

Synthèse

Ether méthylique de l'éthylène glycol (EGME) et isomère α de l'éther méthylique du propylène glycol (2PG1ME): deux générations d'éther de glycol pour les mêmes effets délétères sur la reproduction et le développement.

Ethylene glycol methyl ether (EGME) and α isomer of propylene glycol methyl ether (PGME): two generations of glycol ethers, same adverse effects on reproduction and development.

Emmanuel Lemazurier, Luc Multigner^(a), Anthony Lecomte, Franck Robidel, Frédéric Y. Bois

Laboratoire de Toxicologie expérimentale, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

(a) GERM-INSERM U.435 Université de Rennes I Campus de Beaulieu

Correspondance et tirés à part : Emmanuel Lemazurier, INERIS, Parc technologique ALATA, BP 2, 60550 Verneuil en Halatte ; tel : 03 44 55 62 64, fax 03 44 55 66 05, E-mail : emmanuel.lemazurier@ineris.fr.

Résumé

Les éthers de glycol sont des solvants amphiphiles largement utilisés pour des applications industrielles ou domestiques. Leurs effets toxiques sur la reproduction et le développement des mammifères a été largement étudiés et des recommandations voire des interdictions concernant leur utilisation ont été édictées. Cependant, cette famille de produits présente des différences structurales importantes entraînant des comportements variés quant à leur métabolisme et leurs effets toxiques. Nous nous proposons dans cette revue de faire un point sur les connaissances des effets délétères sur la reproduction et le développement des Mammifères de deux éthers de glycol de générations différents : l'éther méthylique de l'éthylène glycol (EGME), appartenant à la série éthylénique (ancienne) des éthers de glycol, et l'isomère α de l'éther méthylique du propylène glycol (PGME), appartenant à une nouvelle famille d'éthers propyléniques. Alors que l'altération de la spermatogenèse et l'effet tératogène de l'EGME sont bien établis, les effets du PGME réclament un certain nombre d'études complémentaires, notamment en ce qui concerne les différences entre l'isomère α et l'isomère β .

Summary

Glycol ethers are amphiphilic solvents widely used in industrial and domestic applications. Their toxicological effects on mammal reproduction and development have been widely studied, and advises or even prohibitions concerning their used have been published. This family of products shows large structural differences leading to different patterns of metabolism and toxicity. We review here the disruption effects of two glycol ethers of different generations on reproduction and development: ethylene glycol monomethyl ether (EGME), part of the older ethylenic series of glycol ethers, and propylene glycol monomethyl ether (PGME), part of the newer propylenic series. While spermatogenesis alteration and teratogenic effects of EGME are well established, the effects of PGME ask for complementary studies, particularly on the differences between α and β isomers.

Introduction

Les éthers de glycol sont des solvants oxygénés dont l'usage s'est largement développé ces trente dernières années. Ils constituent une famille variée de plus de 30 substances différentes réparties entre ceux dérivés de l'éthylène glycol et ceux dérivés du propylène glycol. Leur caractère amphiphile leur confère une grande miscibilité dans l'eau et dans de nombreux solvants organiques. De plus, leur faible toxicité aiguë, comparée à celle de la plupart des solvants organiques, a favorisé leur présence dans de nombreuses préparations à usage industriel ou domestique tels que les peintures, encres, vernis, teintures, produits de nettoyage, savons liquides, cosmétiques ou certaines formulations pharmaceutiques.

Depuis la première publication de Nagano en 1979 [1], de nombreuses études réalisées chez l'animal de laboratoire ont montré que des éthers de glycol dérivés de l'éthylène glycol (principalement l'éther méthylique ou EGME) présentaient des effets adverses sur la reproduction et le développement (revues dans [2]). Cependant, tous les éthers de glycol ne présentent pas le même niveau de toxicité, celle-ci étant liée au métabolisme, lui-même variable selon l'éther de glycol considéré.

Les éthers de glycol sont modérément volatiles mais possèdent un excellent pouvoir de pénétration cutanée. La publication dans les années mille neuf cent quatre-vingt de travaux expérimentaux montrant la toxicité de deux éthers de glycol dérivés de l'éthylène glycol (l'éther méthylique ou EGME et l'éther éthylique ou EGEE) a conduit le Conseil des Communautés Européennes à arrêter une directive imposant des restrictions d'usage et de marché pour ces deux éthers de glycol et leurs acétates. En France, trois arrêtés et deux décisions de 1997, 1998, et 1999 ont interdit leur utilisation dans les produits à usage domestique, dans les cosmétiques et les médicaments. D'autres éthers de glycol ont récemment été classés comme toxique pour la reproduction. C'est le cas de l'éthylène glycol diméthyl éther (EGDME, catégorie 2), du diéthylène glycol monométhyl éther (DEGME,

catégorie 3), du diéthylène glycol diméthyl éther (DEGDME, catégorie 2), du triéthylène glycol diméthyl éther (TEGDME, catégorie 2) et également de l'isomère β du PGME (Catégorie 2).

Nous présentons ici un point sur les connaissances de la toxicité de l'EGME et du 2PG1ME vis-à-vis de la reproduction et du développement. Le premier, parce qu'il est aujourd'hui interdit dans les produits à usage domestique, dans les cosmétiques et les médicaments mais qu'il reste, avec l'EGEE, une référence comme toxique de la reproduction et le développement [3; 4]. Le second parce qu'en se substituant à l'EGME, il est devenu le produit phare de la 2^{ème} génération des éthers de glycol et de la série propylénique, mais aussi parce qu'il possède une toxicité sur la reproduction et le développement des Mammifères [5] certes plus faibles que l'EGME et l'EGEE. Ceci s'explique par une différence structurale qui est la clé de la toxicité des éthers de glycol sur la reproduction et le développement : (1) la longueur de la chaîne carbonée (inversement liée à la toxicité), et (2) la présence d'un résidu alcool primaire (Figure 1). Les éthers de glycol qui possèdent un résidu alcool primaire, sont métabolisés par des alcool-déshydrogénases en leur alkoxy-acide correspondant (*e.g.*, EGME donne l'acide méthoxy acétique, MAA; EGEE donne l'acide éthoxyacétique, EAA), alors que ceux possédant un résidu alcool secondaire (*e.g.*, PGME) sont des substrats peu affines pour les alcools déshydrogénases et donc, ne forment pas de quantité suffisante de métabolites sous forme d'alkoxy-acide [6] (Figure 1). Ces métabolites de l'EGME et de l'EGEE ont été montrés comme les vrais toxiques du développement et de la reproduction issus des éthylène glycols éthers de faible poids moléculaire [3; 4]. Cependant, bien que les systèmes enzymatiques des différentes espèces étudiées et de l'homme soient qualitativement proches, il existe des différences quantitatives des activités enzymatiques tissulaires d'une espèce à l'autre [7]. A la différence des testicules de rat, les testicules humains ne présentent qu'une

faible activité alcool déshydrogénase et ne produisent ni aldéhyde, ni acide à partir des éthers de glycol.

EGME : effets sur la reproduction et le développement

La toxicité sur la fonction de reproduction est la survenue d'effets adverses sur le système de reproduction de l'un ou l'autre sexe résultant d'une exposition à des agents extérieurs. Cette toxicité peut s'exprimer au niveau des organes reproducteurs (au premier chef, les gonades), du système endocrinien associé (l'axe hypothalamo-hypophysogonadique) 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 et le transport des gamètes à l'âge adulte, le comportement sexuel, la gestation, et sur toutes autres fonctions dépendantes de l'intégrité du système reproducteur.

Effets de l'EGME sur la fertilité chez le mâle

L'EGME fait partie des toxiques testiculaires unanimement reconnus. Une littérature riche lui est consacrée, aussi bien sur la description des effets testiculaires que sur son mécanisme d'action (revue dans [8]). La haute spécificité de l'effet testiculaire de l'EGME fait qu'il peut être utilisé dans des modèles expérimentaux *in vivo* et *in vitro* pour obtenir une déplétion de la lignée germinale et étudier ainsi les interactions paracrines (actions dues à une hormone synthétisée par une cellule et agissant localement sur les cellules voisines) entre les différentes composantes cellulaires du testicule.

Etudes *in vivo*

L'ensemble des études toxicologiques réalisées *in vivo* chez l'animal de laboratoire montre, de manière cohérente, les conséquences délétères de l'EGME (et de son acétate) sur la fonction testiculaire, pouvant entraîner une diminution significative de la fertilité.

Dés 1979, Nagano *et al* [1] puis en Miller *et al* [9] ont montré que l'exposition de rats ou de souris à l'EGME par inhalation conduit à une atrophie testiculaire accompagnée d'une

atteinte préférentielle des tubules séminifères (Figure 2) chez ces 2 modèles animaux. Le poids du testicule et de l'épididyme de rats Sprague Dawley notamment sont diminués significativement, qu'ils soient traités pendant 2 semaines avec 200 mg/kg/j ou pendant 4 semaines avec 100 mg/kg/j d'EGME [3]. Dans le premier groupe, une atrophie du tubule séminifère et la présence de cellules géantes multinuclées au niveau du testicule ont été observées. Par la suite, d'autres travaux ont montré, chez le rat adulte ou prépubère, l'atteinte spécifique de la lignée germinale à l'intérieur des tubules séminifères. Ces lésions impliquent une altération de la spermatogenèse (Figure 3), entraînant une diminution de la production de spermatozoïdes [10; 11].

Dans la lignée germinale, la cible initiale et préférentielle concerne les spermatocytes au stade pachytène [12-14; 15]. En fonction de l'intensité de l'exposition, les spermatocytes leptotènes et zygotènes ainsi que les spermatides jeunes (à noyaux ronds), stades suivant et finaux de la méiose, vont, par un effet cascade, être atteints à leur tour. Tant que les cellules souches de la spermatogenèse (spermatogonies) ne sont pas atteintes, un arrêt de l'exposition au stade pachytène conduit à une réversibilité des lésions [16]. Cependant, à des niveaux d'expositions plus élevés, lorsque les spermatogonies ainsi que les spermatides plus vieilles (à noyaux allongés) sont touchées [10; 17], la réversibilité des lésions est compromise en raison d'une réduction du nombre des cellules souches tandis que l'atteinte des spermatides à noyaux allongés se traduit par une réduction de la mobilité des spermatozoïdes. Au niveau ultrastructural, les spermatocytes et les cellules de Sertoli présentent une atteinte des mitochondries, une dissolution de la membrane cellulaire, une fragmentation du réseau microtubulaire ou une condensation périphérique de la chromatine nucléaire, signes clairs de cytotoxicité. La dégénérescence des spermatides semble quant à elle consécutive à l'altération de l'association entre les cellules germinales et les cellules de Sertoli [17]. Cette cytotoxicité apparaît fortement dépendante du métabolisme de l'EGME puisque le pré-traitement par un

inhibiteur de l'alcool déshydrogénase de rats exposés à l'EGME prévient les effets testiculaires [18] suggérant un rôle des alkoxy-acides dans la genèse des lésions testiculaires. Le MAA, principal métabolite de l'EGME, reproduit d'ailleurs, chez le rat, les effets de la substance mère (atrophie des tubules séminifères, atteinte spécifique et préférentielle des spermatoocytes pachytènes).

Etudes *in vitro*

Les études *in vitro* apportent des éclaircissements quant au métabolite impliqué dans cette cytotoxicité. Elles ont montré que le MAA, et non l'EGME lui-même, induit une cytotoxicité vis à vis des spermatoocytes pachytènes identique à celle qui est observée chez l'animal entier [19]. Li *et al* [20] ont confirmé sur des cultures primaires humaines la spécificité et la sensibilité des spermatoocytes pachytènes au MAA. Le MALD (méthoxyaldéhyde, aldéhyde dérivé de l'EGME, Figure 1) génère les mêmes effets mais semble plus efficace que le MAA [21].

Effets de l'EGME sur la fertilité chez la femelle

La toxicité des éthers de glycol sur la fonction de reproduction chez la femelle non gravide a été très peu étudiée. Chez l'animal, le seul indicateur recherché a été celui de la fertilité (femelles exposées et accouplées à des mâles non exposés). Au cours de ces dernières années, des travaux se sont intéressés aux effets des éthers de glycol sur le cycle ovarien [22].

Etudes *in vivo*

Davis *et al* [22] ont montré que l'administration quotidienne de 300 mg/kg/j d'EGME par voie orale chez des rates adultes supprime, au terme de 3 à 8 jours d'exposition, le rythme du cycle ovarien sans induire d'autre effet systémique. Cet effet est accompagné d'une augmentation des taux circulants de progestérone alors que ceux de l'hormone stimulante de la folliculogénèse (FSH), de l'hormone lutéinisante (LH) et de la prolactine restent inchangés.

Au niveau histologique, une hypertrophie du corps jaune a été observée. Ces données combinées, suggèrent que les cellules lutéales ovariennes sont la cible primaire de l'EGME.

Etudes *in vitro*

In vitro, des cellules lutéales de la granulosa en cultures isolées d'ovaires après injection de gonadotropine chorionique humaine (hCG) ont été exposées au MAA après stimulation à la LH. Ce métabolite de l'EGME maintient la sécrétion de progestérone pendant 24 et 48 h par rapport au témoin où la production de progestérone diminue [22]. Il est connu que la production de progestérone est stimulée par la LH via la voie adénosine monophosphate cyclique (AMPC) [23]. Or, dans cette étude le MAA stimule la production de progestérone en absence de LH (après 24 ou 48 h) et la concentration d'AMPC ne varie pas lors du traitement. Ces travaux montrent que l'EGME (via le MAA) exerce un effet toxique sur la cellule lutéale et que la production de progestérone qui en découle est indépendante de la stimulation de l'AMPC par la LH [22]. Bolon *et al* [24] ont observé chez la souris que l'EGME et le MAA réduisent de manière significative le nombre de follicules ovariens et Berger *et al* [25] ont montré une diminution des ovocytes ovulés avec le même traitement chez le rat.

Effets de l'EGME sur le développement

Notons dès à présent que les études de toxicité sur le développement doivent tenir compte d'une éventuelle toxicité maternelle pour ne pas entraîner d'erreurs dans l'interprétation des résultats car il est difficile de dissocier cette toxicité de l'effet tératogène. D'ailleurs, une toxicité maternelle chez la femelle gravide est fréquemment rapportée comme c'est le cas pour l'EGME [26; 27]. Dans toutes les études pour lesquelles une toxicité maternelle a été observée, il est toujours noté une diminution de la prise d'aliments par la mère et/ou une diminution de la prise de poids durant la gestation. La toxicologie du développement de l'EGME a été étudiée selon deux types de protocoles :

Administration journalière pendant la durée de l'organogenèse (ou du moins dans sa plus grande partie) : dans ces travaux les doses élevées entraînent invariablement la mort de tous les fœtus : 1000 mg/kg/j chez la souris selon Nagano *et al* [27] ; 264 mg/kg/j pour le rat selon Nelson *et al* [28] ; 35,8 mg/kg/j chez le singe selon Scott *et al* [29]. Cette embryofétotoxicité est variable selon les doses et les espèces utilisées ; elle peut se manifester selon la dose par une résorption fœtale totale ou partielle.

Administration de doses uniques ou pendant un temps très court de l'embryogenèse : cette approche a pour but d'étudier les phases sensibles du développement. L'exencéphalie est induite par une administration précoce d'EGME entre G7 et G10 chez la souris [30]. Au contraire, les anomalies des extrémités sont générées par des administrations plus tardives avec un maximum d'efficacité à G11 [31]. Ce fait témoigne de données classiques concernant la formation du système nerveux et des membres.

Les malformations observées dans la plupart des études, selon des protocoles standardisés (coupe de Wilson), sont des anomalies des doigts des pattes antérieures plus que postérieures et une exencéphalie, surtout à partir de la dose de 250 mg/kg/j chez la souris [28].

Dans ce type de protocole, le groupe de Nelson [28] a exposé des rates Sprague Dawley gestantes à de l'EGME par inhalation (25 ppm, soit 33 mg/kg/j, 7 heures par jour de G7 à G13 ou de G14 à G20). Les ratons naissent et sont testés pour leur habilité neuromusculaire et leurs caractères neuropsychologiques le 10^{ème} et le 90^{ème} jour après la naissance. Lorsque les femelles ont été soumises à une atmosphère polluée de G7 à G13, on note chez le raton un échec au conditionnement d'évitement. C'est le seul test comportemental qui soit perturbé, montrant qu'un traitement chez la femelle gestante peut générer des troubles neuropsychologiques persistants chez le rat nouveau-né. Aucune perturbation n'est notée chez le raton si les femelles sont traitées entre G14 et G20. Cependant, cette étude reste non répliquée.

PGME: effets sur la reproduction et le développement

Tous les éthers de glycol n'ont cependant pas été autant étudiés que l'EGME quant à leur toxicité pour la reproduction et le développement. C'est le cas du propylène glycol méthyle éther (PGME) dont le produit commercial contient aujourd'hui au moins 97% de 1-methoxy-2-propanol (isomère α , 2PG1ME), mais également une faible proportion de l'isomère β , le 2-methoxy-1-propanol (1PG2ME). Dans certains produits commerciaux de PGME, la proportion de ce dernier pouvait atteindre 5 à 10 %.

Effets du PGME sur la fertilité chez le mâle

Un certain nombre de publications concluent à une absence d'effets testiculaires du 2PG1ME que ce soit chez le rat, la souris ou le lapin [32; 33]. Une étude de Carney *et al* [34] a consisté en l'exposition de rats mâles et femelles pendant les phases d'accouplement, de gestation et de lactation par inhalation. Une toxicité importante a été rapportée pour les parents à 3974 mg/kg/j, de PGME caractérisée par une diminution du poids, un allongement du cycle œstral, une diminution de fertilité et du poids des ovaires ainsi que des altérations histologiques de ces organes. Cette toxicité parentale est suffisante pour expliquer la diminution observée du poids et de la taille des portées. Les auteurs proposent une NOEL pour les effets sur la reproduction et les effets néonataux de 1325 mg/kg/j, et 396 mg/kg/j pour la toxicité parentale.

Effets du PGME sur la fertilité chez la femelle

Les données chez la femelle sont encore plus rares. A l'inverse, Bolon *et al* [24] n'ont pas montré d'effets délétères du PGME sur le système reproducteur de la souris femelle.

Le manque certain de données animales sur le PGME incite à la prudence quant aux conclusions à en tirer. Des études complémentaires sont encore nécessaires, notamment dans l'étude des effets de l'isomère β .

Effets du PGME sur le développement

Les études de tératologie conduites avec le 2PG1ME et le 1PG2ME purs sont souvent associées avec une forte toxicité maternelle provoquant la mort de la mère ou des signes neurologiques importants. Cette toxicité maternelle est souvent associée à une auto-restriction alimentaire et/ou une diminution du poids de la mère pendant la gestation conduisant aux retards d'ossification observés dans les portées. Ces retards peuvent donc ne pas être directement associés au produit.

Cependant, Hellwig *et al* [35] ont montré que le 1PG2ME provoque chez le lapin des morts fœtales par résorption totale ou partielle à des doses plus faibles que pour le 2PG1ME (225 ppm contre 3000 ppm, respectivement). Ces auteurs ont également observé des malformations des doigts, des côtes et du sternum avec le 1PG2ME et ont défini une NOAEL de 191 mg/kg/j et une LOAEL de 297 mg/kg/j.

Données épidémiologiques

Les études disponibles sont de qualité diverses et les effets sont souvent difficiles à attribuer aux seuls éthers de glycol en raison des co-expositions à d'autres solvants. Cependant, un ensemble de résultats concordants est en faveur de l'existence d'un lien entre l'infertilité masculine (s'entendant par la diminution de la concentration du sperme, l'oligospermie, la difficulté à concevoir un enfant) et l'exposition professionnelle à l'EGEE, l'EGME et peut être à l'un des autres éthers de glycol présents dans l'industrie des semi-conducteurs (DEGDME, 2PG1MEA).

Chez les femmes travaillant dans les secteurs les plus exposés aux éthers de glycol, des études ont rapporté des anomalies de la durée ou de la régularité des cycles menstruels ainsi qu'une diminution de la fertilité (s'entendant par un taux de fécondabilité abaissé ou des difficultés à concevoir un enfant) [36]. Les composantes historiques et prospectives des 2 études américaines menées dans l'industrie des semi-conducteurs sont concordantes pour montrer un effet de l'exposition aux éthers de glycol présents dans l'industrie sur le risque

d'avortements spontanés [37]. Le risque augmente avec le niveau d'exposition aux dérivés éthyléniques. Les études sur les malformations (anomalies multiples, anomalies du tube neural, fentes orales) sont encore peu nombreuses et contradictoires [38].

Enfin, les quelques études épidémiologiques conduites sur la relation entre l'exposition aux éthers de glycol et différents types de cancer chez l'homme (leucémies aiguës myéloïdes, cancer de l'estomac, cancer du testicule) n'apportent pas de résultats convaincants sur un effet cancérigène potentiel de ces solvants.

Références

1. Nagano K, Nakayama E, Koyano M, Oobayashi H, Adachi H, Yamada T. Testicular atrophy of micz induced by ethylene glycol mono alkyl ethers. *Sangyo Igatu-Japanese Journal of Ind Health* 1979; 21: 29-35.
2. Johanson G. Toxicity review of ethylene monomethyl ether and its acetate ester. *Critical Review of Toxicology* 2000; 30: 307-345.
3. Hardin BD. Reproductive toxicity of the glycol ethers. *Toxicology*. 1983, 27 : 91-102.
4. ECETOC. The toxicology of glycol ethers and its relevance to man. *Technical report* 1995; 64.
5. Chapin RE and Sloane RA. Reproductive assessment by continuous breeding : Evolving study design and summaries of ninety studies. *Environmental Health Perspectives* 1997; 105 (Suppl. 1): 199-205.
6. Miller RR, Carreon RE, Young JT, McKenna MJ. Toxicity of methoxyacetic acid in rats. *Fundamental Applied Toxicology* 1983 ; 2: 158-160.
7. Moslen MT, Kaphalia L, Balasubramanian H, Yin YM, Au WW Species differences in testicular and hepatic biotransformation of 2-methoxyethanol. *Toxicology*. 1995 ; 96:217-24.
8. Expertise collective INSERM. Ethers de glycol. Quels risques pour la santé. Tolbiac: Les Editions INSERM, 1999; 232p.
9. Miller RR, Ayres JA, Calhoun LL, Young JT, McKenna MJ. Comparative short-term inhalation toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and propylene glycol methyl ether in rats and mice. *Toxicology Applied Pharmacology* 1981 ; 61: 368-377.
10. Chapin RE, Dutton. SL, Ross MD, Swaisgood RR, Lamb JC. The recovery of the testis over 8 weeks after short-term dosing with ethylene glycol monomethyl ether: histology,

- cell-specific enzymes, and rete testis fluid protein. *Fundamental Applied Toxicology* 1985b ; 5: 515-525.
11. Berndtson WE, Foote RH. Disruption of spermatogenesis in rabbits consuming ethylene glycol monomethyl ether. *Reproductive Toxicology* 1997 ; 11 :29-36.
 12. Chapin RE, Lamb JC. Effects of ethylene glycol monomethyl ether on various parameters of testicular function in the F344 rat. *Environmental Health Perspective* 1984a ; 57: 219-224.
 13. Creasy DM, Foster PM. The morphological development of glycol ether-induced testicular atrophy in the rat. *Experimental Molecular Pathology* 1984 ; 40: 169-176.
 14. Creasy DM, Beech LM, Gray TJ, Butler WH. An ultrastructural study of ethylene glycol monomethyl ether-induced spermatocyte injury in the rat. *Experimental Molecular Pathology* 1986 ; 45: 311-322.
 15. Watanabe A, Nakano Y, Endo T, Sato N, Kai K, Shiraiwa K. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 27). Repeated toxicity study on ethylene glycol monomethyl ether for 2 and 4 weeks to detect effects on male reproductive organs in rats. *Journal of Toxicological Science* 2000 ; 25: 259-266.
 16. Foster PM, Creasy. DM, Foster JR, Thomas LV, Cook MW, Gangolli SD. Testicular toxicity of ethylene glycol monomethyl and monoethyl ethers in the rat. *Toxicology Applied Pharmacology* 1983 ; 69: 385-399.
 17. Lee KP, Kinney LA. The ultrastructure and reversibility of testicular atrophy induced by ethylene glycol monomethyl ether (EGME) in the rat. *Toxicological Pathology* 1989 ; 17: 759-773.

18. Moss EJ, Thomas LV, Cook MW, Walters DG, Foster PM *et al.* «The role of metabolism in 2-methoxyethanol-induced testicular toxicity.» *Toxicology Applied Pharmacology* 1985 ; 79: 480-489.
19. Ku WW, Chapin RE. Spermatocyte toxicity of 2-methoxyethanol in vivo and in vitro: requirement for an intact seminiferous tubul structure for germ cell degeneration. *Toxicology in Vitro* 1994 ; 8: 1191-1202.
20. Li LH, Wine RN, Chapin RE. 2-methoxyacetic acid (MAA)-induced spermatocyte apoptosis in human and rat testes: an in vitro comparison. *Journal of Andrology* 1996 ; 17: 538-549.
21. Foster PM, Blackburn. DM, Moore RB, Lloyd SC. Testicular toxicity of 2-methoxyacetaldehyde, a possible metabolite of ethylene glycol monomethyl ether, in the rat. *Toxicological Letter* 1986 ; 32: 73-80.
22. Davis BJ, Almekinder JL, Flagler N, Travlos G, Wilson R, Maromlot RR. Ovarian luteal cell toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and methoxy acetic acid in vivo and in vitro. *Toxicology Applied Pharmacology* 1997 ; 142: 328-337.
23. Richards JS, Sehgal N, Tash JS. Changes in content and cAMP-dependent phosphorylation of specific proteins in granulosa cells of preantral and preovulatory ovarian follicles and in corpora lutea. *Journal of Biological Chemistry*. 1983, 258 : 5227-5232.
24. Bolon B, Bucci TJ, Warbritton AR, Chen JJ, Mattison DR, Heindel JJ. Differential follicle counts as a screen for chemically induced ovarian toxicity in mice: results from continuous breeding bioassays. *Fundamental Applied Toxicology* 1997 ; 39: 1-10.
25. Berger T, Miller MG, Horner CM. In vitro fertilization after in vivo treatment of rats with three reproductive toxicants. *Reproduction Toxicology* 2000**14**: 45-53.

26. Wickramaratne. The teratogenic potential and dose response of dermally administered ethylene glycol monomethyl ether (EGME) estimated in rats with the Chernoff-Kavlock assay. *Journal of Applied Toxicology* 1986 ; 6: 165-166.
27. Nagano K, Nakayama E, Oobayashi H, Yamada T, Adachi H, *et al.* Embryotoxic effects of ethylene glycol monomethyl ether in mice. *Toxicology* 1981 ; 20: 335-343.
28. Nelson BK, Brightwell WS. Behavioral teratology of ethylene glycol monomethyl and monoethyl ethers. *Environmental Health Perspectives* 1984 ; 57: 43-46.
29. Scott WJ, Fradkin R, Wittfoht W, Nau H. Teratologic potential of 2-methoxyethanol and transplacental distribution of its metabolite, 2-methoxyacetic acid, in non-human primates. *Teratology* 1989 ; 39: 363-373.
30. Horton VL, Sleet RB, John Greene JA, Welsch F. Developmental phase-specific and dose-related teratogenic effects of ethylene glycol monomethyl ether in CD-1 mice. *Toxicology Applied Pharmacology* 1985 ; 80: 108-118.
31. Sleet RB, Welsch F, Myers CB, Marr MC. Developmental phase specificity and dose-response effects of 2-methoxyethanol in rats. *Fundamental Applied Toxicology* 1996 ; 29(131-139).
32. Doe JE, Samuels DM, Tinston DJ, de Silva Wickramaratne GA. Comparative aspects of the reproductive toxicology by inhalation in rats of ethylene glycol monomethyl ether and propylene monomethyl ether. *Toxicological Applied Pharmacology*. 1983, 69 : 43-47.
33. Landry TD, Gushow TS, Yano BL. Propylene glycol monomethyl ether : a 13 week inhalation toxicity study in rats and rabbits. *Fundamental Applied Toxicology*. 1983, 3 : 627-630.
34. Carney EW, Crissman JW, Liberacki AB, Clements CM, Breslin WJ. Assessment of adult and neonatal reproductive parameters in Sprague-Dawley rats exposed to propylene glycol monomethyl ether vapors for two generations. *Toxicological Science* 1999 ; 50:249-58.

35. Hellwig J, Klimisch HJ, Jackh R Prenatal toxicity of inhalation exposure to 2-methoxypropanol-1 in rabbits. *Fundamental Applied Toxicology* 1994 ; 23:608-13.
36. Chen PC, Hsieh GY, Wang JD, Cheng TJ Prolonged time to pregnancy in female workers exposed to ethylene glycol ethers in semiconductor manufacturing. *Epidemiology* 2002 ; 13:191-6.
37. Correa A, Gray RH, Cohen R, Rothman N, Shah F, Seacat H, Corn M Ethylene glycol ethers and risks of spontaneous abortion and subfertility. *American Journal of Epidemiology* 1996 ; 143:707-17.
38. Cordier S, Bergeret A, Goujard J, Ha MC, Ayme S, Bianchi F, *et al.* Congenital malformation and maternal occupational exposure to glycol ethers. Occupational Exposure and Congenital Malformations Working Group. *Epidemiology* 1997 ; 8:355-63.

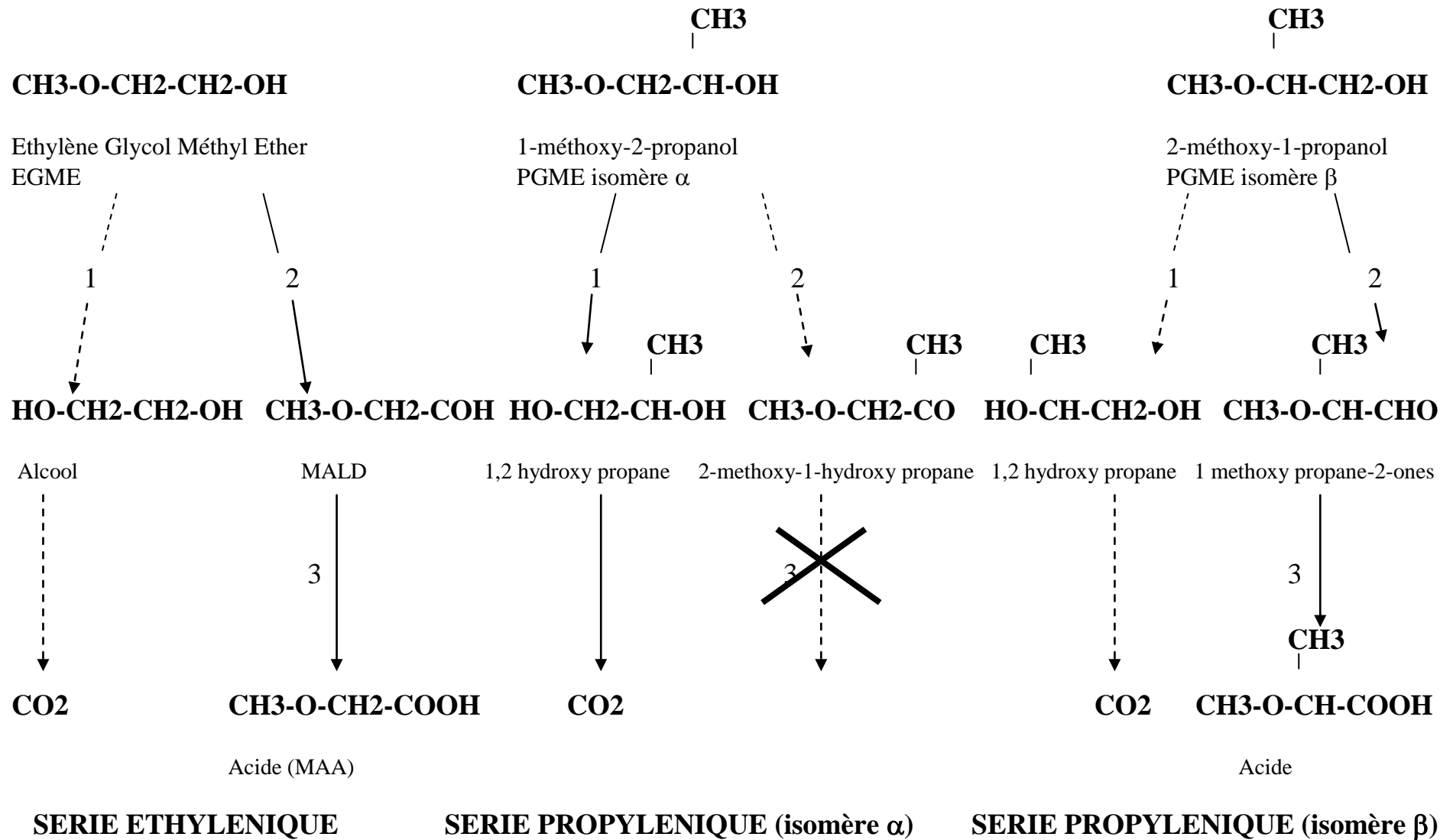


Figure 1 : Formules développées et métabolisme des éthers de glycol de série éthylénique (EGME) et propylénique (PGME) avec les principales étapes et les principaux métabolites intermédiaires et finaux.

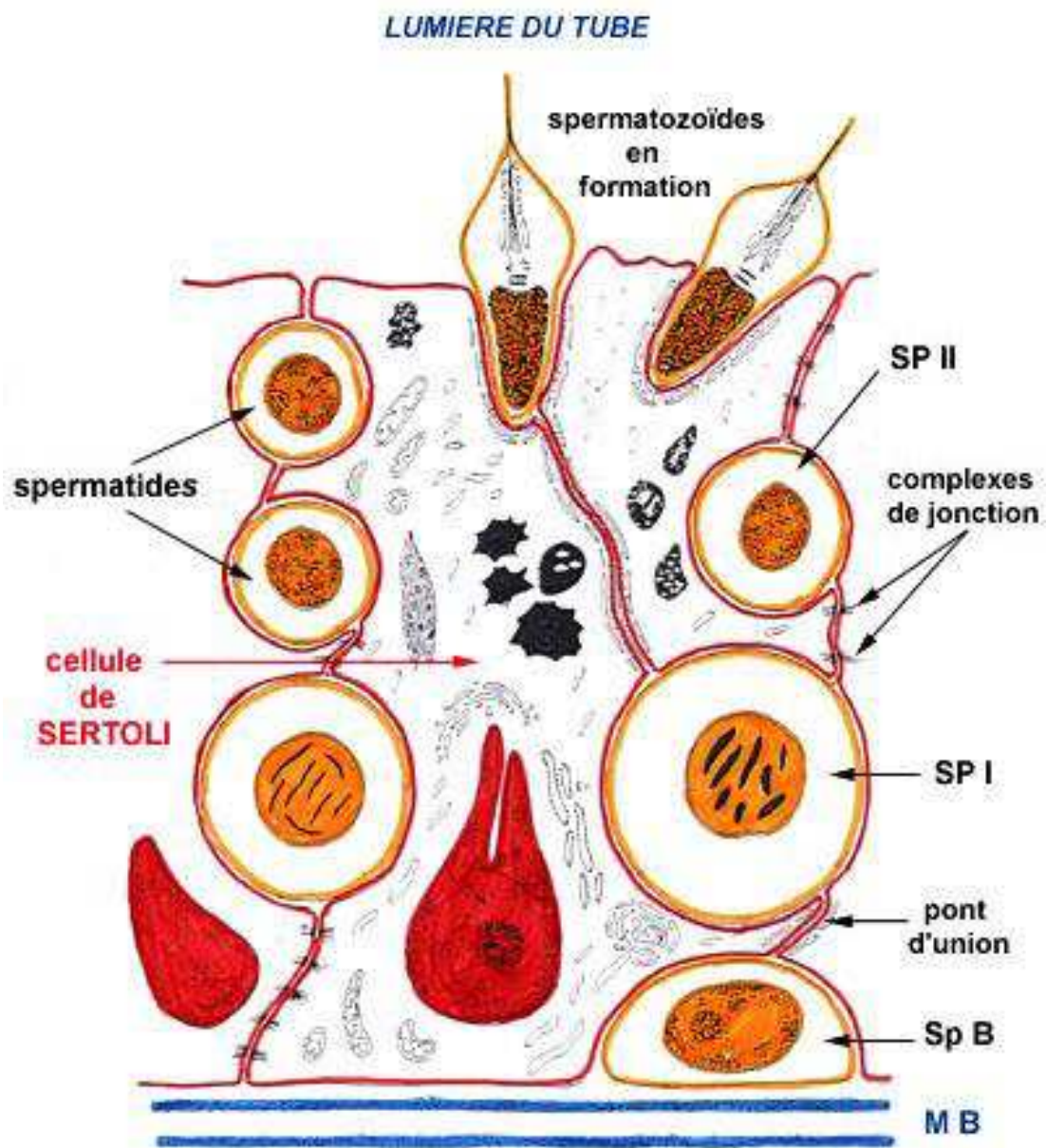


Figure 2: Structure du tubule séminifère, limitée à sa base par la membrane basale (MB) et à son apex par la lumière du tubule. Ce tubule est constitué d'une cellule spécialisée, la cellule de Sertoli, ayant notamment les fonctions de soutien, de protection et nutritive des cellules germinales. Ces cellules germinales possèdent différentes figures évolutives parmi lesquels les spermatogonies B (Sp B), les spermatocytes I et II (Sp I et Sp II), les spermatides et les spermatozoïdes. D'après <http://cri-cirs-wnts.univ-lyon1.fr/Polycopies>

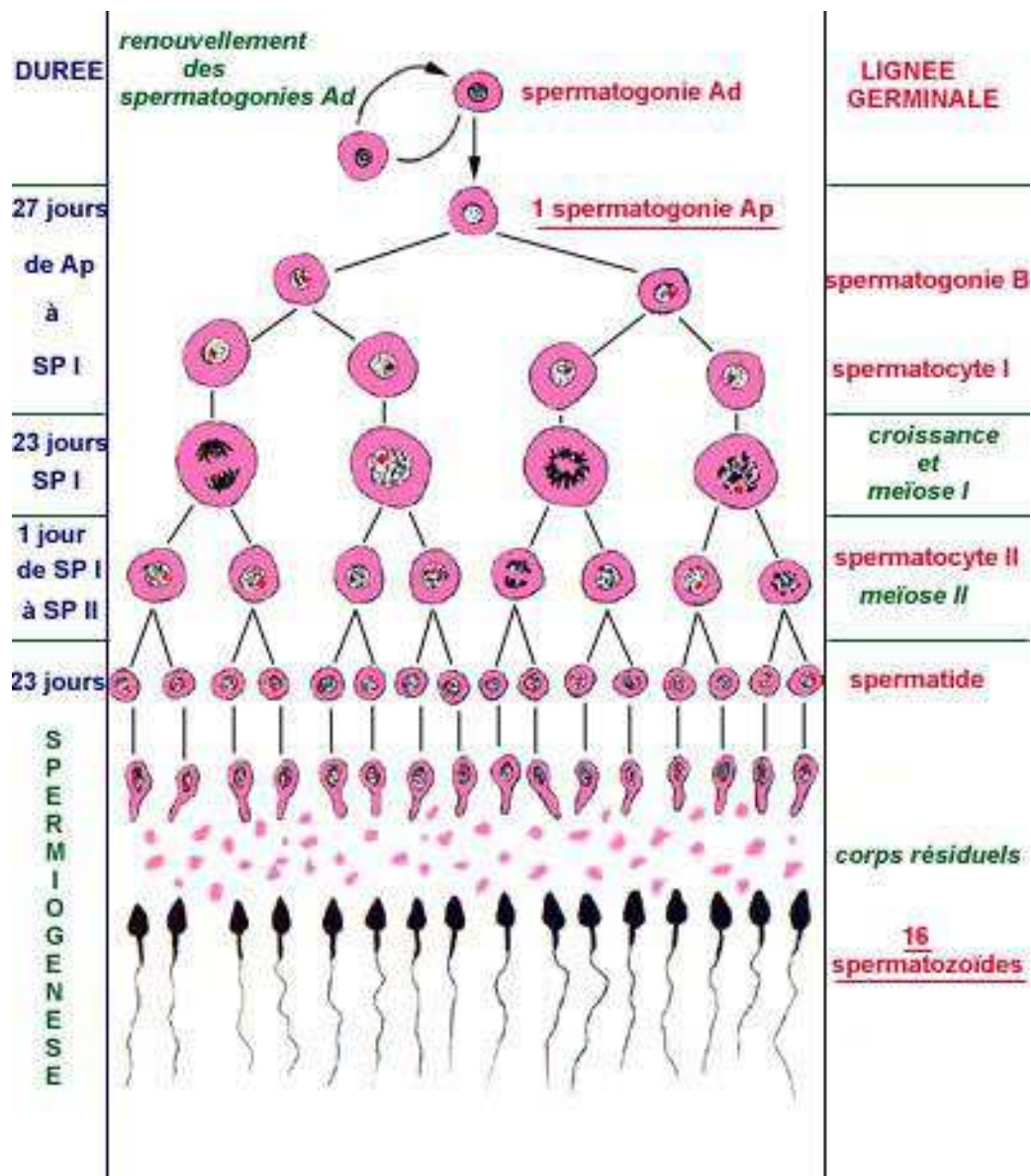


Figure 3: Les différentes figures évolutives de la spermatogénèse chez l'homme. A partir de la division des cellules souches, spermatogonies, vont se distinguer une spermatogonie à chromatine dense (Ad) et une spermatogonie à chromatine pâle (Ap). Cette dernière est la cellule initiale de la spermatogénèse. Elle se divise en 2 spermatogonies de type B. S'ensuit des phénomènes de croissance et de méiose aboutissant à la formation des spermatocytes I et I (Sp I et Sp II) et des spermatides. Un processus de différenciation se met alors en place: c'est la spermiogénèse qui va permettre la formation des spermatozoïdes à partir des spermatides.

D'après <http://cri-cirs-wnts.univ-lyon1.fr/Polycopies/>