

3

Mutagénicité, génotoxicité et cancérogénicité expérimentales

En 1999, lors de la première expertise collective de l'Inserm sur les éthers de glycol, les dérivés de l'éthylène glycol apparaissaient quasiment comme les seuls éthers de glycol dont la génotoxicité avait été étudiée. Peu d'informations étaient disponibles sur les dérivés autres que le méthyl, l'éthyl et le butyl glycol et leurs métabolites. Les données manquaient également pour juger de la toxicité des éthers du propylène glycol présentés comme produits de remplacement des solvants maintenant réglementés ; en particulier, les études de cancérogénicité faisaient défaut. S'agissant de substances anciennes notifiées avant 1981, aucun essai n'était requis pour la mise sur le marché de ces substances.

L'évaluation rétrospective des substances anciennes, notamment celles produites à fort tonnage, a été engagée récemment par le Bureau européen des substances chimiques (*European chemicals bureau*) et l'OCDE, avec la participation de l'ensemble des pays européens. Des informations ont été apportées par les firmes productrices de ces substances en vue de leur classification ou de l'évaluation des risques pour l'homme et l'environnement.

Les données de génotoxicité produites lors de ces évaluations sont synthétisées en première partie du document. La génotoxicité de l'EGME, l'EGEE, l'EGBE et de leurs métabolites sera rappelée succinctement et ne sera réexaminée qu'au travers des études récentes complétant les connaissances antérieures.

L'analyse portera en deuxième partie sur les résultats des études de cancérogénèse chez l'animal. Les études relatives à l'EGBE et au PGtBE ont été réalisées par le *National Toxicology Programme* (NTP), et celles relatives au 2PG1ME ont été obtenues par la firme *Dow Chemical*.

Génotoxicité des éthers de l'éthylène et du propylène glycol

En 1999, des données de génotoxicité concernaient les éthers de l'éthylène glycol (EGME, EGEE, EGBE) et leurs métabolites. Ces éthers de glycol ne sont pas intrinsèquement mutagènes sur les systèmes cellulaires, bactéries ou

cellules de mammifères, utilisés classiquement dans les essais standardisés. Ils induisent cependant des effets d'aneuploïdie, la formation de micronoyaux *in vitro* et les échanges entre chromatides sœurs, et interfèrent avec les systèmes d'agrégation de la tubuline. Des effets d'inhibition des communications entre cellules ont été notés, à concentration élevée toutefois. *In vivo* chez la souris, les essais du micronoyau sont restés négatifs (Inserm, 1999).

La toxicité des éthers de l'éthylène glycol apparaît liée à leurs métabolites, aldéhydes intermédiaires et acides, formés par la voie de l'alcool- et de l'aldéhyde déshydrogénase. Ces métabolites sont responsables d'effets clastogènes (cassures) et d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères ; ils agissent à des concentrations plus faibles que les molécules parentes. Les dérivés aldéhydiques agissent à des concentrations inférieures à 1 mM, les métabolites acides à des concentrations comprises entre 1 et 10 mM, alors que les concentrations effectives des produits parents se situent au-delà de 10 mM, notamment pour l'EGME et l'EGEE (50-100 mM). L'EGBE s'est révélé plus actif *in vitro* que l'EGME et l'EGEE, pouvant agir à partir de concentrations de 10 mM.

Les dérivés du propylène glycol avaient fait l'objet de peu d'études en 1999. Cependant, du fait d'une métabolisation s'opérant majoritairement par déalkylation sans production des intermédiaires réactifs des dérivés de l'éthylène glycol, il était avancé que les éthers du propylène glycol devaient être dépourvus des effets de génotoxicité imputés à ces métabolites.

Les essais *in vitro* utilisés pour évaluer les éthers de glycol complétant la liste des substances analysées en 1999 sont ceux classiquement mis en œuvre dans les méthodes normalisées pour l'évaluation des substances chimiques :

- essais de mutagenicité utilisant : les mutants bactériens, *Salmonella typhimurium* his⁻ (Maron et Ames, 1983) et accessoirement *E. coli* ; les lignées de cellules de mammifères (cellules ovariennes de hamster chinois CHO, cellules pulmonaires de hamster chinois CHL ou V79, mutées au locus⁴ hprt⁻) ; les cellules de lymphome de souris L5178Y⁵ tk^{+/-} utilisées dans l'essai MLA (*mouse lymphoma assay*) ;
- essais de cytogénétique et mesure des aberrations chromosomiques à l'aide de cellules de mammifères CHO ou de lymphocytes humains ;
- essai UDS⁶ mesurant la synthèse non programmée d'ADN associée à la réparation des lésions structurales des molécules d'ADN ;
- essai visualisant les échanges entre chromatides sœurs (SCE), lesquels témoignent de l'exposition à des substances génotoxiques ;

4. Hypoxanthine phosphoribosyl transférase : la réversion du caractère muté permet la conversion de la purine 6-thioguanine (6-TG) en son nucléoside-5-monophosphate létal pour la cellule, alors que la déficience enzymatique permettait la survie des cellules cultivées en présence de 6-TG.

5. L'inactivation ou la perte complète (tk^{-/-}) de l'activité thymidine kinase induit la résistance des cellules mutées à la trifluorothymidine qui ne pourra pas être toxifiée par phosphorylation.

6. « *Unscheduled DNA synthesis* » : synthèse d'ADN non programmée, car s'effectuant en dehors de la phase S du cycle cellulaire.

- essais des micronoyaux détectant des effets clastogènes ou des altérations du fuseau mitotique lors de la division cellulaire...

Les essais de génotoxicité à court terme *in vivo* mesurent soit la formation de micronoyaux dans la moelle osseuse hématopoïétique, soit des aberrations chromosomiques.

Beaucoup plus rares sont les essais de transformation cellulaire détectant les modifications morphologiques accompagnant la transformation néoplasique des cellules embryonnaires, normales et diploïdes de hamster syrien (SHE). En effet, ces essais ne sont pas requis réglementairement.

L'analyse des données de mutagénicité ou de génotoxicité nouvellement portées à notre connaissance montre que la plupart des essais de mutagénicité et de génotoxicité sont restés négatifs, à quelques exceptions près (tableau 3.1).

Ce qui confirme :

- pour les dérivés de l'éthylène glycol, des caractéristiques proches de l'EGME, l'EGEE et l'EGBE ;
- un profil de réponse des éthers du propylène glycol, analogue à celui des éthers de l'éthylène glycol pour les essais classiques de génotoxicité effectués.

En fait, peu d'essais ont été réalisés pour juger des effets d'aneuploïdie, d'inhibition des communications intercellulaires et d'échanges de chromatides sœurs qui avaient pu donner des réponses positives avec les dérivés du méthyl, de l'éthyl glycol et de certains de leurs métabolites.

Les réponses positives enregistrées avec les éthers de l'éthylène glycol concernent les dérivés suivants :

- DEGDME : une réduction de l'implantation des embryons a été observée au niveau utérin dans l'essai *in vivo* du dominant léthal ; cet effet serait lié à la diminution de la fertilité provoquée par la substance, et non à des dommages génétiques au niveau des gamètes ;
- EGBE : confirmation des résultats négatifs obtenus par Elias et coll. (1996) avec les essais d'aberrations chromosomiques *in vitro*, l'essai du micronoyau *in vivo* chez le rat et la souris (NTP, 2000), et l'essai de transformation cellulaire sur les cellules SHE (Park et coll., 2002a) ;
- DEGBE : caractère mutagène à doses fortes (~ 10 µl/ml) dans le test MLA (*mouse lymphoma assay*) et le test CHO (5 mg/ml) (Inserm, 1999) ;
- DEGHE : caractère mutagène sur cellules CHO/HPRT⁻ et clastogène *in vivo* chez la souris.

Les éthers du propylène glycol ayant donné des réponses positives sont les suivants :

- 2PG1ME : induction des échanges entre chromatides sœurs (30 mM) et inhibition de la coopération métabolique traduisant l'inhibition des communications intercellulaires (résultats analogues aux éthers de l'éthylène glycol et obtenus avec des concentrations molaires du même ordre) ;

- 2PG1tBE : caractère mutagène exclusivement sur la souche TA97a de *S. typhimurium* his⁻, une analogie avec l'EGBE (Hoflack et coll., 1995) rapportée dans le rapport NTP (2004) ; réponse positive de l'essai du micronoyau chez les souris femelles exposées par inhalation à 1 200 ppm pendant 3 mois et non chez les souris mâles (NTP, 2004) ;
- DPGnBE : inhibition de la coopération métabolique à 11 mM (Elias et coll., 1996) ;
- 2PG1PhE : positivité des deux essais du micronoyau chez la souris, par inhalation et par gavage. Dans ce deuxième essai, les auteurs rendent l'hypothermie responsable de la formation de micronoyaux chez les souris traitées à la dose de 2 000 mg/kg de poids corporel (OCDE, 2004a).

Des études complémentaires d'ordre mécanistique ont été conduites avec l'EGME afin d'étudier :

- la relation mutagenèse-tératogénèse de l'EGME sur le modèle de la drosophile. Eisses (1999) a mis en évidence les effets mutagènes et tératogènes de l'EGME à 60 mM, les caractères mutagène du MALD et tératogène du MAA ;
- les mécanismes de l'action tératogène du MAA : Ruyani et coll. (2003) ont identifié la répression de la protéine de liaison de la laminine (p40) chez le fœtus de souris ;
- les effets apoptotiques de l'EGME et de ses métabolites : *in vitro*, des effets apoptotiques de l'EGME, du MALD et du MAA sur les cellules sanguines humaines à 5 mM (Ju et coll., 1998), ainsi que des effets de l'EGME et du MALD sur les cellules de moelle osseuse d'origine humaine et sur les cellules HL60, dans la gamme 2-6 mM (Tagaki et coll., 2002) ; *in vivo*, sur des embryons de souris (Ambroso et coll., 1998). Ces résultats confirmaient les effets apoptotiques du MAA sur les cellules germinales des souris mâles précédemment démontrés par Krishnamurthy et coll. (1998) ; les mécanismes d'action apoptotique du MAA, notamment l'induction de l'expression de *bax* et *bak* pro-apoptotiques (Yan et coll., 2000) ;
- les effets cytogénétiques de l'EGME chez des sujets ayant été exposés *in utero* (cassures de l'ADN, polyploidie...) alors qu'aucune anomalie n'était enregistrée chez les sujets non exposés pendant la gestation (El Zein et coll., 2002).

Les études mécanistiques sur l'EGBE ont eu pour objet d'étudier la relation entre le stress oxydatif et le potentiel cancérigène de la substance. Un stress oxydant chez les souris mâles et femelles traitées par l'EGBE a été mis en évidence par Kamendulis et coll. (1999) ; la sensibilité des souris mâles B6C3F1 aux effets oxydants a été montrée supérieure à celle des rats mâles F344 *in vivo* (Siesky et coll., 2002) et l'a été aussi *in vitro* sur hépatocytes (Park et coll., 2002b). *In vitro*, Park et coll. (2002b) ont montré que le sulfate ferreux induisait la transformation morphologique des cellules SHE, contrairement à l'EGBE et son métabolite acide (BAA). L'implication d'un stress oxydant dans les effets transformants est supportée par les effets protecteurs des antioxydants, comme la vitamine E et un dérivé de l'acide gallique, lesquels inhibent la transformation cellulaire et les dommages à l'ADN.

Ces résultats seront utilisés pour étayer l'hypothèse selon laquelle le fer libéré suite aux effets hémolytiques du BAA est à l'origine d'un stress oxydatif pouvant expliquer les effets cancérogènes enregistrés au niveau hépatique lors des expérimentations à long terme chez la souris mâle.

Sur un plan technique, Dartsch et coll. (1999) ont montré que l'EGBE pouvait être oxydé en son dérivé aldéhydique (le BALD) lors du stockage ; ce dérivé pourrait être responsable en partie des effets cytotoxiques de l'EGBE lors des essais *in vitro*. Ces résultats permettraient d'alimenter la thèse selon laquelle les effets mutagènes de l'EGBE sur la souche TA97a de *S. typhimurium* en l'absence d'activation métabolique (Hoflack et coll., 1995) seraient liés à des impuretés d'oxydation. Le BALD n'avait cependant pas d'effet mutagène sur la souche TA97a (Hoflack et coll., 1995). La pureté des solutions d'EGBE testées n'avait pas été vérifiée par ces derniers auteurs, l'EGBE utilisé présentant un taux de pureté supérieur à 99 %. La mutagénicité de l'EGBE n'a pas été retrouvée par Gollapudi et coll. (1996) qui avaient procédé en revanche à la vérification. Si des impuretés sont à l'origine du caractère mutagène de l'EGBE – ce qui n'est pas prouvé –, il pourrait être justifié de prendre en compte ce risque génotoxique avec les formulations commerciales de cet éther de glycol dont le degré de pureté est variable et incontrôlé en fonction des conditions de stockage.

Cancérogénicité de l'EGBE et de deux dérivés du propylène glycol (PGtBE et PGME)

Les données de cancérogénicité dans l'expertise collective de 1999 portaient sur deux éthers de glycol, l'EGEE et l'EGBE. Pour l'EGEE, la génotoxicité *in vitro* avait été démontrée mais la conclusion des études de cancérogénicité chez l'animal était que cet éther de glycol ne présentait pas de potentialité cancérogène, contrairement à l'EGBE. Depuis 1999, des données nouvelles issues d'études expérimentales concernent les effets cancérogènes de l'EGBE et de certains dérivés du propylène glycol (tableau 3.II).

EGBE

Les études de cancérogénicité de l'EGBE, réalisées par le *National Toxicology Program* (NTP), ont été publiées en 2000 et ont fait l'objet d'amples discussions au niveau international (Gift, 2005). La France était rapporteur de l'évaluation des risques de cette substance pour l'Union européenne (ECB, 2004a).

Les expérimentations à long terme ont été réalisées par inhalation journalière, 5 jours par semaine pendant 2 ans ; les concentrations atmosphériques d'EGBE étaient de 31, 62, et 125 ppm chez le rat F344/N, et de 62, 125 et 250 ppm (concentrations doublées) chez la souris B6C3F1.

Chez le rat, aucun effet néoplasique n'a été mis en évidence, mais une augmentation de l'incidence des phéochromocytomes a été observée chez les femelles. Ces tumeurs de la médullosurrénale sécrétant des substances hypertensives développées aux dépens des cellules chromaffines sont habituellement bénignes ; cependant, une tumeur maligne a été trouvée dans le groupe des femelles exposées à 125 ppm d'EGBE. L'apparition de phéochromocytomes chez le rat femelle a été jugée équivoque, comme l'exprime la conclusion du NTP (tableau 3.II).

D'autres effets non néoplasiques ont été observés chez le rat et la souris, comme la pigmentation des cellules de Kupffer par les dépôts d'hémossidérine, à mettre au compte des effets hémolytiques du BAA, métabolite acide de l'EGBE.

Chez la souris, des effets néoplasiques ont été observés : carcinomes hépatocellulaires et hémangiosarcomes⁷ chez la souris mâle, papillomes et carcinomes de l'estomac antérieur chez la souris femelle. Ces résultats expliquent la conclusion « *some evidence* » du NTP.

Hémangiosarcomes

Les hémangiosarcomes ne peuvent être imputés à l'infection par *Helicobacter hepaticus*, qui n'a pas été trouvée chez les animaux exposés.

L'hypothèse mécanistique expliquant les effets cancérigènes de l'EGBE au niveau hépatique chez la souris repose sur l'activation des cellules de Kupffer et les dommages oxydatifs consécutifs à l'hémolyse.

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) proviendrait de l'activation des cellules de Kupffer et serait catalysée par le fer libéré lors de l'hémolyse (Boatman et coll., 2004). Les ROS, qui fonctionneraient comme des signaux de transduction, et les cytokines produites par les cellules de Kupffer seraient à l'origine de la prolifération des deux cibles cellulaires de l'EGBE, les cellules endothéliales hépatiques et les hépatocytes (Klaunig et Kamendulis, 2005).

De sorte que si l'on accepte l'hypothèse selon laquelle l'hémolyse est responsable des hémangiosarcomes observés chez la souris, l'homme ne devrait pas être une espèce sensible. La sensibilité des hématies humaines aux effets hémolytiques de l'EGBE est nettement moindre que celle des rongeurs (de deux ordres de magnitude). Cette argumentation présente cependant quelques faiblesses.

L'hypothèse mécanistique des effets cancérigènes par un stress oxydatif n'explique pas les spécificités de réponse liées à l'espèce (souris) et au sexe (mâle). En effet, comment expliquer l'absence de sarcomes chez le rat malgré les dépôts d'hémossidérine observés au niveau hépatique. Green et coll.

7. Les hémangiosarcomes sont des tumeurs vasculaires, c'est-à-dire des tumeurs des cellules endothéliales des vaisseaux.

(2002) ont fait l'hypothèse que les différences rat/souris s'expliquent par les concentrations d'exposition des rats à l'EGBE plus faibles que la souris (concentration maximale de 125 ppm chez le rat et 250 ppm chez la souris). Cependant, des effets oxydatifs sont observés aussi chez le rat. Comment expliquer également l'absence d'effets chez la souris femelle, alors que les dépôts d'hémosidérine sont observés aussi dans les cellules de Kupffer ? Sur ce point, l'hypothèse de capacités antioxydantes de la femelle supérieures à celles du mâle a été avancée sur la base des travaux de Kamendulis et coll. (1999) et Siesky et coll. (2002) évoqués précédemment.

Cependant, les dépôts d'hémosidérine n'ont pas été trouvés dans les cellules endothéliales dont dérivent les hémangiosarcomes chez la souris, mais dans les cellules de Kupffer. Par ailleurs, la pigmentation des cellules de Kupffer était peu sévère et n'a pas été observée dans l'un des animaux atteints d'hémangiosarcome au niveau hépatique.

L'analyse rétrospective des résultats de l'ensemble des études de cancérogénicité d'agents chimiques du NTP et du NCI (*National Cancer Institute*) montre une coïncidence très faible entre les dépôts d'hémosidérine et l'apparition d'hémangiosarcomes. Il y a en effet peu de cancérogènes non génotoxiques pour lesquels il a été trouvé une association entre hémosidérose et hémangiosarcomes. Les résultats sont discutés dans le rapport européen de l'évaluation des risques sur l'EGBE (ECB, 2004a). Six substances induisent le dépôt d'hémosidérine (mais pas nécessairement dans le foie) ou la pigmentation des cellules de Kupffer lors d'expérimentations sur 2 ans⁸, ainsi que des hémangiosarcomes chez la souris mâle, et non chez la femelle. Les dépôts persistants d'hémosidérine sont associés à une hémolyse pour seulement trois de ces substances, dont l'EGBE (Fastier et coll., 2005). Ceci signifie que les hémangiosarcomes associés au dépôt d'hémosidérine peuvent avoir d'autres causes que l'hémolyse.

Après administration d'EGBE, il a été montré par le test des comètes que la production d'espèces réactives de l'oxygène susceptibles d'endommager l'ADN pouvait avoir lieu dans d'autres tissus. Ce mécanisme de toxicité n'est donc pas spécifique aux cellules de Kupffer (Klaunig et Kamendulis, 2005) mais constitue un facteur de cancérogénèse pouvant affecter d'autres cibles tissulaires que le foie.

Carcinomes de l'estomac

L'hypothèse plausible suggérée pour le développement des carcinomes de l'estomac antérieur des souris femelles dans le groupe exposé à 250 ppm d'EGBE invoque l'adsorption de l'EGBE sur la fourrure des rongeurs et l'effet

8. EGBE, p-chloroaniline, o-nitroanisole, pentachloroanisole, C.I. pigment rouge, et chlorhydrate de 3,2,4-diaminophénol.

« grooming » des femelles qui, se léchant, ingèrent l'EGBE (Green et coll., 2002).

Il faut ajouter cependant que l'administration de la substance par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée (Poët et coll., 2003) aboutit aussi à des lésions de l'estomac antérieur.

De sorte que l'exposition de la muqueuse de l'estomac antérieur à l'EGBE résulterait de plusieurs processus : ingestion de la fraction déposée sur le pelage, excrétion salivaire, remontée jusqu'au carrefour digestif par l'ascenseur mucociliaire, puis déglutition de l'EGBE déposé dans l'arbre respiratoire. Le taux élevé d'alcool déshydrogénase et d'aldéhyde déshydrogénase dans l'estomac, plus riche dans la partie antérieure de l'estomac que dans la partie glandulaire, expliquerait la formation des métabolites réactifs responsables des effets de cytotoxicité. Les effets néoplasiques (papillomes et carcinomes) seraient associés à des dommages persistants résultant d'un cycle continu de lésions suivies de réparation et régénération aboutissant à l'hyperplasie permanente.

La plus grande sensibilité des souris aux effets cancérigènes gastriques de l'EGBE pourrait être liée à une plus grande activité de l'alcool déshydrogénase gastrique chez cette espèce par rapport au rat. L'activité de l'aldéhyde déshydrogénase, équivalente chez ces deux espèces, impliquerait qu'à dose égale, la production de BAA et surtout de BALD soit plus élevée chez la souris que chez le rat. Cependant, les concentrations de BAA et de BALD n'ont pas été comparées *in vivo* chez la souris et chez le rat.

Chez la souris, la plus grande sensibilité des femelles n'a probablement pas d'explication d'origine métabolique. En effet, chez la souris femelle, les concentrations sanguines en BAA ne sont pas supérieures à celles relevées chez la souris mâle (NTP, 2000). Les travaux d'Aasmoe et Aarbakke (1999) ont d'ailleurs montré que l'activité de l'alcool déshydrogénase gastrique du rat femelle est inférieure à celle du mâle et que les éthers de glycol sont de piètres substrats de l'enzyme. Green et coll. (2002) confirment que la transformation de l'alcool en aldéhyde serait l'étape limitante de la biotransformation de l'EGBE au niveau gastrique et que la répartition des enzymes serait plus dense dans l'estomac antérieur que dans la partie glandulaire chez la souris femelle. Mais aucun commentaire n'est donné concernant des différences entre sexe pouvant expliquer les lésions cancérigènes chez la souris femelle et non chez la souris mâle. Deisinger et Boatman (2004) ont trouvé des concentrations en BALD dans l'estomac antérieur de souris légèrement plus élevées chez la femelle que chez le mâle ; il est dommage que la comparaison entre la partie antérieure et la partie glandulaire de l'estomac chez le mâle n'ait pas été entreprise par Deisinger et Boatman (2004).

Les effets au niveau gastrique n'ont pas été considérés comme appropriés pour l'évaluation des risques pour l'homme (Gift, 2005).

En conclusion des données sur l'EGBE, les incertitudes quant à la validité des hypothèses mécanistiques posées, lesquelles restent à vérifier, justifient

la conclusion de l'US-EPA (*US-Environmental Protection Agency*) selon laquelle « la cancérogénicité de l'EGBE pour l'homme ne peut être déterminée actuellement » (Gift, 2005). Pour le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), l'EGBE appartient au groupe 3 (voir annexes 5 et 6) des agents inclassables : ceux dont la cancérogénicité pour l'espèce humaine ne peut être évaluée, du fait de preuves limitées chez l'animal et de l'absence de données chez l'homme. Quant à l'Union européenne, elle a considéré qu'il n'y avait pas de preuves à ce jour de la cancérogénicité pour l'homme de cette substance (non classée).

PGtBE

Les études de cancérogénicité pour le PGtBE (degré de pureté supérieur à 99 %), réalisées par le NTP, ont été publiées en 2004 et les résultats synthétisés par Doi et coll. (2004).

Les expérimentations à long terme ont été réalisées par inhalation journalière, 5 jours par semaine et pendant 2 ans ; les concentrations atmosphériques de PGtBE étaient de 75, 300 et 1 200 ppm chez le rat F344/N et la souris B6C3F1.

Effets chez le rat

Chez le rat, les effets non néoplasiques enregistrés concernent les effets rénaux caractérisés par l'hyperplasie tubulaire corticale et la néphropathie chronique. Ces effets ont été relevés chez le mâle pour lequel l'incidence croît avec les concentrations d'exposition au PGtBE, et chez la femelle pour laquelle les effets se manifestent à 1 200 ppm. La néphropathie observée chez les femelles à 1 200 ppm indique un mécanisme de toxicité rénale indépendant de l'accumulation d' α 2micro-globuline⁹. Il apparaît donc que le PGtBE, même s'il possède une structure chimique pouvant entraîner une

9. L' α 2micro-globuline est synthétisée majoritairement par le foie, principalement sous le contrôle des androgènes, sécrétée dans le sang puis filtrée au niveau du glomérule rénal. 60 % de la protéine est réabsorbée au niveau des cellules tubulaires par endocytose, puis lentement hydrolysée par phagocytose. Certaines substances chimiques en se liant à l' α 2micro-globuline diminuent le taux de dégradation de la protéine et favorisent son accumulation. L'accumulation conduit à un dysfonctionnement lysosomal, initiant un cycle de cytotoxicité, mort cellulaire, et une augmentation compensatrice de la prolifération cellulaire, dont la chronicité conduit à la promotion de lésions néoplasiques (Swenberg et coll., 1989 ; Borghoff et coll., 1990). Il a été suggéré également que l' α 2micro-globuline serait un vecteur de substance toxique ou protoxique dont l'augmentation des concentrations au niveau du tubule proximal expliquerait la néphrotoxicité (Melnick, 1992). Les substances responsables d'une néphropathie dépendante de l' α 2micro-globuline ont des structures diverses, mais contiennent un atome d'oxygène fonctionnel et un carbone tertiaire. Les composés qui induisent des tumeurs rénales via l'accumulation d' α 2micro-globuline sont essentiellement des cancérogènes non génotoxiques.

néphropathie associée à l' α 2micro-globuline, induit des lésions rénales indépendamment de ce mécanisme ; ainsi, le PGtBE se différencie du PGME.

Des adénomes et des carcinomes tubulaires rénaux ont été identifiés chez les animaux mâles exposés avec une incidence supérieure aux témoins historiques, mais non significativement différente des contrôles expérimentaux.

Au niveau du foie, il a été noté : des foyers d'hépatocytes basophiles, suspectés d'être préneoplasiques ; une augmentation dose-dépendante de l'incidence d'adénomes hépatocellulaires chez les mâles et chez les femelles à 1 200 ppm (incidence supérieure à celle des témoins historiques, mais non statistiquement significative par rapport aux contrôles expérimentaux) ; un cas de cholangiocarcinome, tumeur très rare chez le rat.

Le NTP a conclu à une activité cancérigène incertaine (*equivocal*) du PGtBE chez le rat mâle, sur la base de l'augmentation de l'incidence des néoplasmes rénaux et hépatiques marginaux, et à une activité cancérigène non évidente chez le rat femelle.

Effets chez la souris

Chez la souris, les effets néoplasiques concernent les adénomes et carcinomes hépatocellulaires, et les hépatoblastomes observés chez le mâle et la femelle, avec une incidence supérieure chez la souris mâle. La néphropathie chronique a été observée, comme chez le rat, mais sans néoplasme.

Des lésions non néoplasiques, de type dégénérescence de l'épithélium olfactif et oculaire, ont été enregistrées, mais elles seraient la conséquence d'irritations.

Le NTP a conclu à une activité cancérigène évidente du PGtBE chez les souris mâle et femelle sur la base de l'augmentation de l'incidence des néoplasmes hépatiques.

En conclusion de l'ensemble de ces résultats sur la cancérigénicité du PGtBE, il ressort que le foie est l'organe cible de cette substance chez la souris. Les effets mutagènes observés par le test d'Ames (souche TA97 exclusivement et sans activation métabolique) et l'augmentation du taux des micronoyaux à 1 200 ppm chez la femelle laisseraient suspecter un potentiel génotoxique. Cependant, au vu de l'ensemble des résultats de génotoxicité (tableau 3.I), le PGtBE est considéré comme présentant un profil de substance cancérigène non génotoxique.

Selon le CIRC, le PGtBE est classé dans le groupe 3 (ne peut pas être classé quant à sa cancérigénicité pour l'homme ; voir annexes 5 et 6), sur la base d'une preuve limitée chez l'animal en expérimentation et insuffisante chez l'homme (CIRC, 2004).

PGME

Les études de cancérigénicité du PGME (97,5 % de 2PG1ME et 2,5 % de 1PG2ME) réalisées par la société *Dow Chemical* ont été publiées en 1998

(Cieszlak et coll., 1998) et les résultats synthétisés par Spencer et coll. (2002).

Les expérimentations à long terme ont été réalisées par inhalation journalière, 5 jours par semaine et pendant 2 ans ; les concentrations atmosphériques de PGME étaient de 300, 1 000 et 3 000 ppm chez le rat F344/N et la souris B6C3F1.

Chez le rat mâle, une augmentation non significative d'adénomes hépatocellulaires et une élévation de l'incidence de tumeurs rénales épithéliales ont été observées. Les effets rénaux sont jugés non pertinents au regard de l'évaluation des risques pour l'homme, étant considérés associés à la néphropathie consécutive à l'accumulation d' α 2micro-globuline. Les auteurs définissent une concentration NOEL (*no-observed effect level*) de 300 ppm chez le rat sur la base des foyers de transformation cellulaires au niveau hépatique chez le mâle, et une concentration NOAEL (*no-observed-adverse-effect level*) de 1 000 ppm chez la souris sur la base de l'atrophie médullosurrénalienne chez la femelle (Spencer et coll., 2002).

Les auteurs concluent à l'absence d'effet cancérogène extrapolable à l'homme, suite à l'exposition au PGME.

En conclusion, les essais classiques de mutagénicité et de génotoxicité effectués sur les éthers de l'éthylène glycol – autres que les dérivés de l'EGME, et de l'EGEE et leurs métabolites – et les éthers du propylène glycol, sont généralement négatifs.

Les essais relatifs à l'inhibition des communications intercellulaires, aux échanges de chromatides sœurs ou aux effets aneuploïdogènes qui auraient permis une évaluation comparative plus fine de l'ensemble des substances, n'ont cependant pas été réalisés de manière systématique. Lorsque ces essais ont été entrepris, des résultats positifs ont pu être enregistrés, avec des éthers de l'éthylène glycol comme avec certains de ceux du propylène glycol. Ce qui indiquerait un profil de réponse proche des deux séries.

Les essais de cancérogénicité effectués sur l'EGBE pour la série éthylénique, et sur le PGtBE et le PGME pour la série propylénique, ont révélé leur potentiel cancérogène chez l'animal, souris ou rat, avec des différences inter-espèces, voire inter-sexes, caractéristiques des cancérogènes épigénétiques. Malgré quelques résultats positifs de génotoxicité, ces substances peuvent être considérées comme des cancérogènes non génotoxiques et promoteurs de tumeurs chez l'animal.

L'hypothèse avancée pour expliquer les hémangiosarcomes hépatiques observés lors de l'exposition à l'EGBE est celle de l'hémolyse et d'un stress oxydatif. Cette hypothèse a été retenue par le CIRC qui n'a pas classé la substance cancérogène pour l'homme, du fait de la sensibilité humaine plus

faible aux effets hémolytiques de l'EGBE. Il reste cependant des incertitudes quant au mécanisme de l'hépatocarcinogénèse de l'EGBE chez la souris.

L'autre mécanisme de carcinogénèse invoqué pour l'EGBE, comme pour le PGtBE, est celui de lésions tissulaires résultant de la cytotoxicité de la substance et/ou de ses métabolites. Les lésions initient un cycle de dégénérescence cellulaire suivie de régénération et de prolifération compensatrice. L'hyperplasie permanente qui résulte d'une exposition prolongée peut être à l'origine de la néoplasie.

Les données scientifiques concernant les effets de l'EGBE conduisent à l'adoption de positions nuancées par les trois grandes agences d'évaluation (US-EPA, CIRC et UE). Selon l'US-EPA, la carcinogénicité de l'EGBE pour l'homme ne peut être déterminée actuellement. Pour le CIRC, l'EGBE est dans le groupe 3 (ne peut pas être classé quant à sa carcinogénicité pour l'homme sur la base de preuves limitées chez l'animal et insuffisantes chez l'homme). Quant à l'Union européenne, elle a conclu que les données disponibles ne justifiaient pas d'inscrire l'EGBE dans l'une des trois catégories de carcinogènes de l'UE. Le PGtBE est également classé dans le groupe 3 par le CIRC.

Tableau 3.1 : Études de génotoxicité des éthers de l'éthylène glycol* et du propylène glycol en complément des études rapportées dans l'expertise collective Inserm de 1999. Les résultats positifs sont donnés avec la LOAEC (*Low observed adverse effect concentration*) ou la gamme des concentrations positives**

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
DEGME 111-77-3	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> V79	Mutation réverse CA	jusqu'à 20,5 mg/bte jusqu'à 1,2 mg/ml (10 mM)	(-) (-)	ECB, 2000a
DEGDME (diglyme) 111-96-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	0,005 – 100 µl/bte 0,010 – 10 mg/bte 0,148 – 19 mg/ml	(-) (-) (-)	INRS, 1997 WHO CICAD 41, 2002
	Fibroblastes embryons humains	UDS			
	<i>In vivo</i> OD rats	CA	250 – 1 000 ppm inh 7 h/j, 1 à 5 j (soit 1 395 – 5 580 mg/m ³)	(-)	
	Rats	<i>Dominant lethal test</i>	250, 1 000 ppm inhalation	(+) 1 000 ppm : diminution de fertilité et implantation des embryons	
EGDME 110-71-4	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	50 – 500 µg/bte	(-)	Herbold et coll., 1998 INRS, 2001a

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
TEGME 112-35-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	Mutation réverse	4 – 1 000 µg/bte 0,5 – 5 000 µg/bte (préincubation) 4 – 1 000 µg/bte 2 – 5 mg/ml	(-)	INRS, 2001b
	CHO / HPRT-	Mutation		(-)	
	<i>In vivo</i> Souris	MN	500, 1 670, 5 000 mg/kg par gavage	(-)	INRS, 2001c
TEGDME 112-49-2	Absence de données				INRS, 2003
EGDEE 629-14-1	Absence de données				
DEGEE 111-90-0	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Mutation réverse <i>Gene mutation</i>	jusqu'à 1 ml/bte 1 et 10 %, 4 h exposition	(-) (-)	INRS, 2001d
	<i>In vivo</i> Souris <i>swiss CD1</i>	MN	2 ml/kg i.p. injectés 2 j de suite	(-)	
DEGEEA 112-15-2	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	INRS, 2001e

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
DEGDEE 122-36-7	Absence de données				INRS, 2002
TEGEE 112-50-5	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	4 – 1 000 µg/bte 0,5 – 5 mg/bte préincubation 2 – 5 mg/ml	(-) (-) (-)	INRS, 2001f
	CHO/HPRT- <i>In vivo</i> Souris CD-1	Mutation MN	0,500, 1 670, 5 000 mg/kg par gavage	(-)	
EGnPE 2807-30-9	Absence de données				
EGBE*** 111-76-2	<i>In vitro</i> CHO	Mutations SCE	0,06 – 1 % 0,01 – 0,25 %	(-) (-)	ECB, 2004a INRS, 1999
	Hépatocytes rat Lymphocytes humains	UDS CA SCE	(0,1 – 100) · 10 ⁻³ % 500 – 3 000 ppm	(+) 10 ⁻³ et 0,1 · 10 ⁻³ % (-) (+) 500 ppm (-)	Villalobos-Pietrini et coll., 1989 Hofflack et coll., 1995
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA102	Mutation réverse	jusqu'à 14 mg/bte		

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
	<i>S. typhimurium</i> TA97a	Mutation réverse	jusqu'à 14 mg/bte	(+) 4,4 mg/bte	Hoflack et coll., 1995
	<i>S. typhimurium</i> TA97a	Mutation réverse	0,5 – 10 mg/bte	(-)	Gollapudi et coll., 1996
	V79, lymphocytes humains	CA	8 – 80 mM	(-)	Elias et coll., 1996
	V79	Mutation, SCE		(+) 20 mM (mut) 15 mM (SCE)	
		Micronoyaux		(+) 8 mM	
		Aneuploïdie		(+) 10 mM	
		Inhib. coop. métab.		(+) 8,5 mM	
	CHO	CA	jusqu'à 5 mg/ml	(-)	NTP, 2000
	SHE	SCE	jusqu'à 3,5 mg/ml	(-)	Elias et coll., 1996
	SHE	Transformation cellulaire	jusqu'à 8 mM	(-)	Park et coll., 2002a
	<i>In vivo</i>	Transformation cellulaire	jusqu'à 20 mM	(-)	
	Souris	Micronoyaux	150 – 1 000 mg/kg/i.p.	(-)	Elias et coll., 1996
	Souris B6C3F1	Micronoyaux	550 mg/kg i.p. x 3	(-)	NTP, 2000
	Rat F344/N	Micronoyaux	450 mg/kg i.p. x 3	(-)	NTP, 2000
	Absence de données			(-)	ECB, 2004d
EGBEA 112-07-2	<i>In vitro</i>				
DEGBE 112-34-5	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 20 µl/bte	(-)	Thompson et coll., 1984

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
	L5178Y <i>h⁺h⁻</i>	Mutation	jusqu'à 7,5 µl/ml	(+) à doses cytotoxiques	ECB, 2000b
	Hépatocytes de rat	UDS	jusqu'à 10 µl/ml	(-)	
	CHO	Essai cytogénétique	4,5 – 8 µl/ml	(-)	
	Drosophile	Mutation létale récessive liée au sexe	14 000 ppm/inj 11 000 ppm/per os	(-)	
	CHO	Mutation	1 – 5 mg/ml	(-) < 3 mg/ml (+/-) > 3 mg/ml avec S9	Gollapudi et coll., 1993
	<i>In vivo</i> Souris CD-1	Micronoyaux	330 – 3 300 mg/kg per os	(-)	INRS, 2001j
DEGBEA 124-17-4	Absence de données				
TEGBE 143-22-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/bte	(-)	OCDE SIAM 15, 2002
23783-42-8 1559-34-8	CHO/HPRT <i>In vivo</i> Souris	Mutation, CA MN	jusqu'à 5 mg/bte jusqu'à 5 mg/kg	(-) (-)	INRS, 2001g
EGPhE 122-99-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/bte	(-)	INRS, 2002a OCDE SIAM 18, 2004b
	<i>In vivo</i> Rats Sprague Dawley Souris	CA MN	280, 933, 2 800 mg/kg 300, 600, 1 200 mg/kg	(-) (-) doses non précisées dans SIAM 18	

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
DEGHE 112-59-4	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	Ballantyne et Vergnes, 2001
		Mutation SCE	non précisé	(+) avec S9 (0,7-1,5 mg/ml) (-)	INRS, 2001h
	<i>In vivo</i> Souris	MN	non précisé	(-)	
		CA	non précisé	(-)	
			(+) 375, 750 mg/kg i.p. à 48 h chez mâles		
PGME*** 107-98-2	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	2 – 6 250 µg/bte 20 – 5 000 µg/bte	(-)	OCDE SIAM 11, 2001a ECB, 2004b
		UDS	31 µM – 105 mM	(-)	BASF AG (1983)
		Mutation SCE	14 – 55 mM > 10 – 100 mM	(-)	Mendrala (1983) Elias et coll., 1996 Elias et coll., 1996
	Hépatocytes de rat V79	CA	1,25 – 10 mg/ml	(-)	Dow Europe SA (1983)
		CA	> 10 – 100 mM	(-)	Elias et coll., 1996
		MN	14 – 55 mM	(-)	Elias et coll., 1996
	SHE <i>In vivo</i> Souris	Inhib. coop. métab. Transformation cellulaire		(+) 28 mM (sans S9) (-)	Elias et coll., 1996 Elias et coll., 1996
		Micronoyaux	2 500 – 6 000 mg/kg i.p.	(-)	Elias et coll., 1996

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
2PG1MEA ou PMA 108-65-6	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/bte	(-)	OCDE SIAM 11, 2001b
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Mitotic gene conversion</i>	jusqu'à 5 mg/ml	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
	CHL	CA	0,3 – 1,3 mg/ml	(-)	ECB, 2004c
	CHL	CA	jusqu'à 3,5 (S9-) et 7,5 (S9+) mg/ml	(-)	
DFGME 34590-94-8	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	Mutation réverse	0,3 – 5 mg/bte	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
	Hépatocytes de rat	UDS	31 – 10 ⁵ µM	(-)	OCDE SIAM 11, 2001b
	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	313 – 5 000 – 6 250 µg/ bte	(-)	OCDE SIAM 12, 2001c et d
13429-07-7 20324-32-7 13538-28-8 (isomères)	V79	CA	0,37 – 1,48 mg/ml	(-)	
	CHO	Cytogénétique	1,25 – 10 mg/ml	(-)	
	Hépatocytes de rat	UDS	31 – 10 ⁴ µM	(-)	
DFGMEA 88917-22-0	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
	<i>E. coli</i>	Mutation réverse		(-)	

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
TPGME	<i>In vitro</i>				
25498-49-1	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
20324-33-8	non précisé	UDS		(-)	
2PG1EE	<i>In vitro</i>				
1569-02-4	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/bte	(-)	INRS, 2001i
	Lymphocytes humains	Cytogénétique	jusqu'à 5 mg/bte	(-)	
2PG1EEA	<i>In vitro</i>				
54839-24-6	<i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	0,05 – 5 mg/bte	(-)	INRS, 2000
	CHO	Cytogénétique	0,23 – 2,3 mg/ml	(-)	
2PG1IBE***	<i>In vitro</i>				
57018-52-7	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100	Mutation réverse	0,1 ; 0,33, 1 ; 3,33 ; 5 mg/bte	(-)	NTP, 2004
	<i>S. typhimurium</i> TA 97			(+) sans S9	
	L5178Y tk ⁺	Mutation réverse	0,01 – 5 mg/ml	(-)	Communication INRS
	CHO	CA	1 ; 2,3 ; 5 mg/ml	(-)	NTP, 2004
	CHO	SCE	0,17 ; 0,5 ; 1,67 ; 5 mg/ml	(-)	
	<i>In vivo</i>				
	Souris	MN	75 - 1 200 ppm inhalation/ 3 mois	(-) mâles (+) femelles à 1 200 ppm	

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
2PG1nBE 5131-66-8	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
	Mouse lymphoma L5178Y	Mutation réverse	non précisé	(-)	
	non précisé	UDS	non précisé	(-)	
	CHO	Cytogénétique	non précisé	(-)	
	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	Mutation réverse	non précisé	(-)	
DPGnBE 29911-28-2	CHO / HPRT	Mutation	non précisé	(-)	OCDE SIAM 17, 2003
	CHO	Cytogénétique	non précisé	(-)	
	V79, lymphocytes humains V79	Mutation, SCE, CA Micronoyaux	10 – 20 mM	(-)	
	SHE	Inhib. coop. métab. Transformation cellulaire		(+) à 11 mM	
	<i>In vivo</i> Souris	Micronoyaux	100 – 400 mg/kg i.p.	(-)	
DPGiBE 132739-31-2 nouvelle substance	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	jusqu'à 5 mg/bte	(-)	ARCO Chemical, 1996a
	<i>In vivo</i> Souris	MN	200, 400, 600 (mâle), ou 800 (femelle) mg/kg i.p.	(-)	

Tableau 3.1 (suite)

Substance N°CAS	Modèle expérimental	Critères ou type d'essai	Gamme de concentrations testées	Résultats/LOAEC ou concentrations positives	Références
2PG1PHE α 770-35-4	<i>In vitro</i> <i>S. typhimurium</i>	Mutation réverse	20 – 5 000 µg/bte	(-)	OCDE SIAM 18, 2004a
β 4169-04-4	Lymphocytes humains	CA	jusqu'à 400 µg/ml	(-)	
mélange 41593-38-8	<i>In vivo</i>	MN	75 - 1 200 ppm	(+)	
	Souris	MN	inhalation/ 3 mois		
	Souris CD-1	MN	500, 1 000, 2 000 mg/kg per os	(+) 2 000 mg/kg hypothermie ?	

* Les études sur l'EGME, l'EGEE et les métabolites MALD, MAA, EALD, EAA ne sont pas rapportées, de même que celles sur les métabolites BALD et BAA; ** Concentration la plus basse induisant des effets nocifs; *** Substances testées pour leur effet cancérigène chez l'animal.
 CA : aberrations chromosomiques; UDS : synthèse non programmée de l'ADN (*unscheduled DNA synthesis*); MN : micronoyau; SCE : échange de chromatide sœur; CHO/HPRT : cellules ovariennes de hamster chinois, mutant au locus HPRT (hypoxanthine phosphoribosyl transférase); CHL : cellules pulmonaires de hamster chinois; V79 : lignée lymphoblastique; SHE : cellules embryonnaires de hamster syrien; *S. typhimurium*; *Salmonella typhimurium his* : mutant pour la synthèse de l'histidine, utilisé dans le test d'Ames avec les souches TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 testées sans activation métabolique (S9-) et avec activation métabolique (S9+ induit à Aroclor). Les essais sur la souche TA97 et TA97a peuvent être ajoutés (les résultats sont spécifiés si nécessaires).
 L5178Y tk⁺ : cellules de lymphomes de souris possédant un gène unique actif tk, utilisées dans le test de mutagenèse « MLA » (*mouse lymphoma assay*).

Tableau 3.II : Cancérogénicité des éthers de glycol (résultats des études publiées depuis 1999)

Substance N°CAS	Protocole expérimental Inhalation 6 h/j, 5 j/sem, 2 ans Concentrations testées (ppm)	Effets enregistrés	Résultats	Concentrations en ppm positives (p < 0,05) Relation doses-effets (DE ⁺)	Références Conclusions	
EGBE 111-76-2	Rat F344/N	Effets néoplasiques	néant		NTP, 2000	
	0 ; 31,2 ; 62,5 ; 125	Effets non néoplasiques				
		Foie : pigmentation des cellules de Kupffer	+/m	DE ⁺ / 31, 62, 125	mâles : <i>No Evidence</i>	
		Médullosurrénales : phéochromocytomes	+/f	125	femelles : <i>Equivocal Evidence</i>	
	Souris B6C3F ₁	Effets néoplasiques			NTP, 2000	
	0 ; 62,5 ; 125 ; 250	Foie : hémangiosarcomes	+/m	DE ⁺ / 250	mâles : <i>Some Evidence</i>	
PGBE 57018-52-7	Rat F344/N 0 ; 75 ; 300 ; 1 200	Estomac antérieur : papillomes, carcinomes	+/f	250	femelles : <i>Some Evidence</i>	
		Effets non néoplasiques				
		Estomac antérieur : ulcères, hyperplasie	+/m, f	250		
		Foie : pigmentation des cellules de Kupffer	+/m	250		
		Foie : pigmentation des cellules de Kupffer	+/f	125, 250		
		Rate : prolifération cellulaire	+/m	125, 250		
		Moelle osseuse : hyperplasie	+/m	250		
		Effets néoplasiques	néant			NTP, 2004
		Effets non néoplasiques				
		Rein : hyperplasie tubulaire, néphropathie	+/m	DE ⁺ / 75, 300, 1 200		mâles : <i>Equivocal Evidence</i>
Souris B6C3F ₁	0 ; 75 ; 300 ; 1 200	Rein : hyperplasie	+/f	1 200	femelles : <i>No Evidence</i>	
		Effets néoplasiques				
		Foie : adénomes hépatocellulaires	+/m	DE ⁺ / 75, 300, 1 200		NTP, 2004
		Foie : adénomes hépatocellulaires	+/f	1 200		mâles : <i>Clear Evidence</i>
	Foie : carcinomes hépatocellulaires	+/f	1 200		femelles : <i>Clear Evidence</i>	

Tableau 3.II (suite)

Substance N°CAS	Protocole expérimental Inhalation 6 h/j, 5 j/sem, 2 ans Concentrations testées (ppm)	Effets enregistrés	Résultats	Concentrations en ppm positives (p < 0.05) Relation doses-effets (DE+)	Références Conclusions
PGME 107-98-2	Rat F344/N 0 ; 300 ; 1 000 ; 3 000	Foie : hépatoblastomes	+/m, f	1 200	Cieszlak et coll., 1998 et Spencer et coll., 2002 NOAEL* : 300 ppm
		Effets non néoplasiques			
		Foyers hépatiques éosinophiles	+/m, f	1 200	
		Minéralisation cornée, néphropathie	+/f	1 200	
		Effets néoplasiques			
		Rein : tumeurs épithéliales (adénocarcinomes)	+/m	1 000	
		Autres effets			
		Prolongement phase S cycle cellulaire	+/m	300	
		Néphropathie	+/m, f	1 000, 3 000	
		Effets non néoplasiques			
Souris B6C3F ₁	0 ; 300 ; 1 000 ; 3 000	Atrophie médullosurrénale	+/f	3 000	Cieszlak et coll., 1998 et Spencer et coll., 2002 NOAEL* : 1 000 ppm

* no observed adverse effect level ; m : mâle ; f : femelle

BIBLIOGRAPHIE

- AASMOE L, AARBAKKE J. Sex-dependent induction of alcohol dehydrogenase activity in rats. *Biochem Pharmacol* 1999, **57** : 1067-1072
- AMBROSO JL, STEDMAN DB, ELSWICK BA, WELSCH F. Characterization of cell death induced by 2-methoxyethanol in CD-1 mouse embryos on gestation day 8. *Teratology* 1998, **58** : 231-240
- ARCO CHEMICAL. DPTB : mouse micronucleus test. 1996a : 28/960732, 2p
- ARCO CHEMICAL. Dipropylene glycol t-butyl ether : bacterial mutation assay. 1996b : 27/960041, 2p
- BALLANTYNE B, VERGNES JS. *In vitro* and *in vivo* genetic toxicology studies with diethylene glycol monohexyl ether. *J Appl Toxicol* 2001, **21** : 449-460
- BASF AG. Abt Toxicologie, unpublished report 82/322, 20.06. 1983
- BOATMAN R, CORLEY R, GREEN T, KLAUNIG J, UDDEN M. Review of studies concerning the tumorigenicity of 2-butoxyethanol in B6C3F1 mice and its relevance for human risk assessment. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2004, **7** : 385-398
- BORGHOFF SJ, SHORT BG, SWENBERG JA. Biochemical mechanisms and pathobiology of alpha 2u-globulin nephropathy. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1990, **30** : 349-367
- CIESZLAK FS, CRISSMAN J, STOTT W, CORLEY R, DOW CHEMICAL COMPAGNY. Propylene glycol monomethyl ether: a two-year vapor inhalation chronic toxicity/oncogenicity study and evaluation of hepatic and renal cellular proliferation, P450 enzyme induction and protein droplet nephropathy in Fischer 344 rats. Unpublished report, 1998
- CIRC. Centre international de recherche sur le cancer. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxy-2-propanol. (vol. 88, 2-9 juin 2004), 2004 (lien consulté en avril 2005, <http://www.cie.iarc.fr/htdocs/announcements/vol88.htm>)
- DARTSCH PC, HILDENBRAND S, GFROERER W, KIMMEL R, SCHMAHL FW. Cytotoxic effects of 2-butoxyethanol *in vitro* are related to butoxyacetaldehyde, an intermediate oxidation product. *Environ Toxicol Pharmacol* 1999, **7** : 135-142
- DEISINGER PJ, BOATMAN RJ. *In vivo* metabolism and kinetics of ethylene glycol monobutyl ether and its metabolites, 2-butoxyacetaldehyde and 2-butoxyacetic acid, as measured in blood, liver and forestomach of mice. *Xenobiotica* 2004, **34** : 675-685
- DOI AM, ROYCROFT JH, HERBERT RA, HASEMAN JK, HAILEY JR, et coll. Inhalation toxicology and carcinogenesis studies of propylene glycol mono-t-butyl ether in rats and mice. *Toxicology* 2004, **199** : 1-22
- DOW EUROPE SA. Metaphase analysis of Chinese hamster ovary (CHO) cells treated with DOWANOL * PM, unpublished report, 1983.
- ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report. 2-(2-methoxyethoxy) ethanol - DEGME - CAS No : 111-77-3, 2000a
- ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 2-(2-butoxyethoxy) ethanol - DEGBE - CAS No : 112-34-5, 2000b

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 2-butoxyethanol - EGBE - CAS No : 111-76-2 (draft), 2004a

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 1-Methoxypropan-2-ol - 2PG1ME - CAS No : 107-98-2 (draft), 2004b

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 1-Methoxy-2-propanol acetate - 2PG1MEA - CAS No : 108-65-6 (draft), 2004c

ECB. European Chemicals Bureau. European Union Risk Assessment Report : 2-butoxyethanol acetate - EGBEA - CAS No : 112-07-2 (draft), 2004d

EISSES KT. Concurrent teratogenic and mutagenic action of 2-methoxyethanol in *Drosophila melanogaster* larvae resulted in similar phenotypes : close resemblance to directed mutations. *Teratog Carcinog Mutagen* 1999, **19** : 183-204

ELIAS Z, DANIERE MC, MARANDE AM, POIROT O, TERZETTI F, SCHNEIDER O. Genotoxic and/or epigenetic effects of some glycol ethers : results of different short-term tests. *Occup Hyg* 1996, **2** : 187-212

EL-ZEIN RA, ABDEL-RAHMAN SZ, MORRIS DL, LEGATOR MS. Exposure to ethylene glycol monomethyl ether : clinical and cytogenetic findings. *Arch Environ Health* 2002, **57** : 371-376

FASTIER A, HERVE-BAZIN B, MCGREGOR D. INRS activities on risk assessment of glycol ethers. *Toxicol letters* 2005, **156** : 59-76

GIFT JS. US EPA's IRIS assessment of 2-butoxyethanol : the relationship of noncancer to cancer effects. *Toxicol letters* 2005, **156** : 168-178

GOLLAPUDI B, LINScombe VA, MCCLINTOCK ML, SINHA AK, STACK CR. Toxicology of diethylene glycol butyl ether : 3. Genotoxicity evaluation in an *in vitro* gene mutation assay and an *in vivo* cytogenetic test. *J Am Coll Toxicol* 1993, **12** : 155-160

GOLLAPUDI BB, BARBER ED, LAWLOR TE, LEWIS SA. Re-examination of the mutagenicity of ethylene glycol monobutyl ether to *Salmonella* tester strain TA97a. *Mutat Res* 1996, **370** : 61-64

GREEN T, TOGHILL A, LEE R, MOORE R, FOSTER J. The development of forestomach tumours in the mouse following exposure to 2-butoxyethanol by inhalation : studies on the mode of action and relevance to humans. *Toxicology* 2002, **180** : 257-273

HERBOLD B, HAAS P, SEEL K, WALBER U. Studies on the effect of the solvents dimethylsulfoxide and ethyleneglycoldimethylether on the mutagenicity of four types of diisocyanates in the *Salmonella*/microsome test. *Mutat Res* 1998, **412** : 167-175

HOFACK JC, LAMBOLEZ L, ELIAS Z, VASSEUR P. Mutagenicity of ethylene glycol ethers and of their metabolites in *Salmonella typhimurium* his⁻. *Mutat Res* 1995, **341** : 281-287

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGDME - No CAS : 111-96-6. Allemagne 1997

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGBE - No CAS : 111-76-2. France 1999

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - 2PG1EEA - No CAS : 54839-24-6. France 2000

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGDME - No CAS : 110-71-4. France 2001a

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TGME - No CAS : 112-35-6. France 2001b

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TEGDME - No CAS : 112-49-2. France 2001c

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGEE- No CAS : 111-90-0. France 2001d

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGEEA - No CAS : 112-15-2. France 2001e

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TEGEE - No CAS : 112-50-5. France 2001f

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - TEGBE - No CAS : 143-22-6. France 2001g

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGHE - No CAS : 112-59-4. France 2001h

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - 2PG1EE - No CAS : 1569-02-4. France 2001i

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGBEA- No CAS : 124-17-4. France 2001j

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGPhE - No CAS : 122-99-6. France 2002a

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - DEGDEE - No CAS : 112-36-7. France 2002b

INRS. Classification and labelling of dangerous substances - EGDEE - No CAS : 629-14-1. France 2003

INSERM. Ethers de glycol. Quels risques pour la santé ? Collection Expertise collective, Éditions Inserm, Paris, 1999 : 348p

JU SA, PYO CO, KIM SK, LEE GI, CHOE SY, KIM BS. 2-Methoxyethanol-induced suppression of *in vitro* immune responses of human peripheral blood mononuclear cells. *J Toxicol Publ Health* 1998, **14** : 55-61

KAMENDULIS LM, PARK JJ, KLAUNIG JE. Potential mechanisms of rodent liver toxicity by 2-butoxyethanol : oxidative stress studies. Project No. 98-102. Indiana University Toxicology, Indianapolis, Indiana, USA, 1999

KLAUNIG JE, KAMENDULIS LM. Mode of action of butoxyethanol-induced mouse liver hemangiosarcomas and hepatocellular carcinomas. *Toxicol letters* 2005, **156** : 107-115

KRISHNAMURTHY H, WEINBAUER GF, ASLAM H, YEUNG CH, NIESCHLAG E. Quantification of apoptotic testicular germ cells in normal and methoxyacetic acid-treated mice as determined by flow cytometry. *J Andro* 1998, **19** : 710-717

MARON DM, AMES BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 1983, **113** : 173-215

MENDRALA AL. Evaluation of DOWANOL* PM in the rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay, unpublished report of the Dow Chemical Company, 1983

MELNICK R L. An alternative hypothesis on the role of chemically induced protein droplet (alpha 2u-globulin) nephropathy in renal carcinogenesis. *Regul Toxicol Pharmacol* 1992, **16** : 111-125

NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies 2-Butoxyethanol (CAS N°. 111-76-2) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Inhalation Studies). *Nat Toxicol Program Tech Rep Ser* 2000, **484** : 1-290

NTP. Toxicology and carcinogenesis studies propylene glycol mono-t-butyl ether (CAS N° 57018-52-7) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice and a toxicology study of propylene glycol mono-t-butyl ether in male NBR rats (Inhalation Studies). *Nat Toxicol Program Tech Rep Ser* 2004, **515** : 1-306

OCDE. SIDS initial assessment Report. 11th SIAM : 1-Methoxypropan-2-propanol acetate (PGME) CAS No 107-98-2. 2001a : 101p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 11th SIAM : 1-Methoxypropan-2-propanol acetate (PGMEA) CAS No 108-65-6. 2001b : 228p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 12h SIAM : DiPropylene Glycol Methyl Ether CAS No 34590-94-8. 2001c : 19p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 12h SIAM : DiPropylene Glycol Methyl Ether - DPGME - CAS No 34590-94-8. 2001d : 99p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 15th SIAM : Triethylene Glycol Methyl Ether CAS No 143-22-6 Tetraethylene Glycol Methyl Ether CAS No 23783-42-8 Tetraethylene Glycol Methyl Ether CAS No 1559-34-8. 2002 : 25p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 17th SIAM : Propylene glycol n-butyl ether CAS No 5131-66-8 Dipropylene glycol n-butyl ether CAS No 29911-28-2 Dipropylene glycol methyl ether acetate CAS No 88917-22-0 Tripropylene glycol methyl ether CAS No 25498-49-1 et 20324-33-8. 2003 : 51p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 18th SIAM : Propylene Glycol Phenyl Ether CAS No 770-35-4 (alpha isomer), CAS No 4169-04-4 (beta isomer), CAS No 41593-38-8 (mélange). 2004a : 30p

OCDE. SIDS initial assessment Report. 18th SIAM : Ethylene Glycol Phenyl Ether CAS No 122-99-6. 2004b : 20p

PARK J, KAMENDULIS LM, KLAUNIG JE. Mechanisms of 2-butoxyethanol carcinogenicity: studies on Syrian Hamster Embryo (SHE) cell transformation. *Toxicol Sci* 2002a, **68** : 43-50

PARK J, KAMENDULIS LM, KLAUNIG JE. Effects of 2-butoxyethanol on hepatic oxidative damage. *Toxicol Letters* 2002b, **126** : 19-29

POET TS, SOELBERG JJ, WEITZ KK, MAST TJ, MILLER RA, et coll. Mode of action and pharmacokinetic studies of 2-butoxyethanol in the mouse with an emphasis on forestomach dosimetry. *Toxicol Sci* 2003, **71** : 176-189

RUYANI A, SUDARWATI S, SUTASURYA LA, SUMARSONO SH, GLOE T. The laminin binding protein p40 is involved in inducing limb abnormality of mouse fetuses as the effects of methoxyacetic acid treatment. *Toxicol Sci* 2003, **75** : 148-153

SIESKY AM, KAMENDULIS LM, KLAUNIG JE. Hepatic effects of 2-butoxyethanol in rodents. *Toxicol Sci* 2002, **70** : 252-260

SPENCER PJ, CRISSMAN JW, STOTT WT, CORLEY RA, CIESZLAK FS, et coll. Propylene glycol monomethyl ether (PGME) : inhalation toxicity and carcinogenicity in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol* 2002, **30** : 570-579

SWENBERG JA, SHORT B, BORGHOFF S, STRASSER J, CHARBONNEAU M. The comparative pathobiology of alpha 2u-globulin nephropathy. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989, **97** : 35-46

TAKAGI A, YAMADA T, HAYASHI K, NAKADE Y, KOJIMA T, et coll. Involvement of caspase 3 mediated apoptosis in hematopoietic cytotoxicity of metabolites of ethylene glycol monomethyl ether. *Ind Health* 2002, **40** : 371-374

THOMPSON ED, COPPINGER WJ, VALENCIA R, LAVICOLI J. Mutagenicity testing of diethylene glycol monobutyl ether. *Environ Health Perspect* 1984, **57** : 105-112

VILLALOBOS-PIETRINI R, GOMEZ-ARROYO S, ALTAMIRANO-LOZANO M, OROZCO P, RIOS P. Cytogenetic effects of some cellosolves. *Rev Int Contam Ambient* 1989, **5** : 41-48

WHO. World Health Organization, Diethylene Glycol Dimethyl Ether. Concise International Chemical Assessment Document 41, 2002 : 1-22

YAN W, SAMSON M, JEGOU B, TOPPARI J. Bcl-w forms complexes with Bax and Bak, and elevated ratios of Bax/Bcl-w and Bak/Bcl-w correspond to spermatogonial and spermatocyte apoptosis in the testis. *Mol Endocrinol* 2000, **14** : 682-699