. Genet., 111, 89 - 96 (1971)

Quillardet, P., de Bellecombe, C., Hofnung, M.
The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: validation study with 83 compounds
Mutat. Res., 147, 79 - 95 (1985)

Raimondi, C., Bertoni, G.
Sull' azione tossica dell' idrosilamina
Annali Universali di Med., 259, 97 ff. (1882)
zitiert in: Binz (1888)

Ramaiya, L.K.
The cytogenetic effect of N-nitrosoethylurea, hydroxylamine, and X-rays on the germ cells of male mice
Sov. Genet., 5, 188 - 197 (1969)

Riemann, H.
On the toxicity of hydroxylamine
Acta Pharmacol., 6, 285 - 292 (1950)

Ritz, J., Fuchs, H., Perryman, H.G.
Hydroxylamine
in: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry
5th ed., vol. A13, p. 527 - 532
VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1989)

Rosenkranz, H.S., Poirier, L.A.
Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems
J. Natl. Cancer Inst., 62 (4), 873 - 891 (1979)

Runnegar, M.T.C., Blakeley, R.L., Fernley, R.T., Webb, E.C., Zerner, B.
The system: hydroxylamine-oxygen-cupric ion. A model hydroxylase in the inactivation of ox and pig liver carboxylesterases
Biochem. Biophys. Acta, 167, 632 - 634 (1968)

Sami, M.B.A.
Some important visceral histopathological findings in experimental hydroxylamine hydrochloride toxicosis in female albino rats
J. Egypt. Vet. Med. Assoc., 40, 133 - 141 (1980)

Sandt, van de, J.J.M., Rutten, A.A.J.J.L.
Differential effects of chemical irritants in rabbit and human skin organ cultures
Toxicol. in Vitro, 9, 157 - 168 (1995)

Saul, R.L., Archer, M.C.
Oxidation of ammonia and hydroxylamine to nitrate in the rat
IARC Sci. Publ., 57, 241 - 246 (1984)

Savolainen, H.
Neurochemical effects of ingested hydroxylamine
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 46 (2), 275 - 281 (1984)

Seiler, J.P.
Inhibition of testicular DNA synthesis by chemical mutagens and carcinogens, preliminary results in the validation of a novel short term test
Mutat. Res., 46, 305 - 310 (1977)

Shinder, G., Tourjman, S., Dubow, M.S.
Bacteriophage Mu DNA transposition to identify new classes of genotoxic agents
Drug Chem. Toxicol., 1, 295 - 308 (1984)

Shukla, P.T.
Analysis of mutagen specificity in *Drosophila melanogaster*
Mutat. Res., 16, 363 - 371 (1972)

Shukla, P.T., Auerbach, C.
The delayed mutagenic action of hydroxylamine in *Drosophila*
Mutat. Res., 61, 399 - 400 (1979)

Simmon, V.F.
In vitro assays for recombinogenic activity of chemical carcinogens and related compounds with *Saccharomyces cerevisiae* D3
J. Natl. Cancer Inst., 62 (4), 901 - 909 (1979 a)

Simmon, V.F.
In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with *Salmonella typhimurium*
J. Natl. Cancer Inst., 62 (4), 893 - 899 (1979 b)

Skofitsch, G.
Vom Hund zum Ei? Große und kleine Laboratoriumstiere
in: Lembeck, F. (Hrsg.)
Alternativen zum Tierversuch, S. 71 - 79
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York (1988)

Smith, R.P., Layne, W.R.
A comparison of the lethal effects of nitrite and hydroxylamine in the mouse
J. Pharmacol. Exp. Ther., 165, 30 - 35 (1969)

Sokova, O.I., Kulagina, O.E., Pogosyants, E.E.
A study of the action of gamma rays, hydroxylamine, and urethane on the chromosomes of the Dzungarian hamster in vitro (englische Übersetzung aus dem Russischen)
Sov. Genet., 6, 1593 - 1597 (1970)

Somers, C.E., Hsu, T.C.
Chromosome damage induced by hydroxylamine in mammalian cells
Proc. Natl. Acad. Sci., 48, 937 - 943 (1962)

Soyfer, V.N., Ruhkyan, L.A., Titov, Y.B.
Mutagenesis of synchronous populations of *Escherichia coli* with normal and defective repair enzymes caused by the action of hydroxylamine
Mikrobiologiya, 45, 151 - 156 (1976)

Speit, G., Wick, C., Wolf, M.
Induction of sister chromatid exchanges by hydroxylamine, hydrazine and isoniazid and their inhibition by cysteine
Hum. Genet., 54, 155 - 158 (1980)

Spooren, A.A.M.G., Evelo, C.T.A.
In vitro haematotoxic effects of three methylated hydroxylamines
Arch. Toxicol., 71, 299 - 305 (1997)

Stenbäck, F., Weisburger, J.H., Williams, G.M.
Hydroxylamine effects on cryptogenic neoplasm development in C3H mice
Cancer Lett., 38, 73 - 85 (1987)

Stoll, R., Bodit, F., Maraud, R.
Sur l'action tératogène de l'hydrazine et de substances voisines chez l'embryon de poulet
C. R. Soc. Biol. (Bordeaux), 161, 1680 - 1684 (1967 a)

Stoll, R., Bodit, F., Maraud, R.
Sur l'action de divers antimétabolites apparentés à l'hydroxyurée et à la semicarbazide chez l'embryon de poulet
C. R. Soc. Biol. (Bordeaux), 161, 1963 - 1967 (1967 b)

Stolze, K., Dadak, A., Liu, Y., Nohl, H.
Hydroxylamine and phenol-induced formation of methemoglobin and free radical intermediates in erythrocytes
Biochem. Pharmacol., 52, 1821 - 1829 (1996)

Sweet, D.M., Moseley, B.E.B.
The resistance of *Micrococcus radiodurans* to killing and mutation by agents which damage DNA
Mutat. Res., 34, 175 - 186 (1976)

Taylor, W.D., Mudgett, J.S., Bonneau, R., Wilt, S., Kroekel, N., Brontz, P.C., Heicklen, J.
Toxic and mutagenic effects on bacteria and mammalian cells of hydroxylamines: hydroxylamine, methylhydroxylamine, methoxyamine, dimethylhydroxylamine, isopropylhydroxylamine, and diethylhydroxylamine
Environ. Mutagen., 7, Suppl. 3, 86 (1985)

Tessman, I., Ishiwa, H., Kumar, S.
Mutagenic effects of hydroxylamine in vivo
Science, 148, 507 - 508 (1965)

Traul, K.A., Takayama, K., Kachevsky, V., Hink, R.J., Wolff, J.S.
A rapid in vitro assay for carcinogenicity of chemical substances in mammalian cells utilizing an attachment-independence endpoint
J. Appl. Toxicol., 1, 190 - 195 (1981)

U.S. Army Environmental Hygiene Agency
Health hazard evaluation of liquid monopropellants. Phase 2. Effects of dermal administration of hydroxylammonium nitrate
Bericht, Special Study No. 75-51-0132-82 (1982)
AD A118415

Valdigué, P., Douste-Blazy, L., Castro, J., Dousset, J.C.
Sur les mécanismes biochimiques de l'intoxication par l'hydroxylamine
Ann. Biol. Clin., 23, 25 - 35 (1965)

VCI (Verband der chemischen Industrie)
VCI-Altstoffliste
Chemische Industrie, Sonderdruck aus Heft 4 (1988)

Vijaykumar, N.K., Jain, H.K.
Comparative studies on induced mutations with physical & chemical mutagens in *Drosophila melanogaster*: part I. Specificity & spectrum of mutations
Indian J. Exp. Biol., 17, 61 - 65 (1979)

Volgareva, G.M.
Study of the damaging action of two chemical contaminants of vaccines on chromosomes, carried out in mice (russisch mit englischem Abstract)
Zurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, Immunobiologii, Heft 4, 41 - 45 (1991)

Wang, C.Y.
Mutagenicity of hydroxamic acids for *Salmonella typhimurium*
Mutat. Res., 56, 7 - 12 (1977)

Williams, G.M., Laspia, M.F., Dunkel, V.C.
Reliability of the hepatocyte primary culture/DNA repair test in testing of coded carcinogens and noncarcinogens
Mutat. Res., 97, 359 - 370 (1982)

Winter, A.J., Hokanson, J.F.
Effects of long-term feeding of nitrate, nitrite, or hydroxylamine on pregnant dairy heifers
Am. J. Vet. Res., 25, 353 - 361 (1964)

Yamafuji, K.
Metabolic virogens having mutagenic action and chromosomal previruses
Enzymologia, 27, 217 - 274 (1964)

Yamamoto, R.S., Weisburger, E.K., Korzis, J.
Chronic administration of hydroxylamine and derivatives in mice
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 124, 1217 - 1220 (1967)

Yanagisawa, K., Nishio, K., Gotoh, S.
Screening for carcinogens by the DNA synthesis inhibition test using human fibroblasts
Mutat. Res., 183, 89 - 94 (1987)

Yoshikawa, S., Orii, Y.
The inhibition mechanism of the cytochrome oxidase reaction
I. Inhibition by hydroxylamine
J. Biochem., 68, 145 - 156 (1970)

Young, C.W., Hodas, S.
Hydroxyurea: inhibitory effect on DNA metabolism
Science, 146, 1172 - 1174 (1964)

Zachariah, P.K., Lee, Q.P., Symms, K.G., Juchau, M.R.
Further studies on the properties of human placental microsomal cytochrome P-450
Biochem. Pharmacol., 25, 793 - 800 (1976)

Zeiger, E., Anderson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K.
Salmonella mutagenicity tests: V. Results from the testing of 311 chemicals
Environ. Mol. Mutagen., 19, Suppl. 21, 2 - 141 (1992)

Zimmermann, W., Gottschewski, G.H.M.
Die Wirkung bestimmter Substanzen auf die DNS- und Proteinsynthese in der frühen Embryonalentwicklung des Kaninchens
Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss., 22, 166 - 183 (1966)