

6

Hématotoxicité chez l'animal

La toxicité hématologique des éthers de glycol a été largement étudiée dans des modèles animaux, où ont été principalement observées : hémolyse, déplétion lymphocytaire, responsable d'immunosuppression, et toxicité sur les progéniteurs myéloïdes de la moelle osseuse (tableau 6.1). Elle a été jusqu'ici essentiellement observée avec les dérivés de l'éthylène glycol. Les dérivés du propylène glycol, dans les modèles animaux utilisés jusqu'ici, n'ont pas entraîné de toxicité sur les cellules sanguines et leurs précurseurs. Le type de toxicité hématologique principal (hémolyse, immunodépression ou toxicité sur la moelle osseuse) est variable selon le produit et dépend essentiellement de la longueur de la chaîne alkyl.

Tableau 6.1 : Hématotoxicité des éthers de glycol chez l'animal

Ethers de glycol	Effets
EGME	Hypoplasie cellulaire Diminution des progéniteurs, en particulier granulocytes : leucopénie et neutropénie Effet immunosuppresseur par déplétion lymphocytaire
EGEE	Hypoplasie cellulaire Diminution des progéniteurs, en particulier granulocytes : leucopénie et neutropénie
EGBE	Hémolyse
EGnPE(A)	Hémolyse chez le rat
EGiPE	Hémolyse chez le rat
EGPhE	Hémolyse chez le lapin

Hémolyse

Les tableaux d'hémolyse (Barbee et coll., 1984 ; Grant et coll., 1985 ; Breslin et coll., 1991 ; Boiron, 1991 ; Ghanayem, 1996) observés dans des modèles animaux ayant reçu, par voie orale, intraveineuse, par inhalation et par voie transcutanée des dérivés d'éther de glycol sont, dans toutes les publications, une hémolyse intravasculaire avec anémie régénérative (augmentation du taux de réticulocytes et parfois érythroblastose sanguine), chute du taux d'haptoglobine sanguine, hémoglobinurie. Cette hémolyse est précédée par

une augmentation du volume des globules rouges, se traduisant par une augmentation du volume globulaire moyen (VGM). Elle est associée à des déformations des hématies : stomatocytose, sphérocytose, puis aspects de fragmentation cellulaire (schizocyte, *ghost cells*). En fonction de l'importance de l'hémolyse, des conséquences viscérales sont observées : nécrose tubulaire rénale, nécrose hépatique. Il peut exister par ailleurs, comme dans toute hémolyse, une splénomégalie.

D'une façon générale, les dérivés à chaîne alkyl longue sont plus hémolysants que les dérivés à chaîne alkyl courte. On peut donc noter, pour l'hémolyse : EGBE > EGnPE, EGiPE, EGPhE >> EGEE, EGME (Ghanayem et coll., 1989 ; Dieter et coll., 1990). Des NOAEL (*no observed adverse effect level* – concentration ou dose d'éther de glycol la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est observé) ont été déterminés pour l'EGBE, l'EGnPE, l'EGiPE (tableau 6.II). Des effets hémolysants ont été rapportés avec le DEG-
BEA dans une publication ancienne (Draize et coll., 1944, 1948)

Tableau 6.II : NOAEL déterminés dans la littérature

Ether de glycol	Espèce	Voie	NOAEL	Référence	
EGBE	Rat	Intraveineuse	Hémolyse	Bartnik et coll., 1987 NTP 1992 Wilresearch laboratories Inc 1993	
		Dose unique	62,5 mg/kg		
		Orale	129 mg/kg/j		
		Cutanée	150 mg/kg/j		
EGnPE	Rat	Orale (gavage)	Hémolyse	Katz et coll., 1984	
		5 j/sem, 6 sem	195 mg/kg		
		5 j/sem, 11 j	200 ppm		
EGiPE	Rat	Inhalation	Hémolyse	Reuzel et coll., 1987 Gage, 1970 ; Arts et coll., 1992	
			6 h/j, 28 j		30 ppm
			6 j/j, 3 j/sem,		100 ppm
			3 sem		
DEGME	Rat	Orale 20 j	Déplétion lymphocytaire thymique 500 mg/kg/20j	Kawamoto et coll., 1990	

L'effet hémolytique des dérivés de l'éthylène glycol, en particulier de l'EGBE, dépend de la dose de produit, de l'espèce animale, et, au sein d'une même espèce, de l'âge des animaux. Il existe également un effet « durée d'exposition ». La sensibilité à l'hémolyse est plus importante chez les rongeurs que chez les lagomorphes et faible chez les primates, les carnivores et les marsupiaux. L'hémolyse est importante chez les rats, souris, hamsters, lapins et babouins, et faible chez les chats, chiens, cochons, cobayes et chez l'homme (Ward et coll., 1992 ; Ghanayem et Sullivan, 1993). D'une façon générale, et ceci est observé en particulier chez le rat, les animaux âgés sont plus sensibles à l'effet hémolytique (Ghanayem et coll., 1987). Dans le cas des rats intoxiqués par l'EGBE, le rôle de l'âge semble lié essentiellement à une diminution chez les rats âgés du catabolisme du BAA, métabolite de l'EGBE responsable

de son effet hémolytique, ainsi qu'à une diminution de son expression urinaire. L'effet d'une exposition prolongée aux dérivés de l'éthylène glycol a été étudié pour les expositions prolongées à l'EGBE (Ghanayem et coll., 1992). Dans ce cas, on observe après quelques jours une diminution de l'intensité de l'hémolyse. Cette diminution semble liée au fait que les hématies âgées sont plus susceptibles que les hématies plus jeunes à l'hémolyse. Au bout de quelques jours d'exposition aux produits, toutes les hématies âgées ont été détruites, et ont été remplacées par des hématies jeunes, moins sensibles aux métabolites de l'EGBE.

Ce ne sont pas les substances mères qui sont responsables de l'hémolyse, mais les acides alkoxyacétiques (AAA) (Ghanayem et Sullivan, 1993 ; Ghanayem, 1996). En effet, un produit comme l'EGBE n'est pas hémolysant *in vitro*. D'autre part, l'hémolyse induite *in vivo* par l'EGBE est inhibée par un inhibiteur de l'alcool déshydrogénase qui empêche la transformation en AAA. Avant la survenue de l'hémolyse, une déplétion des hématies en ATP est observée (Ghanayem, 1989). L'inhibition de certaines enzymes notamment des déshydrogénases de la voie d'Embden Meyerhoff, de l'acétylcholine estérase et de l'ATPase membranaire a pu être observée par certains auteurs, mais ces études n'ont pas été systématisées ni reproduites (Lazewska et coll., 1993). Les anomalies morphologiques observées avant l'hémolyse (sphérocytose, stomatocytose) évoquent l'existence de lésions induites des protéines de la membrane érythrocytaire. Une anomalie de la protéine bande 3 (échangeur chlore-bicarbonates) a pu être suggérée ; on a également montré l'absence d'action de l'EGBE sur la couche bilipidique et la glycophorine A (Ghanayem, 1996). Enfin, un dernier travail a mis en évidence des anomalies du squelette membranaire par étude en IRM (Lee et coll., 1993). Les études réalisées ne permettent pas de dégager de façon précise le mécanisme de l'hémolyse liée aux éthers de glycol dans les modèles animaux.

Toxicité sur la moelle osseuse

Les travaux effectués chez les animaux (Barbee et coll., 1984 ; Krasavage, 1986 ; Hong et coll., 1988a et b ; Boiron, 1991 ; Ghanayem, 1996) montrent que les dérivés de l'éthylène glycol, principalement ceux qui ont une chaîne alkyl courte (EGME) sont responsables d'une hypoplasie médullaire qui se traduit par une hypocellularité, une diminution des progéniteurs en particulier granulocytaires (diminution des CFU-C) et érythrocytaires (diminution des BFU-E). Ces effets sont responsables de leucopénie avec neutropénie, et d'une anémie qui contrairement à l'anémie hémolytique, est non régénérative. Dans certains cas, les troubles de l'hématopoïèse ne se traduisent pas par une diminution des lignées sanguines, mais il existe une hypersensibilité de l'animal à l'irradiation, qui entraîne des cytopénies sévères pour des doses d'irradiation faibles.

À l'inverse de l'hémolyse, ce sont les dérivés de l'éthylène glycol à chaîne alkyl courte qui ont le plus de toxicité sur la moelle osseuse. Ainsi, EGME > EGEE > EGnPE tandis que l'EGBE a un effet pratiquement nul (Ghanayem, 1996). Le DEGME et le DEGDME présenteraient également une toxicité médullaire (Nagano et coll., 1984).

Le mécanisme de la toxicité sur la moelle osseuse des éthers de glycol a été très peu étudié. L'effet des AAA sur la moelle osseuse n'est pas connu. Quelques travaux ont pu montrer que les éthers de glycol pouvaient inhiber la synthèse de l'ADN et/ou entraîner des anomalies du fuseau mitotique au niveau des précurseurs médullaires. Par ailleurs, l'acétaldéhyde peut être responsable de la formation de ponts intercaténaux dans l'ADN et d'un échange de chromatides sœurs (Ghanayem, 1996). Tous ces effets sont logiquement plus importants dans les tissus à renouvellement cellulaire rapide, comme le tissu hématopoïétique médullaire.

Effets immuno-suppresseurs

Ils sont essentiellement liés à une déplétion lymphocytaire et, de façon semble-t-il moins importante, à une altération fonctionnelle des lymphocytes (Delbarre et coll., 1980 ; House et coll., 1985 ; Kayama et coll., 1991 ; Exon et coll., 1991 ; Smialowicz et coll., 1991a et b, 1992a et b, 1993 ; Kim et Smialowicz, 1997). Les travaux datent généralement de quelques années et une étude très précise des sous-populations lymphocytaires et des différentes cytokines sécrétées n'était pas encore possible.

Une atrophie de la rate et du thymus a été principalement décrite. L'atrophie thymique s'exerce principalement aux dépens des lymphocytes T du cortex, tandis que pour la rate, on note essentiellement une diminution des lymphocytes CD4+.

Sur un plan fonctionnel, une diminution des réponses mitogènes et une diminution de production d'interleukine-2 est observée dans les splénocytes. D'une façon générale, une diminution des réponses aux anticorps à des stimuli antigéniques est rencontrée dans ces modèles animaux ; il ne semble pas en revanche y avoir d'anomalie de certaines autres fonctions lymphocytaires, comme la réaction en culture mixte lymphocytaire.

Enfin, aucun déficit de la fonction NK n'est observé. Dans certaines études, une augmentation de cette activité est même rencontrée, amenant certains auteurs à suggérer que l'exposition aux éthers de glycol pourrait améliorer certaines réponses anti-tumorales.

L'effet immunosuppresseur est principalement décrit avec l'EGME, les dérivés avec chaîne alkyl plus longue ayant peu ou pas d'activité immuno-suppressive (Smialowicz et coll., 1991a et b, 1992a et b, 1993 ; Ghanayem, 1996).

les modèles animaux, d'une déplétion sélective en thymocytes matures. Des travaux (NTP 1992) rapportent également une anémie et une diminution du thymus avec l'EGEE. Un effet sur le thymus est rapporté avec le DEGME (Kawamoto et coll. 1990)

Certains auteurs ont pu suggérer que l'effet immunosuppresseur de l'EGME pourrait être utilisé à profit dans certaines pathologies dysimmunitaires, notamment rhumatismales.

Autres toxicités hématologiques

L'hématotoxicité des éthers de glycol a été jusqu'ici uniquement étudiée pour des expositions à court terme. Les effets d'une exposition à long terme ne sont pas connus. On ignore en particulier, sur les modèles animaux, s'il pourrait exister un effet leucémogène ou un effet hypoplasiant.

À l'inverse, un effet antileucémique de l'EGME, et à moindre degré de l'EGEE a pu être observé sur des modèles leucémiques murins (Hoflack et coll., 1997). Il pourrait s'agir soit d'un effet direct de l'éther de glycol sur les cellules leucémiques, soit, dans certains cas, d'un effet indirect lié à une augmentation de l'activité NK. Ces travaux restent toutefois assez peu documentés.

En conclusion, les données de la littérature permettent de conclure que des effets hémolytiques chez l'animal sont essentiellement observés pour l'EGBE, le DEGBE, l'EGnPE, l'EGiPE et l'EGPhE, ces effets étant moindres pour l'EGME et l'EGEE. Sur les lignées myéloïde et lymphoïde, ce sont au contraire l'EGME et l'EGEE qui sont les plus toxiques.

BIBLIOGRAPHIE

ARTS JHE, REUZEL PGJ, WOUTERSEN RA, KUPER CF, FALKE HE. Repeated-dose (28-day) inhalation toxicity of isopropylethylene glycol ether in rats. *Inhalation Toxicol* 1992, 4 : 43-55

BARBEE SJ, TERRIL JB, DESOUSA DJ, CONAWAY CC. Subchronic inhalation toxicology of ethylene glycol monoethyl ether in the rat and rabbit. *Environ Health Perspect* 1984, 57 : 157-163

BARTNIK FG, REDDY AK, KLECAK G, ZIMMERMANN V, HOSTYNEK JJ, KUNSTLER K. Percutaneous absorption, metabolism, and hemolytic activity of n-butoxyethanol. *Fundam Appl Toxicol* 1987, 8 : 59-70

BOIRON O. Glycol alkyl ethers as hemopoietic toxins. *Nouv Rev Fr Hematol* 1991, 33 : 541-542

BRESLIN WJ, PHILLIPS JE, LOMAX LG, BARTELS MJ, DITTENBER DA et coll. Hemolytic activity of ethylene glycol phenyl ether (EGPE) in rabbits. *Fundam Appl Toxicol* 1991, 17 : 466-481

DELBARRE F, KAHAN A, DE GERY A, KATHALIN K. Action immunomodulatrice du méthoxy-2 éthanol et de dérivés homologues chez le rat. *C R Acad Sci III* 1980, **291** : 215-218

DIETER MP, JAMESON CW, MARONPOT RR, LANGENBACH R, BRAUN AG. The chemotherapeutic potential of glycol alkyl ethers : structure-activity studies of nine compounds in a Fischer-rat leukemia transplant model. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990, **26** : 173-180

DRAIZE JH, WOODARD G AND CALVERY HO. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Therap* 1944, **82**, 377-390

EXON JH, MATHER GG, BUSSIERE JL, OLSON DP, TALCOTT PA. Effects of subchronic exposure of rats to 2-methoxyethanol or 2-butoxyethanol : thymic atrophy and immunotoxicity. *Fundam Appl Toxicol* 1991, **16** : 830-840

FAIRHURST S, KNIGHT R, MARRS TC, SCAWIN JW, SPURLOCK MS, SWANSTON DW. Percutaneous toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and of dipropylene glycol monomethyl ether in the rat. *Toxicology* 1989, **57** : 209-215

GAGE JC. The subacute inhalation toxicity of 109 industrial chemicals. *Br J Ind Med* 1970, **27** : 1-18

GHANAYEM BI, BLAIR PC, THOMPSON MB, MARONPOT RR, MATTHEWS HB. Effect of age on the toxicity and metabolism of ethylene glycol monobutyl ether (2-butoxyethanol) in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987, **91** : 222-234

GHANAYEM BI. Metabolic and cellular basis of 2-butoxyethanol-induced hemolytic anemia in rats and assessment of human risk in vitro. *Biochem Pharmacol* 1989, **38** : 1679-1684

GHANAYEM BI, BURKA LT, MATTHEWS HB. Structure-activity relationships for the in vitro hematotoxicity of N-alkoxyacetic acids, the toxic metabolites of glycol ethers. *Chem Biol Inter* 1989, **70** : 339-352

GHANAYEM BI, SANCHEZ IM, MATTHEWS HB. Development of tolerance to 2-butoxyethanol-induced hemolytic anemia and studies to elucidate the underlying mechanisms. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992, **112** : 198-206

GHANAYEM BI, SULLIVAN CA. Assessment of the haemolytic activity of 2-butoxyethanol and its major metabolite, butoxyacetic acid, in various mammals including humans. *Hum Exp Toxicol* 1993, **12** : 305-311

GHANAYEM BI. An overview of the hematotoxicity of ethylene glycol ethers. *Occup Hyg* 1996, **2** : 253-268

GRANT D, SULSH S, JONES HB, GANGOLLI SD, BUTLER WH. Acute toxicity and recovery in the hemopoietic system of rats after treatment with ethylene glycol monomethyl and monobutyl ethers. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985, **77** : 187-200

HOFLACK JC, VASSEUR P, POIRIER GG. Glycol ethers induce death and necrosis in human leukemia cells. *Biochem Cell Biol* 1997, **75** : 415-425

HONG HL, CANIPE J, JAMESON CW, BOORMAN GA. Comparative effects of ethylene glycol and ethylene glycol monomethyl ether exposure on hematopoiesis and histopathology in B6C3F1 mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1988a, **8** : 27-38

- HONG HL, SILVER M, BOORMAN GA. Demonstration of residual bone marrow effect in mice exposed to ethylene glycol monomethyl ether. *Toxicology* 1988b, **50** : 107-115
- HOUSE RV, LAUER LD, MURRAY MJ, WARD EC, DEAN JH. Immunological studies in B6C3F1 mice following exposure to ethylene glycol monomethyl ether and its principal metabolite methoxyacetic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985, **77** : 358-362
- KAWAMOTO T, MATSUNO K, KAYAMA F, HIRAI M, ARASHIDANI K, YOSHIKAWA M et coll. Acute oral toxicity of ethylene glycol monomethyl ether and diethylene glycol monomethyl ether. *Bull Environ Contam Toxicol* 1990, **44** : 602-608
- KAYAMA F, YAMASHITA U, KAWAMOTO T, KODAMA Y. Selective depletion of immature thymocytes by oral administration of ethylene glycol monomethyl ether. *Int J Immunopharmacol* 1991, **13** : 531-540
- KATZ GV, KRASAVAGE WJ, TERHAAR CJ. Comparative acute and subchronic toxicity of ethylene glycol monopropyl ether and ethylene glycol monopropyl ether acetate. *Environ Health Perspect* 1984, **57** : 165-75
- KIM BS, SMIALOWICZ RJ. The role of metabolism in 2-methoxyethanol-induced suppression of in vitro polyclonal antibody responses by rat and mouse lymphocytes. *Toxicology* 1997, **123** : 227-239
- KRASAVAGE WJ. Subchronic oral toxicity of ethylene glycol monobutyl ether in male rats. *Fundam Appl Toxicol* 1986, **6** : 349-355
- LAZEWSKA M, TABAROWSKI Z, DABROWSKI Z. Effect of small doses of ethylene glycol monomethyl ether on the acetylcholinesterase and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in erythrocytes, blood and bone marrow of rats. *Toxicol Ind Health* 1993, **9** : 617-622
- LEE J, TRAD CH, BUTTERFIELD DA. Electron paramagnetic resonance studies of the effects of methoxyacetic acid, a teratologic toxin, on human erythrocyte membranes. *Toxicology* 1993, **83** : 131-148
- NAGANO K, NAKAYAMA E, OOBAYASHI H, NISHIZAWA T, OKUDA H, YAMAZAKI K. Experimental studies on toxicity of ethylene glycol alkyl ethers in Japan. *Environ Health Perspect* 1984, **57** : 75-84
- NTP. Draft NTP. Technical report on toxicity studies of ethylene glycol ethers 2-methoxyethanol 2-ethoxyethanol and 2-butoxyethanol administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F₁ mice. Toxicite report series n°26. National Toxicology Program USA, 1992
- REUZEL PJ, KUPER CF, FALKE HE. A subacute (28 day) inhalation toxicity study of isopropylethyleneglycolether in rats. TNO report n°V85.434/241372. *Inhal Toxicol*, sponsored by BG Chemie, Germany, 1987
- SMIALOWICZ RJ, RIDDLE MM, LUEBKE RW, COPELAND CB, ANDREWS D et coll. Immunotoxicity of 2-methoxyethanol following oral administration in Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991a, **109** : 494-506
- SMIALOWICZ RJ, RIDDLE MM, ROGERS RR, COPELAND CB, LUEBKE RW, ANDREWS DL. Evaluation of the immunotoxicity of orally administered 2-methoxyacetic acid in Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol* 1991b, **17** : 771-781

SMIALOWICZ RJ, RIDDLE MM, WILLIAMS WC, COPELAND CB, LUEBKE RW, ANDREWS DL. Differences between rats and mice in the immunosuppressive activity of 2-methoxyethanol and 2-methoxyacetic acid. *Toxicology* 1992a, **74** : 57-67

SMIALOWICZ RJ, WILLIAMS WC, RIDDLE MM, ANDREWS DL, LUEBKE RW, COPELAND CB. Comparative immunosuppression of various glycol ethers orally administered to Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol* 1992b, **18** : 621-627

SMIALOWICZ RJ, RIDDLE MM, WILLIAMS WC. Methoxyacetaldehyde, an intermediate metabolite of 2-methoxyethanol, is immunosuppressive in the rat. *Fundam Appl Toxicol* 1993, **21** : 1-7

WARD S, WALL C, GHANAYEM GI. Effects of 2-butoxyethanol (BE) and its toxic metabolite, 2-butoxyacetic acid (BAA) on blood from various mammals in vivo and in vitro. *Toxicologist* 1992, **12** : 282