

4

Effets sur la fonction de reproduction et le développement chez l'animal

La toxicité des éthers de glycol sur la fonction de reproduction peut s'exprimer au niveau des organes reproducteurs (en particulier sur les gonades), du système endocrinien ou des événements qui font suite à la fécondation. Les manifestations d'une telle toxicité peuvent inclure des effets délétères sur la maturation sexuelle, la production, la qualité et le transport des gamètes à l'âge adulte, le comportement sexuel, la gestation et sur toutes les autres fonctions dépendantes de l'intégrité du système reproducteur. Les effets toxiques des éthers de glycol sur la fonction de reproduction se manifestent en particulier sur la fertilité (mâle ou femelle) et sur le développement, ces derniers pouvant se manifester par une toxicité maternelle chez la femelle gravide, une toxicité fœtale ou des malformations.

Effets sur les gonades et la fertilité

Un nombre important de données toxicologiques produites dès le début des années 1980 ont permis de souligner la toxicité de certains éthers de glycol, en particulier ceux dérivés de la série éthylénique et de bas poids moléculaire, sur la gonade mâle. Cette toxicité s'est avérée hautement spécifique pour la lignée cellulaire germinale, entraînant un arrêt de la spermatogenèse et par voie de conséquence une diminution de la fertilité des animaux. Sur la base des données disponibles en 1999, il subsistait quelques incertitudes pour certains éthers de glycol de la série éthylénique et une absence d'informations pour d'autres (Inserm, 1999). Concernant les éthers de glycol de la série propylénique, les études disponibles, bien que peu nombreuses, aboutissaient à une absence de toxicité germinale chez le mâle. Cette conclusion apparaissait vraisemblable du fait que le métabolisme des isomères majoritaires des dérivés propyléniques ne conduit pas à la formation d'alkoxyacides et alkoxyaldéhydes bien connus pour être responsables de la toxicité reproductive des éthers de glycol. Toutefois, une interrogation majeure persistait du fait de la pré-

sence d'isomères minoritaires, générateurs d'alkoxyacides, et de l'absence d'études sur la toxicité testiculaire du 1PG2ME, l'isomère bêta minoritaire du PGME, l'éther de glycol le plus fréquemment employé dès les années 1990. Concernant la toxicité des éthers de glycol sur les gonades femelles, on ne disposait que d'un nombre très réduit d'études permettant de suspecter un effet pour quelques uns d'entre eux. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.I.

Tableau 4.I : Synthèse des données sur la reproduction disponibles en 1999

Effets sur les gonades mâles chez l'animal

- Éthers de glycol pour lesquels un effet sur les gonades mâles est démontré et ayant un effet sur la fertilité : EGME, EGEE
- Éthers de glycol ayant probablement un effet sur les gonades mâles : EGnPE, EGPhE, EGDME, DEGME, DEGEE, DEGBE, DEGDME, TEGDME
- Éthers de glycol n'ayant probablement pas d'effet sur les gonades mâles : EGBE, 2PG1ME

Effets sur les gonades femelles chez l'animal

- Éthers de glycol ayant probablement un effet sur les gonades femelles : EGME, EGEE, EGBE, EGPhE, TEGDME
-

EGME

De nombreuses études destinées à approfondir le mécanisme cellulaire et moléculaire de la toxicité testiculaire des éthers de glycol ont été réalisées en utilisant l'EGME ou son métabolite, l'acide méthoxyacétique (MAA). Ces études ont confirmé sans ambiguïté que la toxicité au niveau cellulaire se manifeste principalement sur les spermatoocytes, parfois les spermatides, aboutissant à une mort cellulaire par un mécanisme d'apoptose (Krishnamurthy et coll., 1998 ; Matsui et Takahashi, 1999). L'apoptose des cellules germinales est un processus normal au cours de la spermatogenèse, nécessaire au maintien d'un nombre critique de cellules germinales par rapport aux cellules nourricières (cellules de Sertoli) à des stades spécifiques de maturation. Le processus d'apoptose est favorisé par l'administration d'EGME (ou de MAA) conduisant à un arrêt de la méiose des cellules germinales et à une interruption de la production de spermatozoïdes.

L'apoptose induite par l'EGME/MAA était déjà bien connue mais les mécanismes d'initiation demeuraient largement inexplorés. L'intervention de diverses protéines de la famille Bcl-2, régulatrices de l'activation des caspases, a été clairement démontrée dans l'apoptose des spermatoocytes induite par le MAA (Yan et coll., 2000). L'activation des protéases caspases est une étape clef de l'apoptose car ces enzymes induisent la fragmentation de l'ADN. Un autre mécanisme intervenant dans l'activation des caspases est le relargage du cytochrome c de la mitochondrie par le MAA (Rao et Shaha, 2002). Plusieurs travaux ont également souligné l'importance de l'interaction entre les

cellules de Sertoli et les cellules germinales dans l'induction de la toxicité de l'EGME/MAA et dans le déroulement du processus apoptotique des spermatocytes. Le MAA induit l'activation de plusieurs kinases : PKC, CaMKII, Src, MLCK (Jindo et coll., 2001). Il induit également des modifications de l'expression de protéines du stress oxydatif dans les cellules de Sertoli ainsi que dans les cellules germinales (Syed et Hecht, 1998). Par un procédé d'hybridation soustractive chez la souris, Wang et Chapin (2000) ont pu identifier un certain nombre de protéines exprimées spécifiquement par l'action du MAA dans des spermatocytes mais aussi dans d'autres cellules : les cellules de Sertoli et les cellules interstitielles. Selon une étude utilisant des cultures de tubules séminifères de rats (Barone et coll., 2004), l'apoptose de la cellule germinale se produirait à la suite de la transmission de signaux pro-apoptotiques en provenance de la cellule de Sertoli, cette dernière étant alors la cellule dans laquelle l'action toxique initiale se produirait.

Tirado et coll. (2003 et 2004) ont montré comment le MAA altère l'expression du récepteur aux androgènes et de l'ARN messenger de l'*Androgen binding protein* dans la cellule de Sertoli et comment il augmente l'expression de l'ARN messenger du récepteur bêta des œstrogènes (ER β) des spermatocytes pachytènes. L'activation ainsi produite par le MAA à une concentration de 5 mM est similaire à celle induite par de l'œstradiol à 1 nM. Les auteurs soulèvent l'hypothèse selon laquelle le MAA interagit avec le récepteur ER β dans le cytoplasme du spermatocyte en évitant la progression de la première division méiotique. En utilisant des cellules tumorales hépatiques exprimant le récepteur ER β , Jansen et coll. (2004) ont montré que le MAA, à une concentration de 5 mM, potentialise l'activité transcriptionnelle du récepteur ER β en présence de concentrations saturantes en œstradiol (100 nM ou plus). Cette action du MAA ne s'exerce pas au niveau du récepteur, car aucune liaison du MAA au récepteur ER β n'est observée et le MAA ne déplace pas la liaison de l'œstradiol à son récepteur. Une potentialisation de l'activité transcriptionnelle du récepteur à la progestérone des cellules tumorales de sein a été également observée en présence de concentrations saturantes du progestagène R5020. Selon les auteurs, le MAA agirait comme un perturbateur endocrinien ; ils proposent que l'exposition au MAA (en fait à l'EGME) soit évitée chez les femmes recevant des stéroïdes sexuels exogènes, par exemple lors de la prise de contraceptifs oraux ou lors de traitements pour la ménopause. Cette recommandation ne semble pas pertinente : en effet, pour la concentration de MAA à partir de laquelle les auteurs observent un effet de potentialisation (5 mM de MAA, c'est à dire ~ 300 mg/l), en présence de stéroïdes à des concentrations supra-physiologiques, de nombreux effets délétères sont déjà largement observables sur la fonction de reproduction. Ces effets peuvent être expliqués par des mécanismes de toxicité indépendamment de tout recours au concept de perturbation endocrinienne.

Le MAA augmente l'expression de PERF 15, une protéine de liaison aux acides gras, spécifiquement au niveau des testicules (Kido et Namiki, 2000) ; ce résul-

tat n'est pas surprenant étant donnée la similitude structurale entre le MAA et les acides gras à courte chaîne. L'EGME induit une augmentation de l'expression de la kinase Src (tyrosine kinase pp60) dans la cellule de Sertoli mais également, quelques heures après, dans la cellule germinale en voie d'apoptose ; ceci souligne encore les interactions entre cellules de Sertoli et cellules germinales (Wang et coll., 2000). Le rôle de la kinase Src semble central car son inhibition spécifique prévient la dégénérescence des spermatocytes. L'étude de l'expression de la protéine ELP (*endozepine-like peptide*), identifiée parmi un clone d'ADNc spécifique des cellules germinales, a permis d'apporter pour la première fois la preuve d'une récupération clonale suite à la déplétion des spermatocytes au stade pachytène après traitement par le MAA (Pusch et coll., 2000).

La capacité de fertilisation *in vitro* de spermatozoïdes de rats ayant reçu des doses croissantes d'EGME (0, 5, 15, 50 ou 100 mg/kg) en injection intrapéritonéale a été étudiée par Berger et coll. (2000). À partir de 50 mg/kg, l'EGME réduit de manière significative la capacité de pénétration d'ovocytes dépourvus de leur zone pellucide alors que la pénétration d'ovocytes avec des cellules du cumulus est affectée à partir de 100 mg/kg. Par ailleurs, l'administration d'EGME à des concentrations variant de 0,15 à 0,25 % dans l'eau de boisson chez des rates pendant 14 jours induit une diminution de l'ovulation à partir d'une concentration à 0,15 % et une suppression de celle-ci à partir de 0,25 % (Berger et coll., 2000).

EGEE

Chez le rat, l'effet testiculaire de l'EGEE est diminué par la co-administration de toluène et de xylène. Ce phénomène est lié à la participation de l'alcool déshydrogénase (ADH) dans le métabolisme du toluène et du xylène. Il existerait une inhibition compétitive de l'oxydation de l'EGEE par les benzyls alcools générés par le toluène et le xylène (Chung et coll., 1999 ; Yu et coll., 1999). Il avait déjà été montré que l'inhibition de l'ADH par des substances comme le pyrazole prévient les effets testiculaires induits par l'EGME et l'EGEE (Foster et coll., 1983).

Une étude coréenne a comparé chez des rats adultes âgés de 8 semaines et chez des rats pubères de 4 semaines les effets testiculaires de l'EGEE administré par gavages pendant 4 semaines. Alors que l'EGEE à la dose de 400 mg/kg/j induit une diminution du poids testiculaire et du nombre de cellules germinales haploïdes chez les rats adultes, aucun effet n'a été observé chez les rats pubères (Yoon et coll., 2001). Aucune explication n'est avancée par les auteurs pour cette apparente résistance des animaux pubères.

DEGBE

Le DEGBE a été administré quotidiennement par voie orale (eau de boisson) pendant 13 semaines à des rats adultes mâles et femelles à des doses de 0, 50,

250 ou 1 000 mg/kg/j (Johnson et coll., 2005). Aucune modification du nombre de cellules spermatiques (spermatides, spermatozoïdes), de la morphologie ou de la mobilité des spermatozoïdes n'a été observée pour la dose la plus élevée (1 000 mg/kg/j). Aucune modification du poids ni modification macroscopique des ovaires et de l'utérus n'ont été signalées dans cette étude chez les femelles, justifiant l'absence d'examen histopathologique détaillé de ces organes.

DEGEE

Une étude a été réalisée en administrant du DEGEE par gavage, à des doses de 0, 300, 1 000 et 2 000 mg/kg/j, à des rats mâles pendant 63 jours et à des rats femelles pendant 14 jours avant leur accouplement. Le traitement a été poursuivi chez les femelles jusqu'au 7^e jour de gestation et jusqu'au jour de l'euthanasie chez les mâles. Aucune modification histologique n'a été observée sur les gonades mâles ou femelles et aucune atteinte de la capacité de reproduction de ces animaux n'a été notée pour chacune des doses testées (Gattefossé, rapport non publié, 2001 et 2002).

DEGDME

Le DEGDME a été étudié par inhalation, 6 h par jour, 5 jours par semaine pendant deux semaines chez 20 rats mâles et 20 rats femelles à des doses de 110, 370 et 1 100 ppm ; les effets de ce traitement ont été suivis pendant une période de récupération de 84 jours (Valentine et coll., 1999). Chez les mâles, au terme des deux semaines d'exposition, une réduction du poids absolu de la prostate et des vésicules séminales a été observée pour la dose de 370 ppm ; le poids absolu et le poids relatif des testicules ont également diminué pour la dose de 1 100 ppm. À la plus faible dose (110 ppm), une légère atrophie testiculaire est observée mais elle est également présente dans une même proportion chez les animaux témoins. Cependant, ces lésions perdurent uniquement chez les animaux exposés, pendant au moins 42 jours durant la période de récupération, aboutissant à un NOAEL (*no-observed-adverse effect level*) inférieur à 100 ppm pour des effets testiculaires. La toxicité du DEGDME est expliquée par une fraction qui est métabolisée en MAA. Chez les femelles, aucune modification du poids des organes génitaux n'est constatée. Le NOAEL chez les femelles a été établi à 370 ppm sur la base d'une augmentation du poids hépatique. Ces résultats sont similaires à ceux précédemment obtenus par Lee et coll. (1989).

TEGME

Le TEGME a été étudié chez le rat CD en administration par voies cutanée et orale (Gill et coll., 1998). Par voie dermique, le TEGME a été administré

à l'aide d'un pansement semi-occlusif chez 10 rats mâles et 10 rats femelles durant 13 semaines, 6 h par jour, 5 jours par semaine et à des doses de 0, 0,4, 1,2 et 4 g/kg. Chez les mâles, des modifications testiculaires sévères ont été observées chez un animal sur 10 à la dose de 4 g/kg/j ; des effets mineurs ont été notés chez un animal sur 10 à la dose de 1,2 g/kg/j. Cependant, les lésions observées sont différentes. À la dose de 4 g/kg/j, on constate une atteinte des spermatides et non pas des spermatocytes comme cela est habituellement retrouvé avec d'autres éthers de glycol tels que l'EGME. Les lésions observées chez l'animal exposé à la dose de 1,2 g/kg/j se caractérisent par l'apparition de spermatocytes plurinucléés. Selon les auteurs, ces lésions présentes chez 10 % des animaux sont considérées comme non spécifiques et correspondent à celles retrouvées spontanément dans les données historiques chez le rat CD. Chez les femelles, aucune modification du cycle ovarien évalué par frottis vaginal ni du poids des organes génitaux ni de l'histopathologie des ovaires n'a été observée pour chacune des doses testées.

Le TEGME a été administré par voie orale, dans l'eau de boisson (*ad libitum*), pendant 13 semaines à 15 rats mâles et 15 rats femelles, à des doses de 0, 0,4, 1,3 et 4,2 g/kg/j (Gill et coll., 1998). Chez les mâles, des lésions testiculaires caractéristiques affectant les spermatocytes ont été observées aux plus fortes doses (4,2 g/kg/j). Une légère diminution du poids testiculaire sans lésion microscopique s'est produite pour la dose de 1,3 g/kg/j. À cette dose, un animal sur 15 présentait une atrophie importante des tubules séminifères avec une perte importante de tous les types cellulaires à l'exception des cellules de Sertoli. Selon les auteurs, les effets testiculaires observés aux plus fortes doses seraient dus à une faible métabolisation du TEGME en MAA et/ou à une contamination du TEGME par de l'EGME de l'ordre de 1 %. Dans cette étude, en cohérence avec celle mentionnée dans le rapport ECETOC de 1995, la dose sans effet testiculaire serait de 0,4 g/kg/j.

PGME

Le 2PG1ME et son isomère minoritaire, le 1PG2ME, ont fait l'objet de plusieurs études. Des travaux antérieurs ont montré que le PGME n'induit pas d'effets testiculaires. Mais comme évoqué précédemment, des interrogations subsistaient sur les effets imputables à son isomère minoritaire du fait de sa capacité à se transformer en acide alkoxypropionique. Une étude de Carney et coll. (1999) a consisté à exposer pendant 10 semaines des rats Dawley adultes mâles et femelles sur deux générations, avant accouplement, à des vapeurs de PGME (contenant 2 % de l'isomère minoritaire bêta) durant 6 h par jour et 5 jours par semaine à des doses de 0, 300, 1 000 et 3 000 ppm (correspondant à 0, 396, 1 325 et 3 974 mg/kg/j respectivement). Chez les mâles, comme chez les femelles, de la première et deuxième génération, l'exposition à des doses de 3 000 ppm induit une atteinte significative de leur fertilité ainsi que de la survie de leur progéniture. Cependant, ces effets

sur la reproduction sont accompagnés d'une très importante toxicité générale et maternelle, caractérisée par une sédation extrême. À la dose de 1 000 ppm, aucun effet n'est observé sur la fertilité des mâles ou des femelles. Cette concentration en PGME (1,3 g/kg/j) correspond à une dose de 26 mg/kg/j en isomère minoritaire bêta. Les effets de l'isomère minoritaire du PGME sur la fertilité ont été étudiés récemment par Lemazurier et coll. (2005) dans une étude sur 3 générations et d'administration par voie orale. Du PGME contenant soit 0,5 %, soit 1,5 % d'isomère minoritaire bêta, a été administré à des rats Sprague Dawley mâles et femelles, avant accouplement, dans l'eau de boisson pendant 60 jours (mâles) et 15 jours (femelles) à des concentrations de 0, 2, 5, 10 et 15 %. Les durées d'exposition de 60 et 15 jours correspondent respectivement à la durée d'un cycle de gamétogenèse chez les mâles et les femelles. L'emploi de ces deux mélanges a permis de distinguer les effets de l'isomère alpha majoritaire de celui de l'isomère bêta minoritaire. Seule la première génération parentale a été exposée. L'effet le plus pertinent de cette étude est une diminution significative du nombre de spermatozoïdes épидидymaires chez les mâles exposés (première génération) à partir d'une dose d'isomère bêta de 14,55 mg/kg/j. La NOAEL proposée est de 11,50 mg/kg/j. Une diminution de la taille des portées a été notée chez les femelles exposées à un mélange contenant 16,75 mg/kg/j d'isomère bêta.

Effets au cours de la gestation et sur le développement

L'expertise collective Inserm de 1999 avait classé les effets des éthers de glycol sur le développement en trois types : toxicité chez les femelles gestantes, mortalité foétale et malformations. Comme pour les effets sur la fertilité (masculine), la toxicité sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) a été associée aux éthers de glycol de la série éthylénique de bas poids moléculaire, en particulier les dérivés méthylés et éthylés. Mais des incertitudes persistaient pour certains éthers de glycol : en effet, certaines données étaient préliminaires ou insuffisamment étayées, d'autres n'existaient pas encore. Bien que les éthers de glycol de la série propylénique, à l'exception des isomères minoritaires générateurs d'alkoxyaldéhydes et d'alkoxyacides, ne soient pas a priori concernés par une toxicité élevée, on ne disposait de données publiées sous la forme de résultats et par conséquent ces données étaient non analysables. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.II.

EGME/EGEE

Le MAA, métabolite de l'EGME, induit chez des souris gestantes une diminution de l'expression de la protéine de liaison p40 à la laminine dans les bourgeons embryonnaires des membres (Ruyani et coll., 2003), suggérant un

rôle de ce processus dans le renforcement de l'apoptose déjà décrit par Greene et coll. (1987) au niveau des cellules rostrales du bourgeon des membres chez des animaux exposés à de l'EGME.

Tableau 4.II : Synthèse des données sur le développement disponibles en 1999

Effets sur le développement chez l'animal

- Éthers de glycol pour lesquels un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) est démontré : EGME, EGEE
 - Éthers de glycol pour lequel un effet foetotoxique sans effet tératogène est démontré : EGBE
 - Éthers de glycol pour lesquels il existe une forte suspicion d'un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) : DEGME, DEGDME, TEGDME, EGDEE, 1PG2ME
 - Éthers de glycol pour lesquels il existe une forte suspicion d'un effet foetotoxique sans effet tératogène : TEGME
 - Éthers de glycol pour lesquels des données expérimentales suggèrent un effet sur le développement (foetotoxicité et tératogénicité) : EGDME, DEGDEE, EGnPE
 - Éthers de glycol pour lesquels des données expérimentales suggèrent une innocuité : 2PG1ME, DPGME
-

L'EGME induit la mort cellulaire de cellules de la crête neurale et des régions médianes du tube neural antérieur chez l'embryon de souris au 8^e jour de développement (gestation) (Ambroso et coll., 1998). Cette mort cellulaire présente toutes les caractéristiques d'un processus apoptotique et suggère une relation quantitative entre la mort cellulaire induite par l'EGME et la survenue d'anomalies du tube neural.

Il avait été rapporté que l'EGME et l'EGEE augmentaient le temps de gestation chez la rate et la souris en absence de toxicité maternelle. Marty et Loch-Caruso (1998) ont testé l'hypothèse, sans succès, que cet effet pourrait être la conséquence d'une inhibition des jonctions communicantes de la musculature lisse du myomètre.

DEGEE

L'effet du DEGEE sur le développement a été étudié en administrant par gavage des doses de 0, 300, 1 000 et 2 000 mg/kg/j à des femelles gestantes, du 6^e au 17^e jour de gestation (Gattefossé, rapport non publié, 2001 et 2002). Les animaux ont été euthanasiés au 20^e jour. Le nombre d'implantations utérines était légèrement plus faible chez le groupe ayant reçu la dose de 300 mg/kg/j. Cette diminution est vraisemblablement liée à une augmentation accidentelle de pertes pré-implantatoires. En effet, les données pré-implantatoires étaient comparables chez les animaux traités à plus forte dose (1 000 et 2 000 mg/kg/j) et chez les animaux témoins (non traités). Aucune

modification du poids foetal, du nombre de foetus vivants et du *sex-ratio* n'a été observée. Bien qu'aucune malformation ne soit rapportée, une augmentation de retard d'ossification, principalement des os du crâne, a été constatée aux doses de 1 000 et 2 000 mg/kg/j. Une légère toxicité maternelle est présente à la dose de 2 000 mg/kg/j ; elle est caractérisée par une réduction de consommation alimentaire et par un gain de poids. Selon les auteurs du rapport, la NOAEL est de 1 000 mg/kg/j pour la toxicité maternelle et de 300 mg/kg/j pour le développement.

DEGDME

Une étude a été réalisée chez le rat (Driscoll et coll., 1998) en administrant par inhalation du DEGDME à des rats femelles, 6 h par jour, du 7^e au 16^e jour de gestation, à des doses de 0, 25, 100 et 400 ppm. Une foetotoxicité, constatée par une diminution du poids foetal, a été observée à partir de 100 ppm, la dose de 400 ppm entraînant une mortalité foetale totale. À la dose de 25 ppm, l'incidence de variations (retards d'ossification et côtes supplémentaires) augmente.

PGME

Carney et coll (1999) ont exposé des rates Dawley adultes pendant la gestation et la lactation à des vapeurs de PGME (contenant 2 % de l'isomère minoritaire bêta), 6 h par jour et 7 jours par semaine, à des doses de 0, 300, 1 000 et 3 000 ppm (correspondant à 0, 396, 1 325 et 3 974 mg/kg/j respectivement). Aucun effet sur le déroulement de la gestation, de la viabilité et de l'intégrité de la progéniture n'a été observé pour chacune des doses administrées. Seul un retard pubertaire a été constaté (retard dans l'ouverture vaginale et dans la séparation du prépuce) pour la dose de 1 000 ppm en présence de toxicité maternelle.

Cette concentration en PGME (1 325 mg/kg/j) correspond à une dose de 26 mg/kg/j en isomère minoritaire bêta. Le MPA (acide méthoxypropionique), métabolite acide produit par l'isomère minoritaire bêta du PGME, a été administré par gavage à des lapines gestantes entre le 7^e et le 19^e jour de gestation et à des doses de 0, 10, 26, et 78 mg/kg/j (Carney et coll., 2003). À la dose de 78 mg/kg/j, une augmentation des résorptions foetales et des malformations (essentiellement des fusions des côtes) a été constatée en présence de toxicité maternelle importante. La NOAEL a été établie à 26 mg/kg/j.

En conclusion, depuis 1999, le mécanisme de toxicité testiculaire des éthers de glycol a été approfondi, en particulier, le processus d'apoptose de la lignée germinale et le processus d'intervention de la cellule de Sertoli dans ce der-

nier. Les seuls indices d'une possible toxicité testiculaire du DEGBE provenaient d'une étude datant de 1948 alors que des rapports ultérieurs de l'industrie ne l'ont jamais confirmée. L'étude récente de Johnson et coll. (2005) montre une absence de toxicité testiculaire du DEGBE.

Les études qui avaient été réalisées dans le passé avec le DEGEE, certaines datant de 1942, ne permettaient pas d'aboutir à des conclusions significatives quant aux effets testiculaires. Le rapport communiqué par la société Gattefossé met en évidence une absence de toxicité testiculaire, y compris à des doses relativement élevées.

L'étude de Valentine et coll. (1999) concernant le DEGDME ne fait que confirmer les études antérieures montrant une toxicité testiculaire. Aucune NOAEL n'a pu être calculée et en tout état de cause elle se situe en dessous de 110 ppm pour une absorption par inhalation.

L'étude de Gill et coll. (1998) sur le TEGME confirme les données non publiées de l'industrie, analysées dans l'expertise Inserm de 1999, qui signalaient un effet testiculaire. Cette étude propose une NOAEL de 0,4 g/kg/j.

Concernant le PGME, Lemazurier et coll. (2005) montrent des effets testiculaires pour l'isomère minoritaire (1PG2ME) et la NOAEL est établie à 11,5 mg/kg/j.

Aucun effet sur les gonades femelles n'a été observé en relation avec le DEGBE, le DEGDME et le TEGME. Quant à l'isomère bêta du PGME, la diminution de la taille des portées des femelles exposées pourrait être expliquée, selon les auteurs, par des pertes implantatoires et non pas par une atteinte des gonades.

En ce qui concerne les effets au cours de la gestation et du développement, quelques études ont apporté des informations sur le mécanisme d'induction de certaines malformations induites par l'EGME/MAA et suggèrent l'intervention de processus apoptotiques à des moments précis du développement. Pour le DEGEE, une étude a montré une absence d'effet notoire sur le développement avec une NOAEL à 300 mg/kg/j basée sur l'apparition de retards d'ossification. Des travaux relatifs au DEGDME ont validé les résultats antérieurs montrant une toxicité sur le développement. Concernant le PGME, Carney et coll. (1999) confirment que les effets délétères sur le développement sont confinés à l'isomère minoritaire bêta.

BIBLIOGRAPHIE

AMBROSO JL, STEDMAN DB, ELSWICK BA, WELSCH F. Characterization of cell death induced by 2-ME in CD-1 mouse embryos on gestation day 8. *Teratology* 1998, 58 : 231-240

BARONE F, AGUANNO S, D'ALESSIO A, D'AGOSTINO A. Sertoli cell modulates MAA-induced apoptosis of germ cells throughout voltage-operated calcium channels. *FASEB* 2004, **18** : 353-354

BERGER T, MILLER MG, HORNER CM. *In vitro* fertilization after *in vivo* treatment of rats with three reproductive toxicants. *Reprod Toxicol* 2000, **14** : 45-53

CARNEY EW, CRISSMAN JW, LIBERACKI AB, CLEMENTS CM, BRESLIN WJ. Assessment of adult and neonatal reproductive parameters in Sprague-Dawley rats exposed to PGME vapors for two generations. *Toxicol Sci* 1999, **50** : 249-258

CARNEY EW, POTTENGER LH, JOHNSON KA, LIBERACKI AB, TORNESI B, et coll. Significance of 2-MPA formed from 2PG1ME : integration of pharmacokinetic and developmental toxicity assessments in rabbits. *Toxicol Sci* 2003, **71** : 217-228

CHUNG WG, PARK CS, LEE KH, ROH HK, CHA YN. Decreased formation of ethoxyacetic acid from EGEE and reduced atrophy of testes in male rats upon combined administration with toluene and xylene. *Toxicol Lett* 1999, **104** : 143-150

DRISCOLL CD, VALENTINE R, STAPLES RE, CHROMEY NC, KENNEDY GL JR. Developmental toxicity of diglyme by inhalation in the rat. *Inhalation Drug Chem Toxicol* 1998, **21** : 119-136

ECETOC WORKING GROUP. The Toxicology of Glycol Ethers and its Relevance to Man. Technical Report 64. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, Bruxelles, 1995

FOSTER PM, CREASY DM, FOSTER JR, THOMAS LV, COOK MW, GANGOLLI SD. Testicular toxicity of ethylene glycol monomethyl and monoethyl ethers in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983, **69** : 385-399

GATTEFOSSÉ. Reproduction/development toxicity test: fertility study - segment I, 2001. Rapport non publié

GATTEFOSSÉ. Reproduction/development toxicity test: embryofetal development study - segment II, 2002. Rapport non publié

GILL MW, FOWLER EH, GINGELL R, LOMAX LG, CORLEY RA. Suchronic dermal toxicity and oral neurotoxicity of triethylene glycol monomethyl ether in CD rats. *Int J Toxicol* 1998, **17** : 1-22

GREENE JA, SLEET RB, MORGAN KT, WELSCH F. Cytotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in the forelimb bud of the mouse embryo. *Teratology* 1987, **36** : 23-34

INSERM. Ethers de Glycol : Quels risques pour la santé ? Expertise collective Inserm, Éditions Inserm, Paris, 1999

JANSEN MS, NAGEL SC, MIRANDA PJ, LOBENHOFER EK, AFSHARI CA, MCDONNELL DP. Short-chain fatty acids enhance nuclear receptor activity through mitogen-activated protein kinase activation and histone deacetylase inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, **101** : 7199-7204

JINDO T, WINE RN, LI LH, CHAPIN RE. Protein kinase is central to rat germ cell apoptosis induced by methoxyacetic acid. *Toxicol Pathol* 2001, **29** : 607-616

JOHNSON KA, BAKER PC, KAN HL, MAURISSEN JP, SPENCER PJ, MARTY MS. Diethylene glycol monobutyl ether (DGBE): two- and thirteen-week oral toxicity studies in Fisher 344 rats. *Food Chem Toxicol* 2005, **43** : 467-481

KIDO T, NAMIKI H. Expression of testicular fatty acid-binding protein PERF 15 during germ cell apoptosis. *Develop Growth Differ* 2000, **42** : 359-366

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

LEE KP, KINNEY LA, VALENTINE R. Comparative testicular toxicity of bis(2-methoxyethyl) ether and 2-methoxyethanol in rats. *Toxicology* 1989, **59** : 239-258

LEMAZURIER E, LECOMTE A, ROBIDEL F, BOIS F. Commercial propylene glycol monomethyl ether through drinking water: a 3-generational study focusing on isomer beta on reproductive and developmental parameters in rat. *Toxicol Indus Health* 2005 (sous presse)

MARTY MS, LOCH-CARUSO R. 2-methoxyethanol inhibits gap junctional communication in rat myometrial myocytes. *Cell Biol Toxicol* 1998, **14** : 199-210

MATZUI H, TAKAHASHI M. A novel quantitative morphometry of germ cells for the histopathological evaluation of rat testicular toxicity. *J Toxicol Sci* 1999, **24** : 17-25

PUSCH W, BALVERS M, WEINBAUER GF, IVELL R. The rat endozepine-like peptide gene is highly expressed in late haploid stages of male germ cell development. *Biol Reprod* 2000, **63** : 763-768

RAO AVS, SHAHA C. N-acetylcysteine prevents MAA induced male germ cell apoptosis: role of glutathione and cytochrome c. *FEBS Letters* 2002, **527** : 133-137

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

SYED V, HECHT NB. Rat pachytene spermatocytes down-regulate a Polo-like kinase and up-regulated a thiol-specific antioxidant protein, whereas sertoli cells down-regulate a phosphodiesterase and up-regulated an oxidative stress protein after exposure to methoxyethanol and methoxyacetic acid. *Endocrinology* 1998, **139** : 3503-3511

TIRADO OM, MARTINEZ ED, RODRIGUEZ OC, DANIELSEN M, SELVA DM, et coll. Methoxyacetic acid dysregulation of androgen receptor and androgen-binding protein expression in adult rat testis. *Biol Reprod* 2003, **68** : 1437-1446

TIRADO OM, SELVA DM, NORAN T, SUAREZ-QUIAN CA, JANSEN M, et coll. Increased expression of estrogen receptor B in pachytene spermatocytes after short-term methoxyacetic acid administration. *J Androl* 2004, **25** : 84-94

VALENTINE R, O'NEILL AJ, LEE KP, KENNEDY GL JR. Subchronic inhalation toxicity of diglyme. *Food Chem Toxicol* 1999, **37** : 75-86

WANG W, CHAPIN RE. Differential gene expression detected by suppression subtractive hybridisation in the EGME induced testicular lesion. *Toxicol Sci* 2000, **56** : 165-174

WANG W, WINE RN, CHAPIN RE. Rat testicular Src: normal distribution and involvement in EGME induced apoptosis. *Tox Appl Pharmacol* 2000, **163** : 125-134

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

YOON CY, HONG CM, SONG JY, CHO YY, CHOI KS, et coll. Effect of ethylene glycol monoethyl ether on the spermatogenesis in pubertal and adult rats. *J Vet Sci* 2001, **2** : 47-51

YU IJ, LEE JY, CHUNG YH, KIM KJ, HAN JH, et coll. Coadministration of toluene and xylene antagonized the testicular toxicity but not the haematopoietic caused by EGME in Sprague Dawley rats. *Toxicol Lett* 1999, **109** : 11-20