

3

Développement neuropsychologique de l'enfant

Il est aujourd'hui établi que l'exposition pendant la grossesse ou la jeune enfance à certaines substances chimiques, telles que le mercure, le plomb, les polychlorobiphényles, et certains solvants incluant l'alcool, peut avoir des conséquences plus ou moins importantes sur le développement psychomoteur et intellectuel et le comportement de l'enfant. Ces conséquences ne sont pas toujours visibles cliniquement sur l'individu, mais ces déficits cognitifs ou ces troubles de comportements, même sous-cliniques, ont un impact sur l'apprentissage et la qualité de vie de l'individu et de son entourage, et finalement sur la société dans son ensemble.

L'expertise collective Inserm de 2013 identifiait les insecticides organophosphorés comme un groupe de molécules ayant ce potentiel de neurotoxicité développementale à partir de la compilation d'études observationnelles réalisées dans la population nord-américaine et d'études sur les mécanismes d'action neurotoxiques (Inserm, 2013). Il n'est pas apparu utile de mettre à jour l'analyse de ces mécanismes dans cette nouvelle expertise. En résumé, des données sur des modèles murins, ou *in vitro* montrent que l'exposition prénatale ou néonatale à un organophosphoré, le chlorpyrifos, s'accompagne de modifications des performances locomotrices ou cognitives (hyperactivité motrice, apprentissage, mémoire). L'exposition de rates gestantes provoque chez les descendants des déficits du nombre de cellules cérébrales, des projections neurales et de la communication synaptique, ou perturbe l'expression des récepteurs sérotoninergiques et la connexion des neurones correspondants avec leurs cibles, ce qui est à l'origine de symptômes évoquant un déficit en sérotonine. Les anomalies provoquées par le chlorpyrifos au cours de la période prénatale (induction de l'apoptose neuronale) sont parfois observées à des doses inférieures à celles nécessaires pour inactiver l'acétylcholine estérase (l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine qui joue un rôle fondamental au niveau synaptique pour éviter une accumulation du neurotransmetteur et une sur-stimulation des récepteurs cholinergiques). Plusieurs études suggèrent donc comme mécanisme d'action du chlorpyrifos, une perturbation du système sérotoninergique indépendante de son effet sur l'acétylcholine estérase.

La littérature épidémiologique récente sur les organophosphorés, analysée dans ce chapitre, s'est poursuivie depuis 2013 avec des études de suivi de trois cohortes américaines et elle s'est enrichie avec des nouvelles études de cohortes conduites en Europe et en Asie. L'exposition à d'autres pesticides d'usage récent/contemporain, agricole ou domestique, en particulier les pesticides de la famille des pyréthrinoïdes, ayant une faible persistance dans l'environnement, et ses conséquences possibles sur le développement neuropsychologique de l'enfant sont également décrits dans ce chapitre. Une attention particulière est portée aux schémas d'étude présentant des outils robustes et fiables de mesures de l'exposition et des paramètres de santé, une cohérence temporelle entre les moments de l'exposition d'intérêt et les événements de santé, et la prise en compte de facteurs de confusion majeurs ; il s'agit souvent de suivis longitudinaux de femmes enceintes et de leurs enfants, appelés cohortes mères-enfants (tableau 3.I, voir en fin de ce chapitre).

En cohérence avec ces nouvelles études épidémiologiques, une analyse des données récentes a été réalisée sur les mécanismes d'action possiblement neurotoxique des insecticides pyréthrinoïdes en période de développement.

Enfin, il est apparu utile de mettre à jour l'analyse de la littérature étudiant le lien possible entre l'exposition à des pesticides par la proximité résidentielle aux zones agricoles et les atteintes neurodéveloppementales chez l'enfant, pour laquelle en 2013 l'expertise collective Inserm ne concluait à aucune présomption de lien.

Exposition des femmes enceintes et des enfants aux insecticides organophosphorés

Conclusion de l'expertise 2013

L'expertise collective Inserm de 2013 concluait à la présomption forte (++) d'un lien entre l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés et les atteintes du neurodéveloppement de l'enfant. Les substances actives identifiées étaient principalement le chlorpyrifos puis le malathion et le méthyl parathion avec une présomption moyenne (+) d'un lien.

Cette conclusion s'appuyait principalement sur les premiers résultats de trois cohortes prospectives mères-enfants conduites aux États-Unis dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus. À partir d'inclusion de femmes pendant leur grossesse, ces cohortes ont mesuré de façon prospective l'exposition aux pesticides à différents stades de la grossesse à l'aide de

biomarqueurs urinaires ou sanguins, et ont suivi le développement psychomoteur, cognitif et le comportement de l'enfant à différents âges.

Des « déficits de développement cognitif ont été observés chez les enfants de 2-3 ans, associés à des altérations de la motricité fine et de l'acuité visuelle, à une réduction de la mémoire à court terme ainsi qu'à des difficultés attentionnelles, des troubles du comportement, principalement de type hyperactivité, et à la présence de comportements évocateurs de troubles autistiques. Les études ayant évalué le développement des enfants jusqu'à l'âge de 7 ans montrent une diminution du QI global et de la mémoire de travail. L'existence d'une susceptibilité génétique (impliquant le gène *PON1*) de la mère ou de l'enfant semble moduler la force de ces associations ».

Nouvelles données épidémiologiques

Résultats complémentaires des trois cohortes initiales

En poursuivant le suivi des enfants, ces cohortes ont depuis confirmé la présence d'altération des capacités sociales évoquant les troubles du spectre autistique jusqu'à l'âge de 14 ans des enfants en association avec l'exposition prénatale (c'est-à-dire chez la mère) évaluée par les mesures urinaires de métabolites dialkylphosphates (DAP) d'insecticides organophosphorés (deux sous-groupes : diéthyl et diméthyl) : i) Sagiv et coll., 2018 pour la cohorte CHAMACOS *Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas* et ii) Furlong et coll., 2014 pour la cohorte multiethnique CEHS *Children's Environmental Health Study* de l'hôpital Mount Sinai à New York (tableau 3.I, voir en fin de ce chapitre).

Dans l'étude CHAMACOS (Vallée de Salinas, Californie, 1999-2000, 601 femmes enceintes), la diminution des points de QI à l'âge de 7 ans en lien avec les concentrations urinaires prénatales de métabolites d'insecticides organophosphorés était plus importante ou parfois seulement observée lorsque le niveau d'adversité sociale, éducative et/ou économique de la famille était plus élevé (Stein et coll., 2016). Par exemple, chez les garçons, la concentration urinaire de DAP maternelle (nmoles/l ; échelle $\log_{10}$) était associée à une perte de 13,3 points de QI (IC 95 % [- 19,9 ; - 6,7]) chez les familles caractérisées par un environnement d'apprentissage faible, et à un gain, non statistiquement significatif, chez les familles ayant un meilleur milieu d'apprentissage (+4,2 points de QI ; IC 95 % [- 4,2 ; 12,5]). L'exposition pendant l'enfance aux insecticides organophosphorés évaluée à différents âges n'a pas été associée de façon cohérente aux performances

cognitives de l'enfant suggérant l'importance particulière de la période d'exposition (Bouchard et coll., 2011).

Une analyse récente d'une sous-population de la cohorte multiethnique CEHS a montré à la fois une diminution du score standardisé de l'indice de mémoire de travail ($\beta = -0,17$; IC 95 % [- 0,33 ; - 0,03]) et une amélioration du score standardisé des fonctions exécutives ($\beta = 0,18$; IC 95 % [0,04 ; 0,31]) parmi huit domaines cognitifs chez les enfants de 7 ans en lien avec la somme des concentrations urinaires (nmoles/l) de métabolites diéthylés (DEP, DETP et DEDTP) ou diméthylés (DMP, DMTP et DMDTP) dans les urines maternelles, respectivement. Une augmentation des troubles du comportement de l'enfant, dits « internalisés » tels que l'anxiété ($\beta = -0,13$; IC 95 % [- 0,26 ; 0,00]) a également été mise en évidence en lien avec la somme des métabolites diméthylés (Furlong et coll., 2017a).

L'autre cohorte mise en place à New York par l'Université Columbia (1998-2006, 725 femmes enceintes) et ayant mesuré l'exposition prénatale au chlorpyrifos à partir de mesures sanguines a observé une possible modification de la macrostructure cérébrale des enfants entre 6 et 12 ans en lien avec l'exposition prénatale, à partir d'imagerie à résonnance magnétique réalisée sur 40 enfants de la cohorte (Rauh et coll., 2012). Alors qu'il s'agissait d'une étude-pilote, à notre connaissance ce résultat n'a encore jamais été reproduit. Cette même cohorte a plus récemment suggéré une atteinte de la fonction motrice fine avec la présence de tremblements graphiques (lors d'un exercice d'écriture ou de dessin) pour le quart des enfants âgés entre 9 et 13 ans ayant les niveaux d'exposition prénatale au chlorpyrifos les plus élevés (Rauh et coll., 2015).

Autres cohortes mères-enfants

D'autres cohortes mères-enfants utilisant des outils similaires ont depuis fourni de nouveaux résultats qui ne confirment pas toujours les associations observées antérieurement.

- ***Cohortes états-uniennes***

La cohorte HOME (*Health Outcomes and Measures of the Environment*) a inclus entre 2003 et 2006 un total de 398 femmes enceintes à Cincinnati (Ohio, États-Unis) dont la grossesse a abouti à une naissance vivante. La plupart de ces femmes sont d'origine caucasienne, de niveaux socio-économiques variés, et habitant en région urbaine, semi-urbaine ou rurale. L'exposition aux insecticides organophosphorés a été mesurée à deux reprises pendant la grossesse (à environ 16 et 26 semaines de grossesse) par les

concentrations urinaires de DAP ; les niveaux étaient assez proches de ceux observés dans la précédente cohorte multiethnique de New York et inférieurs à ceux de la cohorte CHAMACOS. À l'aide d'outils standardisés adaptés à chaque âge, le développement psychomoteur, les performances cognitives et les capacités sociales ont été mesurés à différents âges (5 semaines, 1, 2, 3, 4, 5 et 8 ans). Aucune association n'a été rapportée avec l'exposition prénatale pour l'ensemble de ces évaluations neurodéveloppementales (Yolton et coll., 2013 ; Donauer et coll., 2016 ; Millenson et coll., 2017).

Une autre cohorte conduite à Central Ohio, a inclus 174 femmes enceintes entre 2002 et 2005 avec une collecte d'urines aux 2^e et 3^e trimestres de grossesse (n = 140) et a pu suivre le développement cognitif et moteur de 118 enfants à l'aide du BSID-II *Bayley Scales of Infant Development* à l'âge de 3 mois (Fluegge et coll., 2016). Les femmes incluses étaient majoritairement d'origine caucasienne (85 %) et le revenu moyen observé dans cette cohorte correspondait au niveau de classe moyenne nord-américaine. Cette étude a observé une diminution des performances motrices en association avec les niveaux urinaires du métabolite spécifique au chlorpyrifos (TCPy) mesurés au 3^e trimestre de grossesse. Aucune association n'était observée avec le développement cognitif global, ni avec les concentrations urinaires du métabolite spécifique au diazinon (IMPy).

- **Cohortes européennes**

La cohorte française PELAGIE a inclus 3 421 femmes enceintes en région Bretagne en début de grossesse (< 19 semaines de grossesse) entre 2002 et 2006 avec la collecte d'un prélèvement urinaire dans lequel les DAP ont été mesurés, et a suivi le développement neuropsychologique de 231 enfants âgés de 6 ans (sous-cohorte de familles tirées aléatoirement) à l'aide des mêmes échelles neuropsychologiques utilisées par la majorité des études précédentes. Les femmes de la cohorte étaient pour la plupart d'origine caucasienne et avaient un niveau d'études plus élevé (84 % > bac) que la population des femmes françaises (44 % > bac en 2003). Les concentrations urinaires de DAP étaient similaires à celles observées dans la cohorte HOME. Cette étude n'a pas observé d'association entre les concentrations prénatales en DAP et les performances cognitives des enfants à l'âge de 6 ans (Cartier et coll., 2016). Une altération de la fonction visuelle (diminution de la sensibilité aux contrastes) chez les garçons à l'âge de 6 ans a été suggérée en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés (Cartier et coll., 2018). À notre connaissance, ce résultat n'a pas encore été reproduit par d'autres études.

La cohorte GENERATION R conduite dans la région de Rotterdam aux Pays-Bas, a recruté 2083 femmes enceintes entre 2004 et 2006 avec la collecte de prélèvements urinaires à chaque trimestre de grossesse, dans lesquels les DAP ont été dosés. La cohorte a pu évaluer le développement neuropsychologique de 708 enfants âgés de 6 ans, en particulier le QI non verbal. Les femmes étaient d'une population multiethnique (42 % non néerlandaises), pour la majorité urbaines et 55 % d'entre elles avaient un niveau d'études au moins universitaire. L'étude rapportait une association entre les concentrations de DAP urinaires du 3^e trimestre de grossesse (nmol/g créatinine ; échelle $\log_{10}$) et des performances cognitives non verbales diminuées des enfants âgés de 6 ans ($\beta = -4,3$ points de QI ; IC 95 % [- 8,1 ; - 0,6]), tandis qu'aucune association n'était observée avec les concentrations urinaires du 1^{er} ou du 2^e trimestre de grossesse ou de la moyenne des trois trimestres (Jusko et coll., 2019). Les femmes de la cohorte GENERATION R présentaient des concentrations urinaires de DAP parmi les plus élevées en comparaison aux autres cohortes nord-américaines et européennes (tableau 3.I, voir en fin de chapitre).

La cohorte *Odense Child Cohort* (OCC) conduite au Danemark dans la région d'Odense, a inclus 2 874 femmes enceintes entre 2010 et 2012, avec une collecte d'échantillons urinaires maternels en fin de 2^e trimestre de grossesse, dans lesquels le métabolite TCPy du chlorpyrifos était dosé pour une partie des participantes (Dalsager et coll., 2019). Les femmes étaient invitées à remplir plusieurs questionnaires pendant la grossesse et pendant les premiers mois et années de vie de l'enfant renseignant par exemple le type d'allaitement et sa durée. Elles étaient en majorité non fumeuses (95 %) et avait moins de 30 ans pour la moitié d'entre elles, et un niveau d'études > bac pour 70 % d'entre elles. À l'âge de 2,5 ans de l'enfant, les familles étaient invitées à remplir en ligne un questionnaire standardisé mesurant les troubles de déficits attentionnels, d'hyperactivité et d'impulsivité des enfants (TDAH). Parmi les 948 familles participantes avec une mesure de TCPy réalisée dans les urines maternelles prénatales, aucune association n'a été observée entre les concentrations urinaires et le score de TDAH.

- **Autres cohortes**

Trois cohortes mères-enfants chinoises et la cohorte mexicaine ELEMENT ont rapporté une association entre les concentrations prénatales en métabolites urinaires d'insecticides organophosphorés et un développement psychomoteur et sensoriel altéré des jeunes enfants de moins de 2 ans (Zhang et coll., 2014 ; Liu et coll., 2016 ; Silver et coll., 2017 ; Wang et coll., 2017 ; Silver et coll., 2018) ou un score plus élevé de troubles de l'attention et

d'hyperactivité entre 6-11 ans (Fortenberry et coll., 2014). Une cohorte chinoise n'a pas reproduit l'association pour le TCPy, métabolite spécifique du chlorpyrifos, malgré des niveaux d'exposition plus élevés que ceux observés en Europe et Amérique du Nord (Guo et coll., 2019).

Autres études sur l'exposition pendant l'enfance aux insecticides organophosphorés

Les études évaluant le rôle possible des expositions pendant l'enfance aux insecticides organophosphorés à l'aide de biomarqueurs urinaires sur le développement de l'enfant ont utilisé pour la plupart un schéma d'étude transversale. Compte tenu de la non-persistance des insecticides organophosphorés dans l'organisme (< quelques jours), ce schéma d'étude ne permet pas de disposer de la cohérence temporelle entre les moments de l'exposition passée potentiellement responsable d'un trouble neurodéveloppemental, rendant ainsi fragiles les conclusions concernant une causalité possible de l'association. Ces études ne sont donc pas commentées en détails ici. De façon générale, les expositions maternelles pendant la grossesse et celles mesurées pendant l'enfance étaient peu corrélées entre elles. Deux études européennes ont suggéré une diminution du QI des enfants âgés de 6-11 ans en lien avec les concentrations en métabolites DAP mesurés dans les urines recueillies le matin du jour de l'évaluation neuropsychologique (Gonzalez-Alzaga et coll., 2015 ; Cartier et coll., 2016), alors que l'étude CHAMACOS n'observait pas d'altération des performances cognitives à l'âge de 7 ans en lien avec les expositions actuelles et antérieures mesurées pendant l'enfance (Bouchard et coll., 2011).

Deux études nord-américaines (Bouchard et coll., 2010 ; Marks et coll., 2010) et une étude taïwanaise (Yu et coll., 2016) ont suggéré un lien entre l'exposition de l'enfant aux insecticides organophosphorés et la présence de déficits attentionnels avec ou sans troubles évoquant une hyperactivité, alors qu'une étude canadienne de grande envergure (n = 779 enfants de 6-11 ans) n'a pas reproduit ce résultat (Oulhote et Bouchard, 2013).

En résumé, il existe à ce jour un grand nombre d'études de bonne qualité, en particulier des cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants, s'intéressant au rôle de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant la grossesse sur le développement neuropsychologique et le comportement de l'enfant. Plusieurs travaux de revue et d'analyses « poolées » ont été conduits (González-Alzaga et coll., 2014 ; Engel et coll., 2016 ; Sapbamrer et Hongsisong, 2019). Les déficits cognitifs observés par les premières études jusqu'à l'âge de 7 ans en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés n'ont pas été observés ni à des âges

ultérieurs par ces mêmes cohortes, ni par deux des quatre études européennes et nord-américaines plus récentes. Une étude européenne ayant parmi les niveaux d'exposition les plus élevés a observé une diminution des performances cognitives des enfants uniquement lorsque l'exposition a eu lieu en fin de grossesse.

Les populations des études plus récentes représentent des groupes plus éduqués et moins vulnérables à d'autres facteurs de risque que celles des premières études conduites dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus. Ainsi, l'apparente contradiction des résultats pourrait s'expliquer par une ou plusieurs des hypothèses suivantes : l'existence d'une vulnérabilité sociale face à ces expositions (suggérée par Stein et coll., 2016), une réversibilité possible des effets par des stimulations cognitives reçues de l'environnement de l'enfant et/ou la disponibilité de mécanismes de compensation mis en place lors d'un déficit cognitif, et une susceptibilité génétique des populations noires et hispaniques. Aussi, l'usage des insecticides organophosphorés ayant diminué ces deux dernières décennies en Europe et Amérique du Nord, les sources d'exposition et/ou les combinaisons (mélanges) d'insecticides organophosphorés présents dans les produits agricoles et domestiques ont varié. Il est possible que les concentrations urinaires en DAP observées dans les études les plus récentes soient en majorité d'origine alimentaire alors que les populations des études initiales, californiennes et new-yorkaises, étaient selon les auteurs fortement exposées via les usages agricoles voisins et les usages domestiques fréquents. Les molécules organophosphorées peuvent être converties en DAP à la surface ou à l'intérieur des fruits et légumes par hydrolyse, photolyse ou les enzymes du métabolisme des plantes. Les concentrations urinaires de cette forme dégradée *non toxique* des insecticides organophosphorés (DAP) pourraient ainsi représenter pour les études les plus récentes un moins bon marqueur d'exposition à des insecticides organophosphorés.

Les résultats suggérant des altérations du développement psychomoteur et de l'acuité visuelle chez le jeune enfant en lien avec une exposition prénatale aux insecticides organophosphorés sont confirmés par la plupart des nouvelles études chinoises.

Enfin, malgré une compilation de résultats encore hétérogènes, une attention particulière peut être portée sur une atteinte possible des capacités sociales des enfants avec des comportements évocateurs du spectre autistique, observée jusqu'à un âge adolescent, en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Un rôle de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant l'enfance sur le développement neuropsychologique et le comportement de l'enfant

n'a pas été observé, excepté par des études transversales dont les conclusions concernant une causalité possible de l'association sont fragiles.

Finalement, l'ensemble de ces résultats est en accord avec une présomption forte (++) d'un lien entre l'exposition prénatale aux organophosphorés et une altération des capacités motrices, cognitives et des fonctions sensorielles chez l'enfant.

Exposition des femmes enceintes et des enfants aux insecticides pyréthrinoïdes

Depuis l'expertise de 2013, la littérature scientifique s'intéressant aux insecticides pyréthrinoïdes et à leur neurotoxicité développementale, est grandissante. Ces molécules sont très présentes dans les produits, matériaux et biens de consommation à usage agricole et domestique pour lutter contre les insectes et parasites ; dans les pays occidentaux, la perméthrine est la molécule pyréthrinoïde la plus communément retrouvée dans les environnements intérieurs (poussières).

L'une des premières études évaluant cette question est la cohorte new-yorkaise conduite par l'Université Columbia dans un contexte d'usage domestique fréquent de produits pour lutter contre les parasites des logements de milieux défavorisés. L'étude proposait de mesurer la perméthrine et la molécule synergique des pyréthrinoïdes, le butoxyde de pipéronyle (PBO), dans le sang maternel, de cordon et dans l'air (48 h) des logements occupés pendant la grossesse. Le PBO est utilisé dans les formulations des insecticides pyréthrinoïdes, mais pas dans celles des insecticides organophosphorés ou carbamates, ce qui en fait un indicateur de l'utilisation des insecticides pyréthrinoïdes. Seul le PBO apparaissait suffisamment détecté dans l'air des logements (> 75 %) pour pouvoir être étudié en association avec les performances neurodéveloppementales des enfants évaluées à 36 mois par le BSID-II. Ce résultat s'explique par la très courte demi-vie de ces composés dans l'organisme (< 24 h) et la faible volatilité de la perméthrine. L'étude rapportait une diminution des performances cognitives globales à 3 ans par le *Mental Developmental Index* du BSID-II en lien avec les niveaux de PBO mesurés dans l'air pendant la grossesse (Horton et coll., 2011). Les auteurs évoquaient plusieurs hypothèses explicatives : une inhibition de l'activité enzymatique des cytochromes P450 par le PBO retardant la détoxification des molécules actives pyréthrinoïdes présentes simultanément ou d'autres molécules neurotoxiques, donc amplifiant leurs effets toxiques possibles ; des troubles olfactifs et moteurs en lien avec le PBO suggérés par une étude chez

l'animal (Tanaka, 2003), ou la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de stress oxydatif par le PBO (Muguruma et coll., 2007).

L'autre cohorte new-yorkaise de l'hôpital Mount Sinai (CEHS) a apporté également quelques indices suggérant une augmentation de troubles du comportement de l'enfant entre 4 et 9 ans en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes (Furlong et coll., 2017b). Il s'agissait du comportement évalué par l'échelle du *Behavior Assessment System for Children* (BASC) de type externalisé (par exemple agressivité et hyperactivité ; $\beta = -4,74$; IC 95 % [- 9,37 ; - 0,10]) en lien avec le métabolite *cis*-DCCA (métabolite de la perméthrine, cyperméthrine, et la cyfluthrine), et de type internalisé (par exemple anxiété ; $\beta = -4,50$; IC 95 % [- 8,05 ; - 0,95]) en lien avec le 3-PBA, un métabolite commun à de nombreux insecticides pyréthrinoïdes. L'exposition mesurée par la concentration de trois métabolites de molécules pyréthrinoïdes dans les urines maternelles collectées pendant la grossesse était considérée de façon binaire (détecté *versus* non détecté) limitant la portée de ces résultats.

La cohorte de Central Ohio observait une diminution des performances cognitives globales à l'âge de 3 mois en association avec les niveaux urinaires de métabolites de pyréthrinoïdes (3-PBA et *trans*-DCCA, métabolites de la perméthrine, cyperméthrine, et la cyfluthrine) mesurés pendant le 3^e trimestre de grossesse, en tenant compte des concentrations de ces mêmes métabolites mesurées dans les urines des enfants de 3 mois (pas d'association observée avec ces mesures urinaires à 3 mois). Aucune association n'était observée avec le développement psychomoteur (Fluegge et coll., 2016).

À partir de la mesure de 5 métabolites distincts de molécules pyréthrinoïdes dans les urines maternelles recueillies en début de grossesse et de l'évaluation de deux domaines cognitifs des enfants à l'âge de 6 ans, la cohorte française PELAGIE n'a pas rapporté d'altération des performances cognitives des enfants de 6 ans en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes, excepté pour la mémoire de travail et le *trans*-DCCA (p de tendance = 0,18 ; β (86-209 ng/l *versus* < 86 ng/l) = - 4,86 ; IC 95 % [- 10,48 ; 0,76], β (> 209 ng/l *versus* < 86 ng/l) = - 6,44 ; IC 95 % [- 11,92 ; - 0,97]) (Viel et coll., 2015). En revanche, avec un schéma d'étude transversale, cette cohorte observait une diminution des scores de compréhension verbale et de mémoire de travail des enfants à 6 ans en association avec les concentrations urinaires en 3-PBA (p de tendance = 0,04 et 0,05, respectivement), et en *cis*-DBCA, métabolite spécifique de la deltaméthrine (p de tendance < 0,01 et < 0,01, respectivement) mesurées dans les urines des enfants le matin du jour de l'évaluation neuropsychologique (Viel et coll., 2015). L'ensemble des modèles statistiques tenait compte simultanément des concentrations

urinaires de DAP prénatales et de celles mesurées à 6 ans. Un risque augmenté de troubles élevés de comportement internalisé évalué à l'âge de 6 ans par l'échelle du *Strength and Difficulties Questionnaire* (échelle auto-rapportée par la mère sur le comportement des six derniers mois de l'enfant), était associé aux concentrations urinaires prénatales de *cis*-DCCA (p de tendance = 0,05 ; β (67-137 ng/l *versus* < 67 ng/l) = 1,47 ; IC 95 % [0,50-4,28], β (> 137 ng/l *versus* < 67 ng/l) = 2,33 ; IC 95 % [0,76-7,17]) ; aucune association n'était observée avec le comportement externalisé (Viel et coll., 2017). Avec les concentrations urinaires mesurées chez l'enfant, une augmentation des troubles externalisés rapportés à 6 ans était observée avec le 3-PBA et une diminution avec le *trans*-DCCA, sans explication évidente.

La cohorte *Odense Child Cohort* (OCC) conduite au Danemark a également mesuré ces mêmes 5 métabolites de molécules pyréthrinoïdes dans les urines maternelles recueillies en fin de 2^e trimestre de grossesse (Dalsager et coll., 2019). Avec un effectif plus important ($n = 948$) que la cohorte PELAGIE, elle observait une augmentation des troubles de déficit d'attention et d'hyperactivité chez l'enfant à 2,5 ans en lien avec les concentrations urinaires maternelles de 3-PBA, traduite par une augmentation de 3 % du score de TDAH à chaque doublement du niveau urinaire (1,03 ; IC 95 % [1,00 ; 1,07]). Une association était également observée entre la présence du *trans*-DCCA dans les urines maternelles et un score de TDAH de l'enfant parmi les 10 % les plus élevés (OR = 1,76 ; IC 95 % [1,08 ; 2,86]). Malgré la possibilité d'évaluer les troubles internalisés avec l'échelle CBCL (*Childhood Behavior CheckList*) utilisée dans cette cohorte, ces associations n'ont pas été rapportées.

La cohorte mexicaine ELEMENT observait une diminution des performances cognitives globales à 24 mois, mais pas à 36 mois, en lien avec les niveaux urinaires de 3-PBA mesurés pendant la grossesse (Watkins et coll., 2016). Aucune association n'était observée pour le développement psychomoteur.

Une cohorte mères-enfants plus récente, VHEMBE (*Venda Health Examination of Mothers, Babies and the Environment*), conduite dans la province de Limpopo en Afrique du Sud a inclus 752 femmes entre 2012 et 2013. Un prélèvement urinaire, dans lequel étaient mesurés 5 métabolites d'insecticides pyréthrinoïdes, était recueilli juste avant l'accouchement pour la majorité d'entre elles (62 %), ou après la naissance et avant de quitter l'hôpital pour les autres. Pour chaque augmentation d'un facteur dix, des concentrations maternelles urinaires (en $\mu\text{g/l}$, ajusté sur la gravité spécifique, échelle $\log_{10}$), de *cis*-DCCA, *trans*-DCCA et 3-PBA, étaient associées à une diminution du score de développement socio-émotionnel de l'enfant à 1 an de l'échelle BSID (respectivement, $\beta = -0,63$; IC 95 % [- 1,14 ; - 0,12],

$\beta = -0,48$; IC 95 % [-0,92 ; 0,05] et $\beta = -0,58$; IC 95 % [-1,11 ; -0,06]). La concentration en *cis*-DBCA, métabolite spécifique de la deltaméthrine, était également associée à une diminution du score BSID de développement du langage à l'âge de 2 ans ($\beta = -1,74$; IC 95 % [-3,34 ; -0,13]), résultat porté principalement par la sous-échelle de communication expressive (Eskenazi et coll., 2018). Ces résultats tenaient compte de la présence ou non de symptômes dépressifs maternels. En restreignant les analyses aux femmes ayant eu une collecte d'urine avant l'accouchement seulement, dont la mesure a plus de chance de refléter l'exposition de l'environnement et du domicile occupé pendant la grossesse, les auteurs ont rapporté des niveaux urinaires plus élevés mais des résultats d'association similaires.

Une cohorte mères-enfants japonaise ($n = 102$) a rapporté un meilleur développement de l'enfant à 18 mois en lien avec les concentrations urinaires de 3-PBA mesurées au 1^{er} trimestre de grossesse (Hisada et coll., 2017).

Enfin, trois études transversales s'appuyant sur des suivis nationaux de surveillance de la santé et des expositions de la population générale ont observé : i) parmi 779 enfants canadiens de 6-11 ans, une augmentation des troubles comportementaux en lien avec leurs concentrations urinaires de *cis*-DCCA (aucune association avec le 3-PBA) (Oulhote et Bouchard, 2013), ii) parmi 1 660 enfants états-uniens de 6-15 ans, aucune association avec les troubles de comportement externalisés (Quiros-Alcala et coll., 2014), et iii) parmi 687 enfants états-uniens de 8-15 ans une augmentation du risque de déficit attentionnel avec/sans hyperactivité, plus prononcée chez les garçons, en lien avec les concentrations urinaires de 3-PBA (Wagner-Schuman et coll., 2015).

En résumé, la littérature épidémiologique s'intéressant au rôle des insecticides pyréthrinoides sur la santé neurodéveloppementale est récente et fait suite à l'augmentation de leurs usages en substitution aux insecticides organophosphorés. Il s'agit pour l'essentiel des mêmes cohortes, de bonne qualité pour la plupart, ayant pu s'intéresser aux insecticides organophosphorés.

Une concordance de résultats entre les études, quel que soit le contexte, est observée et suggère une augmentation des troubles du comportement de l'enfant, notamment de type internalisé (par exemple anxiété), en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides pyréthrinoides (présomption forte ++). En revanche, les études actuelles s'intéressant à son rôle possible sur les capacités cognitives des enfants rapportent des résultats variables et ne permettent pas de conclure.

Un rôle de l'exposition aux insecticides pyréthrinoides pendant l'enfance sur le développement neuropsychologique et le comportement de l'enfant a été

rapporté par des schémas d'études transversales pour lesquelles les conclusions concernant une causalité possible de l'association sont limitées sans pouvoir toutefois exclure la possibilité d'un effet neurotoxique à court terme et réversible.

Exposition des femmes enceintes et des enfants aux pesticides liée à la proximité résidentielle aux activités agricoles et aux usages de produits domestiques

À partir de quatre études (dont trois de petite taille), l'expertise collective Inserm réalisée en 2013 ne concluait à aucune preuve d'un lien entre l'exposition à des pesticides par la proximité résidentielle aux zones agricoles ou par les usages domestiques et des atteintes neurodéveloppementales chez l'enfant. Depuis, huit publications scientifiques, dont 5 concernent des études réalisées dans la région californienne, ont apporté de nouveaux résultats.

La cohorte mères-enfants INMA conduite en Espagne entre 2003 et 2008 a inclus 2 644 femmes enceintes en début de grossesse et a pu suivre et évaluer le développement neuropsychologique de 2 360 enfants vers l'âge de 14 mois avec le *Bayley Scales of Infant Development* (BSID-I). Des interviews des mères avec un questionnaire standardisé étaient organisées pendant la grossesse et pendant l'enfance. Deux tiers des femmes de la cohorte avaient un niveau d'études inférieur au bac, et presque un quart un niveau d'études inférieur au secondaire. Un total de 54 % des foyers avaient déclaré un usage de produits à domicile pour lutter contre les insectes pendant la grossesse ; 34 % utilisaient des sprays et 33 % des diffuseurs passifs. L'usage de sprays à domicile pour lutter contre les insectes pendant la grossesse était associé à des scores diminués du développement moteur de l'enfant à 14 mois ($\beta = -1,9$; IC 95 % [- 3,4 ; - 0,5]). Aucune association n'était observée pour le développement cognitif ou pour les autres usages, y compris ceux pendant l'enfance (Llop et coll., 2013). Les auteurs notent que les principaux insecticides contenus dans les produits sprays étaient ceux de la famille des pyréthrinoides.

L'étude cas-témoins CHARGE (*Childhood Autism Risks from Genetics and the Environment*) conduite en population générale en Californie entre 2000 et 2007 a inclus 466 enfants âgés de 2-5 ans atteints et 340 non atteints de troubles du spectre autistique, selon une échelle quantitative et confirmé pour les cas par d'autres batteries de tests de développement. Une interview au moment du diagnostic était réalisée pour collecter de façon rétrospective les usages domestiques de produits pesticides pendant la grossesse. Une

association était observée entre les usages domestiques de pesticides pendant la grossesse (46 %), en particulier sous la forme de sprays et de diffuseurs, et le risque d'avoir un enfant atteint de troubles du spectre autistique. Cette association était diminuée lorsque les mères au moment de la conception avaient un apport en acide folique > 800 mg/j (Schmidt et coll., 2017). Les auteurs n'émettent aucune hypothèse sur les familles de pesticides possiblement incriminées dans cette association.

La Californie bénéficie depuis les années 1990 d'un système obligatoire répertoriant l'ensemble des usages professionnels de pesticides et rendant disponibles les données spatialisées (par mile carré) de dates et quantités pour chaque molécule active utilisée. Bénéficiant de ce système unique au monde, l'étude cas-témoins CHARGE après avoir collecté et géocodé l'ensemble des résidences des familles de cas et de témoins a observé que la proximité résidentielle (rayon inférieur à 1,5 km) à des zones traitées avec des insecticides organophosphorés ou avec des insecticides pyréthrinoides pendant la grossesse (en particulier le 3^e trimestre) était associée à une augmentation du risque d'avoir un enfant atteint de troubles du spectre autistique (OR = 2,07 ; IC 95 % [1,23 ; 3,50] et OR = 1,87 ; IC 95 % [1,02 ; 3,43], respectivement) (Shelton et coll., 2014).

Une autre étude cas-témoins a été réalisée dans la vallée centrale de Californie avec l'activité agricole la plus importante de la région et sur une période d'étude plus étendue, de 1998 à 2010 (von Ehrenstein et coll., 2019). Les données des 2 961 cas et 35 370 témoins, incluant l'adresse au moment de la naissance, ont été collectées à partir du registre de santé californien et de certificats de naissance. L'étude a montré un risque augmenté de survenue de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec une exposition prénatale ou dans la première année de vie à 7 des 11 pesticides d'intérêt appliqués sur des zones agricoles à moins de 2 000 m de la résidence. Il s'agit de la perméthrine, du diazinon, du glyphosate, et de l'avermectine, et à la limite de la significativité statistique, de la bifenthrine, du malathion et du chlorpyrifos. Ces résultats tiennent compte des usages possiblement corrélés de ces pesticides entre eux, de facteurs sociodémographiques et de la pollution liée au trafic routier.

La cohorte mères-enfants californienne CHAMACOS a rapporté des diminutions de points de QI global chez les enfants de 7 ans (Rowe et coll., 2016) et 10,5 ans (Gunier et coll., 2017) en association avec, respectivement, *i*) des applications agricoles d'insecticides organophosphorés et carbamates à proximité de la résidence (rayon inférieur à 1 km) pendant la grossesse en tenant compte des niveaux socio-économiques individuels et contextuels (pas d'existence d'interaction), et *ii*) des applications agricoles d'insecticides

organophosphorés, carbamates, néonicotinoïdes, pyréthri-noïdes et de fongicides-manganèse à proximité de la résidence (rayon inférieur à 1 km) pendant la grossesse en tenant compte des concentrations prénatales de DAP urinaires. En revanche, aucune association n'a été observée entre la quantité d'insecticides organophosphorés utilisés à proximité de la résidence prénatale (rayon inférieur à 1 km) et les capacités sociales des enfants de la cohorte CHAMACOS évalués entre 7 et 14 ans (Sagiv et coll., 2018). Il faut noter que contrairement aux familles de l'étude CHARGE (30 % habitaient à proximité de zones agricoles traitées), toutes les familles de la cohorte CHAMACOS résidaient à moins d'1 km des zones traitées.

Enfin deux autres études observant les performances cognitives d'enfants entre 4 et 11 ans, sur deux périodes, avec puis sans risque d'usage ou d'exposition aux pesticides, ont observé une amélioration dans le temps des performances de certains domaines cognitifs. Elles suggèrent ainsi un impact possible des expositions résidentielles pendant l'enfance et potentiellement réversible (Gonzalez-Alzaga et coll., 2015 ; Suarez-Lopez et coll., 2017).

En résumé, l'exposition aux pesticides par les applications agricoles à proximité des lieux de vie est particulièrement difficile à évaluer. Dans le contexte californien, qui possède un système unique rendant disponibles les déclarations obligatoires des usages de pesticides, plusieurs études ont rapporté des déficits intellectuels et une augmentation du risque de comportement évocateur des troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec la proximité résidentielle (rayon inférieur à 1,5 km) à des insecticides pendant la grossesse. En particulier, ont été incriminées les familles organophosphorées, carbamates et pyréthri-noïdes, en cohérence avec les études utilisant des biomarqueurs d'exposition.

Deux études ont rapporté des atteintes neurodéveloppementales possibles en lien avec l'usage pendant la grossesse de produits domestiques pour lutter contre des insectes ou autres nuisibles, sans toutefois pouvoir exclure l'influence de facteurs de confusion non identifiés. Malgré la bonne qualité de ces études, le niveau de preuve apporté reste faible tant que l'exposition aux pesticides via les usages domestiques ne sera pas mieux objectivée et caractérisée.

Pyréthri-noïdes et neurotoxicité développementale : approche mécanistique

Les pyréthri-noïdes sont des insecticides dérivés des pyréthrines naturelles extraites des chrysanthèmes, notamment *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Ils

ont historiquement remplacé les organochlorés et plus récemment les organophosphorés. Bien que moins persistants, leur demi-vie est très variable dans l'environnement avec une bioaccumulation potentielle dans les organismes aquatiques du fait de leur lipophilie (ATDSR, 2003). Ils sont ainsi abondamment utilisés partout dans le monde en agriculture, pour la protection du bois ou via les pratiques ménagères (dont celles des hôpitaux) ; ainsi, ils sont retrouvés dans 88,5 % des habitations. Ils sont aussi beaucoup utilisés comme antipuces en pratique vétérinaire (Bouvier et coll., 2005). En milieu intérieur, ils sont protégés des UV, des variations de température et persistent plus longtemps notamment dans les poussières des habitacles (Leng et coll., 2005).

Toxicocinétique et métabolisme

Les molécules originelles de pyréthrinoïdes sont particulièrement lipophiles (leur métabolisme conduisant à un gain de solubilité majeur et à leur élimination dans les urines, les fèces) ; ainsi la perméthrine après absorption, est rapidement distribuée vers les organes riches en lipides comme le tissu adipeux et le cerveau et une partie (avant métabolisation par les cytochromes P450 ou les carboxylestérases) peut donc s'y accumuler. Pour les expériences présentées dans la suite de ce document, il est important de préciser que l'élimination chez l'être humain de certains pyréthrinoïdes est beaucoup plus lente que chez les rongeurs (jusqu'à 10 fois plus lente) (Scollon et coll., 2009). Les doses conduisant à une mortalité de 50 % chez les rongeurs (également connues sous le nom de dose létale 50 ou DL_{50}) sont très élevées et dépendent de la voie d'administration (400 mg/kg chez le rat, 650 mg/kg chez la souris pour la perméthrine par voie orale) (Personne, 2019).

Dans le cadre de ce chapitre consacré aux effets neurodéveloppementaux, l'exposition humaine est donc particulièrement importante à analyser même de façon indirecte, et des expériences de modélisation pour comprendre les relations entre les concentrations sanguines et cérébrales (le cerveau étant le site principalement suspecté comme étant sensible à l'action des pyréthri-noïdes) sont donc nécessaires. Une étude utilisant des rats Long-Evans mâles, et un mélange représentatif de pyréthri-noïdes (avec 7 doses différentes), montre que la cyperméthrine et la *cis*-perméthrine sont les plus facilement retrouvées dans le sang et le cerveau et surtout qu'il existe une relation linéaire entre les deux compartiments. Pour la *cis*-perméthrine, par exemple, les ratios moyens cerveau/sang varient entre 0,2 et 5,2, selon la dose administrée (Hughes et coll., 2016a).

Les mêmes auteurs se sont aussi focalisés sur la bifenthrine pour réaliser une étude de distribution plus générale (plus grand nombre d'organes analysé) et montrent que ce pyréthriinoïde, après administration de 0,3 ou 3 mg/kg (par gavage), atteint un pic sanguin ou hépatique après seulement 1 à 2 h avant d'être rapidement éliminé de ces compartiments. En revanche, le pic est plus bas mais plus tardif pour le cerveau avec aussi une élimination plus lente (phénomène également observé avec le tissu adipeux) (Hughes et coll., 2016b). Ces caractéristiques de distribution sont retrouvées pour la cyfluthrine, dont l'élimination est plus lente, notamment au niveau cérébral (Rodriguez et coll., 2018).

Jusqu'à récemment, ces études de distribution utilisaient principalement des rongeurs adultes. Or, dans le cadre d'une analyse neurodéveloppementale, il est également important de comprendre ces phénomènes au cours de la période périnatale. Le Dr Stéphane Personne, avec l'équipe qui encadrerait sa thèse (Pr Véronique Bach et Dr Florence Zeman) de l'unité PériTox (UMR-I 01), a récemment développé un modèle toxicocinétique pour étudier la redistribution de la perméthrine chez la rate gestante après exposition. Ses travaux analytiques confirment bien que la *cis*-perméthrine ou la *trans*-perméthrine présentent une concentration très stable dans certains organes (tissus adipeux, glandes mammaires, cerveau) à la fois après injection et après modélisation (Personne, 2019). Or, il a été montré chez des rats que l'immaturité de la barrière hémato-encéphalique (BHE) entraîne une plus grande perméabilité aux *cis*- et *trans*-perméthrines et peut ainsi contribuer à augmenter la susceptibilité aux insecticides chez les rats pré-sevrés (Mortuza et coll., 2019). De plus, l'immaturité du système de détoxification, avec une dégradation plus lente des composés parents (dont la molécule clé est la deltaméthrine ou par extension des *cis*- et *trans*-perméthrines), pouvait entraîner une toxicité plus importante, les métabolites étant moins toxiques que les molécules parentes (Anand et coll., 2006 ; Hedges et coll., 2019). Cette immaturité du système de détoxification pouvait expliquer certains déficits neurocomportementaux chez le rat (Anand et coll., 2006 ; Hedges et coll., 2019 ; Mortuza et coll., 2019).

Modes d'action

Les pyréthriinoïdes peuvent être classés selon deux nomenclatures, soit en fonction des signes d'intoxication, soit en fonction de leur nature chimique (figure 3.1, ceux possédant un radical cyano étant classés en type II). Chez les insectes (leur principale cible), les modes d'action principaux sont la liaison à des canaux sodiques voltage-dépendants qui, maintenus ouverts,

provoquent une hyperexcitabilité neuronale (Klaassen, 2002). Cette dépolarisation permanente est à l'origine d'une paralysie chez l'insecte (et à sa mort). Une des causes de la résistance de certains insectes aux pyréthrinoides est la mutation de ces canaux (Hirata, 2016).

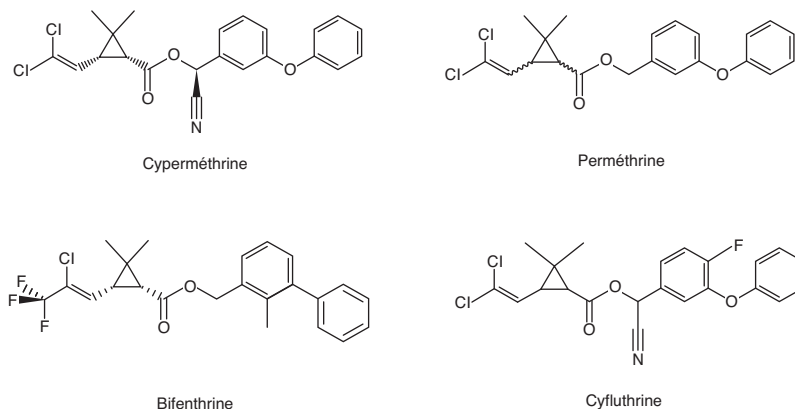


Figure 3.1 : Quelques exemples de pyréthrinoides (réutilisé sous Wikimedia Commons, CC-BY-3.0)

Les pyréthrinoides de synthèse de type II (comme l' α -cyperméthrine et la cyperméthrine) peuvent aussi inhiber certains récepteurs du GABA (acide γ -aminobutyrique) ainsi que des canaux chlore, renforçant cette hyperexcitabilité (Burr et Ray, 2004) et affecter la fonction de canaux calciques ou de la Ca^{2+} -ATPase (Clark et Symington, 2008).

Plus généralement, les pyréthrinoides sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens (Brander et coll., 2016) du fait de nombreux mécanismes d'action alternatifs qui seront présentés tant sur le plan cellulaire que moléculaire parfois en association avec des déficits neurocomportementaux.

Excitabilité neuronale

Compte tenu du mode d'action des pyréthrinoides chez les insectes, de nombreuses études se sont intéressées à l'effet de ces molécules sur l'électrophysiologie des neurones et à leurs effets sur différents canaux ioniques (canaux sodiques et canaux calciques).

Un grand nombre de pyréthrinoides (Type I : bifenthrine, perméthrine ; Type II : β -cyfluthrine, cyperméthrine, deltaméthrine, et λ -cyhalothrine) affectent les paramètres électrophysiologiques des cellules neuronales de rat à des concentrations qui s'échelonnent entre 1 et 100 μM (Baskar et Murthy,

2018). Les auteurs ont montré que tous les pyréthrinoïdes, aux plus faibles concentrations, provoquent une augmentation de la fréquence élevée des décharges (*mean burst rate*), ce qui peut être considéré comme un effet caractéristique des pyréthrinoïdes sur l'excitabilité neuronale.

L'esfenvalérate a été testé à différentes concentrations (5-40 μM) sur des coupes de cerveau de rat : la plus faible concentration conduit à la formation de profils électrophysiologiques épileptiques (surexcitabilité et fréquence élevée des décharges) tandis qu'une inhibition de l'excitabilité est observée à partir de 40 μM (Varro et coll., 2017). En présence de plusieurs types cellulaires (neurones, cellules gliales), la mesure de la fréquence des potentiels d'action montre qu'une inhibition est aussi observée pour des concentrations de différents pyréthrinoïdes (deltaméthrine, cyperméthrine, β -cyfluthrine et esfenvalérate) supérieures à 10 μM . Une augmentation de l'excitabilité est néanmoins observée avec la perméthrine montrant que les effets des pyréthrinoïdes peuvent être spécifiques de chaque molécule. En conséquence, peu d'effets sont observés avec un mélange des 5 composés (52 % perméthrine, 28,8 % cyperméthrine, 12,9 % β -cyfluthrine, 3,4 % deltaméthrine et 2,7 % esfenvalérate) du fait probablement de l'additivité des effets (la perméthrine ayant un effet contraire aux autres) (Johnstone et coll., 2017).

Ainsi, la deltaméthrine affecte différents canaux sodiques voltage-dépendants de mammifères (Hirata, 2016) selon plusieurs mécanismes : i) une liaison directe provoquant leur ouverture forcée, ii) une diminution de l'expression des ARNm codant deux de ces canaux (Magby et Richardson, 2015). Il est tentant de poser l'hypothèse que l'ouverture forcée des canaux par le deltaméthrine provoque une adaptation neuronale limitant cet effet chronique par la diminution d'expression de ces canaux (liée à celle de leur ARNm). En plus de la deltaméthrine, la bifenthrine exerce sur ces mêmes canaux sodiques, un effet d'ouverture prolongé conduisant également à une dépolarisation (obtenue avec des doses de 10 μM) (Yang et Li, 2015).

Toutefois, assez rapidement, d'autres ions comme le Ca^{2+} (ion calcium) ont été suspectés de jouer un rôle dans le mode d'action des pyréthrinoïdes, suite à l'utilisation de chélateurs calciques bloquant l'effet des pyréthrinoïdes (Magby et Richardson, 2015), parfois sur d'autres types cellulaires que les neurones. Une étude récente de 2018, montre que 4 pyréthrinoïdes (perméthrine, cyperméthrine, α -cyperméthrine, bioalléthrine) modifient le fonctionnement de canaux calciques intracellulaires (libération de calcium par la fraction microsomiale) probablement par liaison de haute affinité à la pompe calcique ATPase SERCA (*Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase*) comme le montre la co-utilisation d'un inhibiteur de cette protéine

(thapsigargine) (Dusza et coll., 2018). L'utilisation de λ -cyhalothrine, mélange d'isomères du pyréthrianoïde cyhalothrine, sur des astrocytes humains (*Gibco Human Astrocytes*) montre qu'à des concentrations de 10-15 μM , une cytotoxicité est observée, associée à une élévation des $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (concentrations de Ca^{2+} intracellulaires) probablement liée à l'ouverture de canaux calciques membranaires (Hsu et coll., 2018). Les auteurs relient ce phénomène à une apoptose astrocytaire (comme le montre l'effet bloquant de chélateurs). Les effets décrits apparaissent toutefois plus complexes que ceux observés avec les canaux sodiques. En effet, l' α -cyperméthrine et la cyperméthrine inhibent des canaux calciques voltage-dépendants à des concentrations relativement basses (concentration inhibitrice de 50 % de l'activité des canaux ou IC_{50} respectivement de 239 et 78 nM en 20 minutes soit inférieures à 1 μM) avec pour conséquence un blocage de la dépolarisation (Meijer et coll., 2014). Ces concentrations sont plus faibles que celles précédemment décrites pour d'autres modes d'action notamment pour la cyperméthrine. L'utilisation de neurones corticaux murins pour mesurer la perturbation des potentiels d'action en réponse à une exposition à la deltaméthrine à seulement 30 nM, montre que l' α -cyperméthrine et la cyperméthrine sont susceptibles d'exercer leurs effets via la liaison aux récepteurs de la ryanodine (RyR) en augmentant globalement leur probabilité d'ouverture et le passage des ions Ca^{2+} . Les RyR interviennent dans le passage de l'ion Ca^{2+} des stocks du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme. Ils jouent un rôle particulièrement important au niveau neuronal. De par leur ouverture, la deltaméthrine pourrait provoquer une augmentation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Ce phénomène est associé à une stimulation de la croissance axonale (là encore à des concentrations faibles de 10-300 nM) et à une complexification de l'arborescence dendritique (100 nM) (Zheng et coll., 2019). Au niveau neuronal, de faibles modifications des $[\text{Ca}^{2+}]_i$ peuvent provoquer des symptômes marqués (Toescu et Verkhratsky, 2007).

En résumé, les pyréthrianoïdes agissent sur les cellules neuronales, en altérant certains paramètres électrophysiologiques des cellules neuronales (surexcitabilité, inhibition de l'excitabilité, ouverture des canaux sodiques voltage-dépendants) selon les concentrations et les molécules utilisées. L'action de certains pyréthrianoïdes, en altérant la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ peut induire des modifications sur les cellules neuronales (croissance axonale) ou des effets cytotoxiques sur les astrocytes (apoptose astrocytaire). Cette altération de la concentration de Ca^{2+} peut également indiquer que les pyréthrianoïdes pourraient être associés à une modification de la fonction mitochondriale.

Mitochondrie et stress oxydant

Comme nous l'avons vu précédemment, au sein du système nerveux central, d'autres types cellulaires que les neurones peuvent être affectés par les pesticides. Certains auteurs décrivent ainsi des perturbations de la fonction des astrocytes et de la BHE. Les astrocytes jouant un rôle fondamental dans l'homéostasie de cette barrière.

Des astrocytes de rat en culture traités pour 48 h avec de la cyperméthrine ($> 50 \mu\text{M}$) présentent une viabilité réduite (Maurya et coll., 2014). Néanmoins, dans cette étude la viabilité cellulaire était analysée uniquement avec le *Microculture Tetrazolium Test* (MTT) mesurant l'activité de déshydrogénases mitochondriales et donc susceptible de révéler une atteinte de la fonction de ces organites et pas nécessairement de la viabilité cellulaire. Le traitement était aussi associé à une altération de la morphologie révélée par microscopie et marquage pour *Glial Fibrillary Acidic Protein*, un filament intermédiaire de l'astrocyte. Ce phénomène observé à très hautes doses entraîne aussi une altération de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ mais également une augmentation de la production d'ERO, des niveaux de phosphorylation de deux kinases de stress, p38 et JNK (effet rapide entre 10 min et 1 h, $100 \mu\text{M}$) et de plusieurs protéines susceptibles d'intervenir dans la fonction migratoire des astrocytes comme la métalloprotéinase matricielle 2, Disabled-1, la reeline (une protéine jouant un rôle clé dans les couches granulaires externe et interne du cervelet) et l' $\alpha_3\beta_1$ -intégrine. Ces résultats obtenus *in vitro* sont corroborés *in vivo* sur des rats en cours de développement chez lesquels une altération de la fonction de la BHE est observée (traitement journalier pendant 3 semaines de 10 mg/kg).

Cette action des pyréthriinoïdes sur la mitochondrie conduisant à un éventuel stress oxydant est corroborée par d'autres études. Une étude périnatale menée sur des souris exposées à la cyperméthrine ($5\text{-}20 \text{ mg/kg}$, de la gestation au 15^e jour suivant la naissance) montre que les déficits moteurs sont les premiers à se manifester suivis de défauts d'adaptation plus tard dans la vie des souris (Laugeray et coll., 2017). Parallèlement, des analyses transcriptomiques ont permis de révéler que les principaux processus cellulaires affectés sont la fonction mitochondriale et l'homéostasie protéique. Ces dérégulations sont compatibles avec un rôle potentiel pro-oxydant des pyréthriinoïdes. En effet, une production excessive d'ERO peut affecter le fonctionnement de la chaîne respiratoire et la structure des protéines. Ce ciblage de la mitochondrie est aussi évoqué par Gasmi et coll. dans une étude intéressante car réalisée à faible dose d'exposition à la deltaméthrine ($0,32 \text{ mg/kg/j}$) sur des rats Wistar ; celle-ci montre en effet une diminution des défenses anti-oxydantes mitochondriales, associée à une augmentation de biomarqueurs pro-oxydants

comme le malondialdéhyde dans l'hippocampe et le striatum (Gasmi et coll., 2017). Sur le plan métabolique, la dysfonction mitochondriale est associée à une diminution de la consommation de dioxygène (O_2) et de la libération de cytochrome C (une molécule dont l'action est pro-apoptotique, associée à l'augmentation d'activité de la caspase 3). Sur le plan comportemental, le traitement, pourtant à une dose relativement basse, conduit à une altération des capacités d'apprentissage et de mémorisation ainsi qu'un niveau d'anxiété plus élevé. Ces effets pro-apoptotiques de la deltaméthrine sont aussi observés à des doses d'exposition plus fortes comme par exemple sur des cellules neuronales corticales de rat (12,5 mg/kg, dose unique) (Khalatbary et coll., 2015).

Ces effets pro-oxydatifs des pyréthrinoïdes sont aussi communément décrits sur des modèles cellulaires, généralement à des doses supérieures à 25 μM pour des temps de traitement de plus de 24 h (Maurya et coll., 2014 ; Soorash et coll., 2015). Par exemple, la bifenthrine (1-20 μM , 4-24 h) provoque sur des cellules microgliales primaires de rats Sprague-Dawley, une augmentation de la production d'ERO associée à des niveaux élevés de prostaglandine E2 (liée à une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2), de TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α), de la peroxydation lipidique et d'oxydation protéique, tout en diminuant les défenses anti-oxydantes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase). Il en résulte une activation de l'expression de marqueurs de défense anti-oxydante (Nrf2, facteur de transcription régulant l'expression de « défenses » anti-oxydantes) ou de facteurs pro-inflammatoires (NF- κB , facteur de transcription activé par des cytokines pro-inflammatoires). À des doses équivalentes, une augmentation des caractéristiques de mort cellulaire est aussi observée sur des cultures organotypiques d'hippocampe et cet effet est amplifié par l'élimination des astrocytes de ce type de culture, suggérant que les astrocytes constituent un rempart de défense efficace contre les pesticides pour les neurones (Gargouri et coll., 2018a).

L'effet pro-oxydatif de l' α -cyperméthrine a été analysé sur la lignée de neuroblastome humain, SH-SY5Y. L' IC_{50} est comprise entre 70 et 80 μM en fonction du test utilisé pour estimer la cytotoxicité. Un traitement des cellules avec des doses croissantes entre 1 et 100 μM entraîne donc l'activation de la mort cellulaire sous-tendue par l'augmentation d'expression de gènes de l'apoptose, de la nécrose et de l'autophagie (Romero et coll., 2017a).

Ces effets sont aussi observés *in vivo* ; ainsi, l'exposition de rates durant la gestation et jusqu'au sevrage à des doses assez élevées de pyréthrinoïdes (bifenthrine, 3,6 mg/kg et β -cyfluthrine, 43 mg/kg) conduit à des défauts comportementaux généraux chez la descendance, ainsi que pour les descendants spécifiquement exposés à la β -cyfluthrine, à une élévation du taux de

mortalité et une diminution du gain de poids. Ceci se traduit au niveau moléculaire par des réductions d'activités enzymatiques anti-oxydantes et par conséquent par un stress oxydant dans le striatum, le cervelet et l'hippocampe (Syed et coll., 2016). Cet effet est aussi observé en cas d'administration de la bifenthrine à des rats Wistar adultes (3,5 ou 7 mg/kg quotidiennement pendant 30 jours) ou à des souris femelles Swiss ayant reçu de la β -cyfluthrine, associé dans certains cas à une diminution du niveau de certains neurotransmetteurs (dopamine, sérotonine, voir plus loin également) (Syed et coll., 2018 ; Rajawat et coll., 2019). Ces effets sont néanmoins confirmés avec des doses plus faibles (0,6 et 2,1 mg/kg de bifenthrine, chroniques car administrées quotidiennement) conduisant à des syndromes d'anxiété ou de dépression ainsi qu'à une élévation des marqueurs métaboliques et géniques de stress oxydant (COX2, NF- κ B, TNF- α , ERO) ; l'expression de l'acétylcholinestérase (AChE) est diminuée ainsi que celle de la choline acétyltransférase et de certains récepteurs muscariniques de l'acétylcholine dans le cortex frontal et le striatum (Syed et coll., 2016 ; Gargouri et coll., 2018b ; Gargouri et coll., 2019). Concernant la modulation d'expression de l'AChE, l'utilisation d'embryons de poissons zèbres montre que la cyperméthrine pourrait aussi moduler l'activité de cette enzyme (Stengel et coll., 2018). Sur le même modèle, la deltaméthrine (avec des doses très faibles, 0,01 μ g/l, 24 h après fertilisation) retarde le développement des embryons impactant l'expression de gènes impliqués dans ce processus comme *ntl*, *shh* et *krox20*. À partir de doses supérieures à 0,1 μ g/l, une hyperactivité est observée. Au-delà de 10 μ g/l, des malformations apparaissent (Liu et coll., 2018).

L'importance de cet effet oxydatif des pyréthri-noïdes est démontrée par l'utilisation d'antioxydants (quercétine, *Artemisia campestris*, fruit du lotus *Zizyphus*, *Crataegus oxyacantha*) pour contrer par exemple l'action de la deltaméthrine ou de la cyperméthrine (Gasmi et coll., 2017 ; Abdelhafidh et coll., 2018 ; Saoudi et coll., 2019).

La démonstration d'un rôle potentiel de l'AChE dans les effets des pyréthri-noïdes soulève également l'hypothèse d'une implication d'autres neurotransmetteurs comme la dopamine ou la sérotonine.

Modulation des niveaux de plusieurs neurotransmetteurs

Une étude computationnelle réalisée avec la base de données ToxCast identifie des cibles originales pour les pyréthri-noïdes dont les récepteurs nucléaires RAR (α , β , γ) ou le transporteur dopaminergique SLC63 (identifiées en lien avec plusieurs pyréthri-noïdes). D'autres cibles potentielles sont citées comme

le récepteur du GABA- α 1 (GABRA1) ou les récepteurs muscariniques cholinergiques CHMR1 et CHMR3 (Chushak et coll., 2018).

- **Dopamine**

La dopamine est un neurotransmetteur de type catécholamine dérivé du métabolisme des acides aminés aromatiques (comme la tyrosine ou la phénylalanine), qui provoque une sensation de plaisir du fait de son implication dans les systèmes comportementaux de la récompense. Elle influence donc la motivation et la prise de risques et donc, en cas d'excès, favorise les conduites à risque. Elle est produite dans plusieurs régions du cerveau dont la substance noire, dont la dégénérescence conduit à la maladie de Parkinson.

Sur le plan expérimental, l'action des pyréthrinoïdes sur le système dopaminergique et plus généralement la synapse a été récemment démontrée. Richardson et coll. ont administré de la deltaméthrine par voie orale à des souris femelles de la souche C57BL/6J tous les 3 jours pendant la gestation (Richardson et coll., 2015). Les doses utilisées (0,3, 1 et 3 mg/kg) ont été basées sur une modélisation des niveaux d'exposition aux pyréthrinoïdes chez des femmes enceintes. L'exposition pendant la période prénatale a conduit à une augmentation dose-dépendante des niveaux d'expression du transporteur de la dopamine (DAT) dans le striatum qui était deux fois plus importante chez les mâles que chez les femelles. Cet effet, qui n'était pas observé pour d'autres transporteurs, a pour conséquence une hypersensibilité à d'autres neurotoxiques (comme le MPTP, un agent qui cause des symptômes parkinsoniens). Logiquement, une baisse de la concentration synaptique de dopamine, probablement capturée par le DAT, spécifiquement chez les mâles, associée à une hyperactivité et des déficits de mémoire et d'attention, est observée. Cette étude très complète réalisée selon un protocole pertinent sur le plan environnemental, se conclut par une analyse épidémiologique complémentaire montrant une association entre métabolites urinaires des pyréthrinoïdes et syndromes de type autistique ou de déficit de l'attention, corroborant l'étude mécanistique. La recapture probable de dopamine médiée par le DAT est aussi démontrée dans d'autres études, toujours au niveau du striatum selon un protocole assez similaire (Bloomquist et coll., 2002). D'autres pyréthrinoïdes ont été étudiés dans ce contexte (Elwan et coll., 2006). Chez des souris C57BL/6 qui sont exposées selon une large gamme de concentrations (0,1-200 mg/kg, 1 fois par semaine, pendant 3 semaines) à la perméthrine, on observe, comme pour la deltaméthrine, une augmentation de l'expression du DAT pour la faible dose de 0,8 mg/kg. Point important dans cette dernière étude, malgré l'arrêt de l'exposition (28 jours, temps maximal étudié), cette augmentation persiste dans le temps (Gillette et Bloomquist, 2003).

L'augmentation du DAT est confirmée à l'aide d'autres protocoles et d'autres pyréthrinoïdes. Des rats adultes Sprague-Dawley exposés quotidiennement pendant 60 jours à une dose assez élevée de fenpropathrine (15 mg/kg) présentent des diminutions de l'expression de la tyrosine hydroxylase (TH, enzyme de la voie de synthèse de la dopamine), d'un des transporteurs de la dopamine VMAT2 mais aussi, de manière cohérente avec les autres études, une augmentation de celle du DAT. Comme pour l'étude de Gillette et Bloomquist, si l'exposition est arrêtée, les effets sur la TH s'accroissent après 60 jours (Xiong et coll., 2016). Par ailleurs, la cyfluthrine en exposition orale sur des rats mâles (1-20 mg/kg/j pendant 6 j) provoque une diminution des niveaux de dopamine et de ses métabolites (> 5 mg/kg) et au-delà de 20 mg/kg, une augmentation du renouvellement du neurotransmetteur, au niveau du striatum et du cortex préfrontal (Rodriguez et coll., 2016). Dans cette étude, une modulation des niveaux de la sérotonine (striatum), est aussi constatée.

- **Sérotonine**

La sérotonine est un neurotransmetteur impliqué dans la régulation de nombreux comportements et fonctions physiologiques fondamentaux comme la dépression, le sommeil, les comportements agressifs ou sexuels... Ainsi, une baisse de la concentration de la sérotonine a été décrite dans la dépression ; cette baisse peut également entraîner une augmentation des comportements agressifs et de l'activité locomotrice alors qu'une augmentation peut favoriser un comportement d'opposition (Lucki, 1998). Le système sérotoninergique est une cible majeure dans les traitements pharmacologiques de la dépression.

L'homéostasie de la sérotonine peut être sensible aux effets neurotoxiques des pyréthrinoïdes. En effet, elle peut être perturbée par un panel de pyréthrinoïdes (alléthrine, cyhalothrine, deltaméthrine) au niveau striatal chez le rat selon des profils parfois très différents (Hossain et coll., 2013). Or, les liens entre systèmes dopaminergique et sérotoninergique sont importants comme l'illustre la forte innervation du striatum par des neurones à sérotonine (Sourkes et Poirier, 1965). Ainsi l'alléthrine (10 mg/kg) réduit les niveaux extracellulaires de sérotonine (46 %) tandis que des doses plus élevées (20 et 60 mg/kg) l'augmente franchement (respectivement 177 % et 243 %). La cyhalothrine l'augmente (145-204 %) tandis que la deltaméthrine la diminue (32-58 %) de manière dose-dépendante. Tous ces effets sont bloqués par la tétradoxine (qui bloque les canaux sodiques voltage-dépendants) et ceux de la deltaméthrine spécifiquement par un antagoniste des canaux calciques (Hossain et coll., 2013).

Le stress est connu pour affecter les systèmes sérotoninergique et dopaminergique. Les interrelations entre ces deux systèmes de neurotransmetteurs sont aussi suggérées indirectement par des études comportementales menées sur des rats adultes après un traitement avec 10 mg/kg de deltaméthrine conduisant à un stress chez les animaux caractérisé par la réduction de l'interaction sociale et les taux élevés de corticostérone (Habr et coll., 2014). La deltaméthrine augmente ces effets chez les rats soumis à un stress supplémentaire induit par un test de la nage forcée. D'autres pyréthrinoïdes favorisent l'apparition de ce type de symptômes ; ainsi, la neurotoxicité de la λ -cyhalothrine a été investiguée à l'aide de modèles de stress chez le rat (test d'immobilisation et de la nage forcée) ; l'association du stress puis du traitement (3 mg/kg, *per os*, pendant 3 jours) comparativement au stress seul ou traitement seul, conduit à une augmentation élevée des niveaux de corticostérone, une perturbation de la fonction de la BHE (pouvant suggérer une possible perte de perméabilité) et une altération des niveaux d'amines biogéniques et de leurs métabolites dans l'hypothalamus, le cortex frontal, l'hippocampe et le striatum (Shukla et coll., 2017).

- **Glutamate et GABA**

Bien que relativement stables dans leurs effets notamment au niveau dopaminergique, la nature des pyréthrinoïdes ou leur dose, peut avoir une influence sur l'augmentation ou la diminution de niveaux de certains neurotransmetteurs comme le glutamate et le GABA. Ainsi, l'alléthrine augmente le relargage de glutamate dans l'hippocampe à 10 et 20 mg/kg (administration intrapéritonéale) et diminue celui-ci au-delà ; elle a un effet totalement opposé sur le GABA. La cyhalothrine a un effet inhibiteur dose-dépendant sur le glutamate et là aussi totalement opposé sur les niveaux de GABA. Enfin, la deltaméthrine a un effet dose-dépendant activateur sur les niveaux extracellulaires de glutamate et inhibiteur sur le GABA. Cet effet passerait là encore par une action sur les canaux sodiques et calciques voltage-dépendants (Hossain et coll., 2008). Une autre étude dédiée spécifiquement au glutamate montre que la β -cyperméthrine à des doses assez fortes (20-80 mg/kg, dose unique mais exposition courte de 4 h seulement) diminue les niveaux du neurotransmetteur dans le cortex de souris (à 80 mg/kg) sans affecter les niveaux d'activité enzymatique impliqués dans son métabolisme (Cao et coll., 2015). Ces traitements sont associés à des symptômes comportementaux.

Ces résultats obtenus à des doses relativement élevées pourraient être importants car l'équilibre entre les concentrations extracellulaires de GABA (interneurones inhibiteurs) et de glutamate dans l'hippocampe influencent l'apprentissage et la mémoire.

Différenciation neuronale et croissance neuritique

Plusieurs études *in vivo* montrent que les pyréthrinoïdes peuvent affecter la différenciation neuronale notamment la croissance de l'extension neuritique. Une étude de 2013 montre ainsi que l'exposition prénatale à la deltaméthrine (par l'administration d'une dose de 0,75 mg/kg chez les rates gravides pendant les jours 7-10 ou 11-14 de la gestation) conduit à une surexpression de la reeline dans la couche granulaire du cortex cérébelleux, entraînant un défaut d'organisation des couches de cet organe et de la croissance neuritique des cellules de Purkinje (Kumar et coll., 2013). Les effets ont été observés chez la descendance exposée pendant les deux périodes de développement embryonnaire. De même, chez les souris, la perméthrine administrée une seule fois à des doses entre 2 et 75 mg/kg au 10^e jour de gestation, conduit à des défauts de développement de l'arbre vasculaire cérébral (dès 2 mg/kg), de l'épaisseur du néocortex et de l'hippocampe associés à des défauts comportementaux (locomoteur, équilibre) chez les souriceaux mâles de 8 semaines, pour certains dès 2 mg/kg (Imanishi et coll., 2013). Ces résultats ne sont cependant pas confirmés *in vitro* par l'utilisation de cellules de phéochromocytome de rat PC-12, une lignée cellulaire utilisée pour étudier les effets neurotoxiques *in vitro* du fait de leur potentialité à être différenciées en cellules présentant des caractéristiques neuronales, comme la présence de neurites (Westerink et Ewing, 2008). Après 5 jours d'exposition, la λ -cyhalothrine, la cyfluthrine, la deltaméthrine et la perméthrine (1-100 μ M) ont peu d'effets (Christen et coll., 2017).

En résumé, de nombreux modes d'action sont décrits pour les pyréthrinoïdes et il serait légitime de penser que le ciblage des canaux sodiques voltage-dépendants chez les insectes, rend ces cibles pertinentes chez les vertébrés qui en expriment aussi de nombreuses isoformes. Si plusieurs études démontrent effectivement un impact des pyréthrinoïdes sur celles-ci, de nombreux autres modes d'action pertinents car observés à faibles doses aussi bien *in vivo* que *in vitro*, ont aussi été identifiés (figure 3.2).

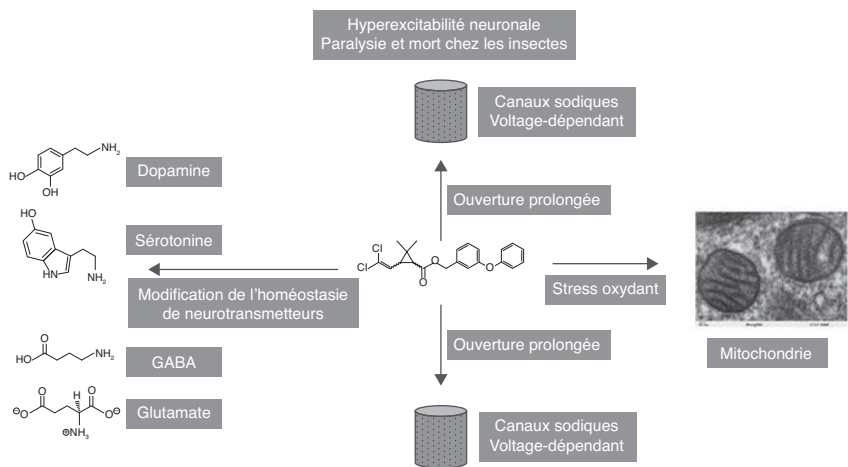


Figure 3.2 : Multiples modes d'action décrits pour les pyréthrinoides chez les vertébrés en lien avec des déficits neurocomportementaux

C'est le cas par exemple d'un dysfonctionnement de plusieurs types de canaux calciques, entraîné par plusieurs pyréthrinoides (deltaméthrine, cyperméthrine) ou de manière très cohérente, d'une augmentation d'expression du transporteur de la dopamine DAT entraînant probablement une recapture de dopamine. La sensibilité des individus dans ces modes d'action représente un élément clé ; ainsi, des études menées sur la perméabilité de la BHE à différents stades de développement montrent que l'imprégnation cérébrale en deltaméthrine est inversement proportionnelle à l'âge, suggérant que la BHE est hyperperméable chez les jeunes organismes (Amaraneni et coll., 2017). Cette sensibilité des « jeunes » organismes est démontrée sur de nombreux modèles expérimentaux (rongeurs en exposition périnatale, embryons de poissons zèbres) (Liu et coll., 2018 ; Stengel et coll., 2018).

Des mécanismes d'action originaux (ciblage des protéines au protéasome, modifications épigénétiques) pourraient intervenir dans les effets des pyréthrinoides mais avec, à l'heure actuelle, peu de publications et parfois des protocoles utilisant de très hautes doses (Bordoni et coll., 2019 ; Huang et coll., 2019 ; Vester et coll., 2020). Enfin, les pyréthrinoides sont souvent utilisés en mélange et l'analyse des effets de cocktails de pyréthrinoides est une voie de recherche en développement. À titre d'exemple, un cocktail de bifenthrine, téfluthrine, α -cyperméthrine et deltaméthrine sur les fonctions cellulaires a été testé sur des cellules non neuronales (astrocytome C6). Comparativement aux molécules seules, les effets du mélange sont potentialisés et observés pour des concentrations de l'ordre du nanomolaire (Romero et coll., 2017b).

Conclusion

Il existe à ce jour un grand nombre d'études utilisant des biomarqueurs d'exposition qui se sont intéressées aux effets de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant la grossesse sur le développement neuropsychologique de l'enfant. Les premières cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants ont été décrites dans l'expertise précédente de 2013 ; ces cohortes ont été conduites aux États-unis dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus et ont montré des déficits cognitifs jusqu'à l'âge de 7 ans en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Depuis, ces observations n'ont pas été rapportées ni à des âges ultérieurs par ces mêmes cohortes, ni par deux des quatre études plus récentes, européennes ou nord-américaines. La diminution des performances cognitives des enfants d'âge scolaire et des altérations du développement psychomoteur et de l'acuité visuelle chez le jeune enfant ont été observées par les études récentes qui présentaient les niveaux d'exposition parmi les plus élevés de la littérature, pour la majorité asiatique et une étude européenne.

L'apparente contradiction des résultats peut être expliquée par une ou plusieurs des hypothèses : une réversibilité possible des effets par des mécanismes de compensation acquis avec l'âge ou par des stimulations cognitives reçues par l'enfant ; l'existence d'une vulnérabilité sociale et/ou ethnique face à ces expositions ; la diminution de l'usage des insecticides organophosphorés au cours de ces deux dernières décennies ; une variation des sources d'exposition et/ou les combinaisons (mélanges) d'insecticides organophosphorés présents dans les produits agricoles et domestiques.

Quelques études de cohortes récentes montrent une atteinte possible des capacités sociales des enfants avec des comportements évocateurs du spectre autistique, observée jusqu'à un âge adolescent, en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Les modèles animaux et mécanistiques étudiant la neurotoxicité d'insecticides organophosphorés avaient été abordés dans l'expertise précédente de 2013 (voir chapitre « Mécanismes d'action neurotoxique des pesticides ») et confirmaient la plausibilité biologique d'une neurotoxicité développementale, en particulier pour le chlorpyrifos.

Il n'existe pas de nouvelles études chez l'être humain renforçant le lien suggéré par la précédente expertise de 2013 spécifiquement pour le malathion et le méthyl-parathion (famille des organophosphorés) ainsi que le propoxur (famille des carbamates).

La littérature épidémiologique s'intéressant au rôle des insecticides pyréthri-noïdes sur la santé neurodéveloppementale est récente et fait suite à l'augmen-tation de leurs usages en substitution aux insecticides organophosphorés. Ces études sont également pour la plupart des cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants, et utilisent des biomarqueurs urinaires connus pour la mesure de l'exposition. Une concordance de résultats entre les études, quel que soit le contexte, est observée et suggère une augmentation des troubles du comportement de l'enfant de type internalisé (par exemple anxiété) en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthri-noïdes. Concernant son rôle sur une diminution des capacités cognitives des enfants, les résultats sont moins convain-cants. Aucune molécule spécifique n'a pu être identifiée dans cette littérature.

Si plusieurs études toxicologiques démontrent effectivement un impact des molécules pyréthri-noïdes sur les canaux sodiques voltage-dépendants, ciblés chez les insectes, de nombreux autres modes d'action pertinents ont aussi été identifiés : un dysfonctionnement de plusieurs types de canaux calciques ou une augmentation d'expression du transporteur de la dopamine. Ces méca-nismes ont été observés à de faibles doses utilisées *in vivo* ou *in vitro* et en lien avec un impact sur le comportement animal. Des études animales menées à différents stades de développement montrent que l'imprégnation cérébrale en deltaméthrine est inversement proportionnelle à l'âge suggérant que la barrière hémato-encéphalique est hyperperméable chez les plus jeunes orga-nismes, pouvant expliquer leur plus grande sensibilité. La littérature toxico-logique depuis 2013 rapporte d'autres mécanismes d'action originaux (ciblage des protéines au protéasome, modifications épigénétiques), ainsi que le rôle des mélanges qui pourraient intervenir dans les mécanismes des molécules pyréthri-noïdes mais qui restent à identifier. Finalement, l'ensemble des don-nées toxicologiques sur les mécanismes d'action apporte des arguments en faveur du rôle de l'exposition prénatale aux insecticides pyréthri-noïdes dans le développement de troubles neuropsychologiques chez l'enfant.

Enfin, l'exposition de la population générale aux pesticides par les applications agricoles à proximité des lieux de vie des populations est particulièrement dif-ficile à évaluer. Plusieurs études, utilisant le géocodage des lieux de résidence pendant la grossesse ou l'enfance pour estimer l'exposition, ont rapporté des déficits intellectuels et un risque plus élevé de présence de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec la proximité résidentielle (< 1,5 km) aux activités agricoles. En particulier, ont été incriminées les familles organophos-phorées, pyréthri-noïdes et carbamates, en cohérence avec les études utilisant des biomarqueurs d'exposition. Concernant l'usage pendant la grossesse au domi-cile de produits pour lutter contre des insectes ou autres nuisibles, le niveau de preuve d'une atteinte neurodéveloppementale possible chez l'enfant reste faible.

Tableau 3.1 : Principales cohortes mères-enfants d'Europe et d'Amérique du Nord, utilisant des marqueurs urinaires ou sanguins d'exposition aux insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes pendant la grossesse

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales		Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte CHAMACOS <i>Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas</i> Bouchard et coll., 2011 Stein et coll., 2016 Sagiv et coll., 2018	Vallée de Salinas, Californie, États-Unis 1999-2000 n = 601 (inclusion lors de visite prénatale)	DAP	m(g) = 125 nmol/l m(g) = 144 nmol/g créat	Comportement social/traits évocateurs du spectre autistique : <i>Social Responsiveness Scale Version 2</i> (SRS-2), auto-rapporté par les parents à 14 ans de l'enfant pour les 6 derniers mois
		DMP	m(g) = 93 nmol/l m(g) = 106 nmol/g créat	Comportement général dont les capacités sociales : <i>Behavioral Assessment Scale for Children Version 2</i> (BASC-2), auto-rapporté par les parents et les enseignants à 7 ans, et par les parents à 10,5 et 14 ans pour les derniers mois
		DEP	m(g) = 20 nmol/l m(g) = 24 nmol/g créat	Performances intellectuelles (QI) : <i>The Wechsler Intelligence Scale</i> , 4 ^e édition (WISC-IV), par des psychologues à 7 ans
		(Sagiv et coll., 2018 ; données imputées lorsque < LOD)		Perception sociale/capacité à deviner les émotions des autres : <i>Evaluación Neuropsicológica Infantil, Facial Expression Recognition Test</i> , par des psychologues à 9 ans ; et NEPSY-II affect Recognition, par des psychologues à 12 ans
Cohorte multiethnique CEHS <i>Children's Environmental Health Study</i> de l'hôpital Mount Sinaï à New York Furlong et coll., 2017a et b	New York, États-Unis 1998-2001 n = 404 (inclusion lors de visite prénatale)	DMP	m(g) = 37 nmol/l	Fonctions exécutives : <i>Behavior Rating Inventory of Executive Functioning</i> (BRIEF) auto-rapporté par les parents à 4, 6, 7-9 ans pour les 6 derniers mois
		DEP	m(g) = 17 nmol/l (Furlong et coll., 2017a ; données imputées lorsque < LOD)	Comportement général : <i>Behavioral Assessment Scale for Children Version 2</i> (BASC-2), auto-rapporté par les parents à 4, 6, 7-9 ans pour les derniers mois
		3-PBA	30 % > LOD (75 ^e perc = 0,34 µg/l)	Performances intellectuelles (QI) : <i>Wechsler Preschool and Primary Scales of Intelligence-III</i> (WPPSI-III) par des psychologues à 6 ans et <i>Wechsler Intelligence Scales-IV</i> (WISC-IV) par des psychologues à 7-9 ans
		cis-DCCA trans-DCCA	14 % > LOD 22 % > LOD (Furlong et coll., 2017b)	

Tableau 3.1 : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales		Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte CCEH <i>Columbia Center for Children's Environmental Health</i> de l'Université Columbia	New York, États-Unis	Sang de cordon		Développement cognitif et du langage (<i>Mental Developmental Index</i>) et moteur (<i>Psychomotor Developmental Index</i>) : <i>Bayley Scales of Infant Development, Second Edition</i> (Bayley-II), par des enquêteurs formés, à 36 mois
	1998-2006	Chlorpyrifos	60 % > LOD m(a) = 0,36 pg/g	
Horton et coll., 2011 Rauh et coll., 2015	n = 725 (inclusion lors de visite prénatale)	cis-Perméthrine	7 % > LOD	Dessins de la spirale d'Archimède, à l'âge de 11 ans ; avec un codage des tremblements par un neurologue spécialisé dans les troubles moteurs
		trans-Perméthrine (Horton et coll., 2011)	5 % > LOD	
Cohorte HOME <i>Health Outcomes and Measures of the Environment</i>	Cincinnati, États-Unis	DAP	100 % > LOD m(g) = 74 nmol/l m = 97 nmol/g créat	Réflexes et réactions aux stimuli sensoriels : <i>NICU Network Neurobehavioral Scale</i> (NNNS) à 5 semaines de vie
Yolton et coll., 2013 Donauer et coll., 2016 Millenson et coll., 2017	n = 398 (inclusion lors de visite prénatale)	DMP	100 % > LOD m(g) = 46 nmol/l m = 64 nmol/g créat	Développement cognitif, du langage (<i>Mental Developmental Index</i>) et moteur (<i>Psychomotor Developmental Index</i>) : <i>Bayley Scales of Infant Development, Second Edition</i> (Bayley-II), par deux enquêteurs formés, à 1, 2 et 3 ans
		DEP	93 % > LOD m(g) = 9 nmol/l m = 21 nmol/g créat (Yolton et coll., 2013 ; Donauer et coll., 2016)	Développement du langage et de la communication : <i>Clinical Evaluation of Language Fundamentals-Preschool, Second Édition</i> , par deux enquêteurs formés, à 4 ans
				Performances intellectuelles (QI) : <i>Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, Third Edition</i> , par deux enquêteurs formés, à 5 ans
				Comportement social/traits évocateurs du spectre autistique : <i>Social Responsiveness Scale Version 2</i> (SRS-2), auto-rapporté par les parents à 8 ans de l'enfant pour les 6 derniers mois

Tableau 3.1 : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales		Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte à Central Ohio Fluegge et coll., 2016	Central Ohio, États-Unis 2002-2005 n = 140 (inclusion lors de visite prénatale)	TCPy	m = 20 ng/kg/j	Développement cognitif, du langage (<i>Mental Developmental Index</i>) et moteur (<i>Psychomotor Developmental Index</i>) : <i>Bayley Scales of Infant Development, Second Edition</i> (Bayley-II) à 3 mois
		IMPy	15 % > LOD	
		3-PBA	96 % > LOD m = 8 ng/kg/j (sur valeurs > LOD)	
		cis-DCCA	50 % > LOD m = 0,01 ng/kg/j (sur valeurs > LOD)	
		trans-DCCA	58 % > LOD m = 5,5 ng/kg/j (sur valeurs > LOD)	
		4F3-PBA, DMCA1/2, CIAA et DBCA < 15 % > LOD		
Cohorte PELAGIE Perturbateurs endocriniens : étude longitudinale sur les anomalies de la grossesse, l'infertilité et l'enfance Viel et coll., 2015, 2017 Cartier et coll., 2016, 2018	Bretagne, France 2002-2006 n = 3 421 (inclusion lors de la 1 ^{re} visite prénatale)	DAP	91 % > LOD m = 44 nmol/l	Performances intellectuelles (QI) : <i>Wechsler Intelligence Scales-IV</i> (WISC-IV) par deux psychologues à 6 ans
		DMP	90 % > LOD m = 34 nmol/l	Comportement général : <i>Strength and Difficulties Questionnaire</i> , auto-rapporté par les parents à 6 ans, pour les derniers mois
		DEP	40 % > LOD 75 ^e perc = 13 nmol/l	
		3-PBA	30 % > LOD	
		4F3-PBA	9 % > LOD	
		cis-DCCA	65 % > LOD m = 0,09 µg/l	
		trans-DCCA	98 % > LOD m = 0,14 µg/l	
		cis-DBCA	68 % > LOD m = 0,10 µg/l (Cartier et coll., 2016 ; Viel et coll., 2015)	

Tableau 3.1 : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales		Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte GENERATION R Jusko et coll., 2019	Région de Rotterdam, Pays-Bas	DAP	n.r. % > LOD m = 310 nmol/g créat	Capacités non verbales visuospatiales et de raisonnement abstrait : sous-tests <i>Mosaics</i> et <i>Categories</i> du <i>Snijders-Oomen Nonverbal Intelligence Test-Revised</i> , test développé aux Pays-Bas indépendant du langage
	2002-2006	DMP	n.r. % > LOD m = 253 nmol/g créat	
	n = 9 778 (inclusion lors de visite prénatale)	DEP (Pour les urines collectées > 25 semaines de grossesse ; médianes équivalentes pour les 2 premiers trimestres de grossesse)	n.r. % > LOD m = 42 nmol/g créat	
Cohorte OCC Odense <i>Child Cohort</i>	Région d'Odense, Danemark	TCPy	90 % > LOD m = 1,61 µg/l	Comportement de l'enfant, indices relatifs à des déficits attentionnels, de l'hyperactivité, et de l'impulsivité : <i>Child Behavior Check List (CBCL)</i> pour les âges de 1,5 an à 5 ans, auto-rapporté par les parents à l'âge de 27 mois de leur enfant
Dalsager et coll., 2019	2010-2012 n = 2 500 (inclusion lors de visite prénatale)	3-PBA	94 % > LOD m = 0,24 µg/l	
		4F3-PBA	0,1 % > LOD	
		cis-DCCA	2,8 % > LOD	
		trans-DCCA	11,4 % > LOD	
		cis-DBCA	3 % > LOD	
Cohorte ELEMENT <i>Early Life Exposures in Mexico to Environmental Toxicants</i>	Mexique 1997-2005	TCPy	90 % > LOD m = 1,8 µg/l	Comportement de l'enfant, indices relatifs à des déficits attentionnels, de l'hyperactivité, et de l'impulsivité : <i>Conners' Parental Rating Scales-Revised (CPRS-R)</i> , <i>Parental Rating Scales (PRS)</i> du <i>Behavior Assessment System for Children (BASC)</i> , auto-rapportés par les parents et le <i>Continuous Performance Test (CPT)</i> sur ordinateur pour l'âge de 6-11 ans de leur enfant
Fortenberry et coll., 2014 Watkins et coll., 2016	n = 187 (inclusion lors de visite prénatale)	3-PBA	46 % > LOD m(g) = 0,26 µg/l (sur valeurs > LOD) 75° perc = 0,34 µg/l	

Tableau 3.1 : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales		Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte VHEMBE <i>Venda Health Examination of Mothers, Babies and the Environment</i> Eskenazi et coll., 2018	Limpopo, Afrique du Sud 2012-2013 n = 752 (inclusion à l'accouchement)	3-PBA	100 % > LOD m = 0,7 µg/l	Développement cognitif et du langage (<i>Mental Developmental Index</i>) et moteur (<i>Psychomotor Developmental Index</i>) : <i>Bayley Scales of Infant Development, Third Edition (BSID-III)</i> , par des enquêteurs formés, à 1 an (échelle complète) et 2 ans (sans le domaine socio-émotionnel). Noter que la BSID prévoit que la sphère socio-émotionnelle est auto-rapportée par la mère
		4F3-PBA	12 % > LOD	
		cis-DCCA	100 % > LOD m = 0,30 µg/l	
		trans-DCCA	100 % > LOD m = 0,34 µg/l	
Cohorte LWBC <i>Laizhou Wan Birth Cohort</i> Wang et coll., 2017	Shandong, Chine 2011-2013 n = 436 (inclusion à l'accouchement)	DAP (DEP, DETP, DMP, DMTP)	n.r. % > LOD m = 353 nmol/g créat	Quatre domaines de développement de l'enfant (social, langage, adaptative, et moteur) : <i>Gesell Developmental Schedules</i> , par des pédiatres formés, à l'âge de 12 et 24 mois de l'enfant
Cohorte de Shenyang Zhang et coll., 2014	Chine 2011-2012 n = 249 (inclusion à l'accouchement)	DMP (DMP, DMTP)	n.r. % > LOD m = 284 nmol/l	Comportement et tests de réflexes et réactions du nouveau-né : <i>Neonatal Behavioral Neurological Assessment</i> , par deux enquêteurs formés, aux 3 jours de vie
		DEP	n.r. % > LOD m = 107 nmol/l	
Cohorte de Fuyang Silver et coll., 2017, 2018	Région agricole de Zhejiang, Chine 2008-2011 n = 359 (inclusion en visite prénatale de fin de grossesse)	Sang de cordon Chlorpyrifos	37 % > LOD 75 ^e perc = 0,56 ng/ml	Capacités motrices : <i>Peabody Developmental Motor Scales</i> par un enquêteur formé à l'âge de 6 semaines et 9 mois Acuité visuelle du jeune enfant : <i>Teller acuity card</i> , par un enquêteur formé à l'âge de 6 semaines, 9 et 18 mois Activité électrique cérébrale autour des zones de fonction de l'audition : <i>Auditory brainstem response</i> par un enquêteur formé à l'âge de 6 semaines, 9 et 18 mois
		(Silver et coll., 2017)		

Tableau 3.1 : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales		Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte <i>Sheyang Mini Birth Cohort</i>	Région agricole de Sheyang, Chine	DAP	100 % > LOD m = 296 nmol/l	Quatre domaines de développement de l'enfant (social, langage, adaptative, et moteur) : <i>Gesell Developmental Schedules</i> , par des pédiatres formés, à l'âge de 24 et 36 mois de l'enfant
Liu et coll., 2016 Guo et coll., 2019	2009-2010 n = 1 303 (inclusion à l'accouchement)	DMP	100 % > LOD m = 128 nmol/l	
		DEP	100 % > LOD m = 135 nmol/l	
		TCP γ	100 % > LOD m = 5,4 μ g/l m = 7,7 μ g/g créat	
Cohorte à Tokyo	Tokyo, Japon	3-PBA	n.r. % > LOD m = 0,39 ng/ml	Développement (social, langage, moteur) et comportement de l'enfant : <i>Kinder Infant Development Scale</i> , auto-rapporté par la mère avant l'âge de 18 mois
Hisada et coll., 2017	2009-2011 n = 194 (inclusion en début de grossesse)			

3-PBA : acide 3-phénoxybenzoïque (métabolite de pyréthrinoides) ; 4F3-PBA : acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque (métabolite de pyréthrinoides) ; CIAA : acide 4-chlorophényl-2-isopropylacétique (métabolite de pyréthrinoides) ; créat : créatinine ; DAP : dialkylphosphates (métabolites des organophosphorés, somme de 6 métabolites de la famille des DEP et DMP ; sauf quand précisé) ; DBCA : acide 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (métabolite de la deltaméthrine) ; DCCA : acide 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (métabolite de la perméthrine, cyperméthrine, et la cyfluthrine) ; DEP : diéthylphosphates (somme de 3 métabolites : DEP, DETP, DEDTP) ; DMCA1/2 : acide 3-(2,2-diméthylvinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (métabolites de pyréthrinoides) ; DMP : diméthylphosphates (somme de 3 métabolites : DMP, DMTP, DMDTP) ; LOD : limite de détection ; m : médiane ; m(a) : moyenne arithmétique ; m(g) : moyenne géométrique ; n.r. : non renseigné dans les articles ; perc : percentile ; TCP γ : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (métabolite du chlorpyrifos) ; IMPy : 2-isopropyl-4-méthyl-6-hydroxypyrimidine (métabolite du diazinon)

RÉFÉRENCES

- Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Abdelhafidh K, Mhadhbi L, Mezni A, *et al.* Protective effect of *Zizyphus lotus* jujube fruits against cypermethrin-induced oxidative stress and neurotoxicity in mice. *Biomarkers* 2018 ; 23 : 167-73.

Amaraneni M, Pang J, Mortuza TB, *et al.* Brain uptake of deltamethrin in rats as a function of plasma protein binding and blood-brain barrier maturation. *Neurotoxicology* 2017 ; 62 : 24-9.

Anand SS, Kim K-B, Padilla S, *et al.* Ontogeny of hepatic and plasma metabolism of deltamethrin in vitro: role in age-dependent acute neurotoxicity. *Drug Metab Dispos* 2006 ; 34 : 389-97.

ATDSR. *Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids*. US. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA, USA, 2003.

Baskar MK, Murthy PB. Acute in vitro neurotoxicity of some pyrethroids using microelectrode arrays. *Toxicol In Vitro* 2018 ; 47 : 165-77.

Bloomquist JR, Barlow RL, Gillette JS, *et al.* Selective effects of insecticides on nigrostriatal dopaminergic nerve pathways. *Neurotoxicology* 2002 ; 23 : 537-44.

Bordoni L, Nasuti C, Fedeli D, *et al.* Early impairment of epigenetic pattern in neurodegeneration: Additional mechanisms behind pyrethroid toxicity. *Exp Gerontol* 2019 ; 124 : 110629.

Bouchard MF, Chevrier J, Harley KG, *et al.* Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1189-95.

Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, *et al.* Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. *Pediatrics* 2010 ; 125 : e1270-7.

Bouvier G, Seta N, Vigouroux-Villard A, *et al.* Insecticide urinary metabolites in nonoccupationally exposed populations. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2005 ; 8 : 485-512.

Brander SM, Gabler MK, Fowler NL, *et al.* Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with a focus on fishes. *Environ Sci Technol* 2016 ; 50 : 8977-92.

Burr SA, Ray DE. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicological Sciences* 2004 ; 77 : 341-6. •

Cao D, Chen N, Zhu C, *et al.* beta-cypermethrin-induced acute neurotoxicity in the cerebral cortex of mice. *Drug Chem Toxicol* 2015 ; 38 : 44-9.

Cartier C, Warembourg C, Monfort C, *et al.* Children's contrast sensitivity function in relation to organophosphate insecticide prenatal exposure in the mother-child PELAGIE cohort. *Neurotoxicology* 2018 ; 67 : 161-8.

Cartier C, Warembourg C, Le Maner-Idrissi G, *et al.* Organophosphate insecticide metabolites in prenatal and childhood urine samples and intelligence scores at 6 years of age: results from the mother-child PELAGIE Cohort (France). *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 674-80.

Christen V, Rusconi M, Crettaz P, *et al.* Developmental neurotoxicity of different pesticides in PC-12 cells in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017 ; 325 : 25-36.

Chushak YG, Shows HW, Gearhart JM, *et al.* In silico identification of protein targets for chemical neurotoxins using ToxCast in vitro data and read-across within the QSAR toolbox. *Toxicol Res (Camb)* 2018 ; 7 : 423-31.

Clark JM, Symington SB. Neurotoxic implications of the agonistic action of CS-syndrome pyrethroids on the N-type Ca(v)2.2 calcium channel. *Pest Manag Sci* 2008 ; 64 : 628-38.

Dalsager L, Fage-Larsen B, Bilenberg N, *et al.* Maternal urinary concentrations of pyrethroid and chlorpyrifos metabolites and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms in 2-4-year-old children from the Odense Child Cohort. *Environ Res* 2019 ; 176 : 108533.

Donauer S, Altaye M, Xu Y, *et al.* An observational study to evaluate associations between low-level gestational exposure to organophosphate pesticides and cognition during early childhood. *Am J Epidemiol* 2016 ; 184 : 410-8.

Dusza HM, Cenijn PH, Kamstra JH, *et al.* Effects of environmental pollutants on calcium release and uptake by rat cortical microsomes. *Neurotoxicology* 2018 ; 69 : 266-77.

Elwan MA, Richardson JR, Guillot TS, *et al.* Pyrethroid pesticide-induced alterations in dopamine transporter function. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006 ; 211 : 188-97.

Engel SM, Bradman A, Wolff MS, *et al.* Prenatal organophosphorus pesticide exposure and child neurodevelopment at 24 months: an analysis of four birth cohorts. *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 822-30.

Eskenazi B, An S, Rauch SA, *et al.* Prenatal exposure to DDT and pyrethroids for malaria control and child neurodevelopment: The VHEMBE Cohort, South Africa. *Environ Health Perspect* 2018 ; 126 : 47004.

Fluegge KR, Nishioka M, Wilkins JR, 3rd. Effects of simultaneous prenatal exposures to organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides on infant neurodevelopment at three months of age. *J Environ Toxicol Public Health* 2016 ; 1 : 60-73.

Fortenberry GZ, Meeker JD, Sanchez BN, *et al.* Urinary 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPY) in pregnant women from Mexico City: distribution, temporal variability, and relationship with child attention and hyperactivity. *Int J Hyg Environ Health* 2014 ; 217 : 405-12.

Furlong MA, Herring A, Buckley JP, *et al.* Prenatal exposure to organophosphorus pesticides and childhood neurodevelopmental phenotypes. *Environ Res* 2017a ; 158 : 737-47.

Furlong MA, Barr DB, Wolff MS, *et al.* Prenatal exposure to pyrethroid pesticides and childhood behavior and executive functioning. *Neurotoxicology* 2017b ; 62 : 231-8.

- Furlong MA, Engel SM, Barr DB, *et al.* Prenatal exposure to organophosphate pesticides and reciprocal social behavior in childhood. *Environ Int* 2014 ; 70 : 125-31.
- Gargouri B, Bouchard M, Saliba SW, *et al.* Repeated bifenthrin exposure alters hippocampal Nurr-1/AChE and induces depression-like behavior in adult rats. *Behav Brain Res* 2019 ; 370 :111898.
- Gargouri B, Yousif NM, Bouchard M, *et al.* Inflammatory and cytotoxic effects of bifenthrin in primary microglia and organotypic hippocampal slice cultures. *J Neuroinflammation* 2018a ; 15 : 159.
- Gargouri B, Yousif NM, Attaai A, *et al.* Pyrethroid bifenthrin induces oxidative stress, neuroinflammation, and neuronal damage, associated with cognitive and memory impairment in murine hippocampus. *Neurochem Int* 2018b ; 120 : 121-33.
- Gasmi S, Rouabhi R, Kebieche M, *et al.* Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017 ; 24 : 16440-57.
- Gillette J, Bloomquist JR. Differential up-regulation of striatal dopamine transporter and α -synuclein by the pyrethroid insecticide permethrin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003 ; 192 : 287-93.
- Gonzalez-Alzaga B, Hernandez AF, Rodriguez-Barranco M, *et al.* Pre- and postnatal exposures to pesticides and neurodevelopmental effects in children living in agricultural communities from South-Eastern Spain. *Environ Int* 2015 ; 85 : 229-37.
- González-Alzaga B, Lacasaña M, Aguilar-Garduño C, *et al.* A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicol Lett* 2014 ; 230 : 104-21.
- Gunier RB, Bradman A, Harley KG, *et al.* Prenatal residential proximity to agricultural pesticide use and IQ in 7-year-old children. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 57002.
- Guo J, Zhang J, Wu C, *et al.* Associations of prenatal and childhood chlorpyrifos exposure with neurodevelopment of 3-year-old children. *Environ Pollut* 2019 ; 251 : 538-46.
- Habr SF, Macrini DJ, Florio JC, *et al.* Repeated forced swim stress has additive effects in anxiety behavior and in catecholamine levels of adult rats exposed to deltamethrin. *Neurotoxicol Teratol* 2014 ; 46 : 57-61.
- Hedges L, Brown S, Vardy A, *et al.* Metabolism of deltamethrin and cis- and trans-permethrin by rat and human liver microsomes, liver cytosol and plasma preparations. *Xenobiotica* 2019 ; 49 : 388-96.
- Hirata K. Studies on the mode of action of neurotoxic insecticides. *J Pestic Sci* 2016 ; 41 : 87-94.
- Hisada A, Yoshinaga J, Zhang J, *et al.* Maternal exposure to pyrethroid insecticides during pregnancy and infant development at 18 months of age. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14 : 52.
- Horton MK, Rundle A, Camann DE, *et al.* Impact of prenatal exposure to piperonyl butoxide and permethrin on 36-month neurodevelopment. *Pediatrics* 2011 ; 127 : e699-706.

Hossain MM, Suzuki T, Richardson JR, *et al.* Acute effects of pyrethroids on serotonin release in the striatum of awake rats: an in vivo microdialysis study. *J Biochem Mol Toxicol* 2013 ; 27 : 150-6.

Hossain MM, Suzuki T, Unno T, *et al.* Differential presynaptic actions of pyrethroid insecticides on glutamatergic and GABAergic neurons in the hippocampus. *Toxicology* 2008 ; 243 : 155-63.

Hsu S-S, Jan C-R, Liang W-Z. The investigation of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin (LCT)-affected Ca(2+) homeostasis and -activated Ca(2+)-associated mitochondrial apoptotic pathway in normal human astrocytes : The evaluation of protective effects of BAPTA-AM (a selective Ca(2+) chelator). *Neurotoxicology* 2018 ; 69 : 97-107.

Huang X, Liang Y, Qing Y, *et al.* Proteasome inhibition by MG-132 protects against deltamethrin-induced apoptosis in rat hippocampus. *Life Sci* 2019 ; 220 : 76-83.

Hughes MF, Ross DG, Starr JM, *et al.* Environmentally relevant pyrethroid mixtures: A study on the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat. *Toxicology* 2016a ; 359-360 : 19-28.

Hughes MF, Ross DG, Edwards BC, *et al.* Tissue time course and bioavailability of the pyrethroid insecticide bifenthrin in the Long-Evans rat. *Xenobiotica* 2016b ; 46 : 430-8.

Imanishi S, Okura M, Zaha H, *et al.* Prenatal exposure to permethrin influences vascular development of fetal brain and adult behavior in mice offspring. *Environ Toxicol* 2013 ; 28 : 617-29.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Johnstone AFM, Strickland JD, Crofton KM, *et al.* Effects of an environmentally-relevant mixture of pyrethroid insecticides on spontaneous activity in primary cortical networks on microelectrode arrays. *Neurotoxicology* 2017 ; 60 : 234-9.

Jusko TA, van den Dries, Michiel A, Pronk A, *et al.* Organophosphate pesticide metabolite concentrations in urine during pregnancy and offspring nonverbal IQ at age 6 years. *Environ Health Perspect* 2019 ; 127 : 17007.

Khalatbary AR, Ghaffari E, Mohammadnegad B. Protective role of oleuropein against acute deltamethrin-induced neurotoxicity in rat brain. *Iran Biomed J* 2015 ; 19 : 247-53.

Klaassen CD. Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons, 6th ed. *J Am Coll Nutr* 2002 ; 21 : 289-90.

Kumar K, Patro N, Patro I. Impaired structural and functional development of cerebellum following gestational exposure of deltamethrin in rats : role of reelin. *Cell Mol Neurobiol* 2013 ; 33 : 731-46.

Laugeray A, Herzine A, Perche O, *et al.* In utero and lactational exposure to low-doses of the pyrethroid insecticide cypermethrin leads to neurodevelopmental defects in male mice – An ethological and transcriptomic study. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0184475.

Leng G, Berger-Preiss E, Levsen K, *et al.* Pyrethroids used indoor-ambient monitoring of pyrethroids following a pest control operation. *Int J Hyg Environ Health* 2005 ; 208 : 193-9.

Liu P, Wu C, Chang X, *et al.* Adverse associations of both prenatal and postnatal exposure to organophosphorous pesticides with infant neurodevelopment in an agricultural area of Jiangsu Province, China. *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 1637-43.

Liu X, Zhang Q, Li S, *et al.* Developmental toxicity and neurotoxicity of synthetic organic insecticides in zebrafish (*Danio rerio*) : A comparative study of deltamethrin, acephate, and thiamethoxam. *Chemosphere* 2018 ; 199 : 16-25.

Llop S, Julvez J, Fernandez-Somoano A, *et al.* Prenatal and postnatal insecticide use and infant neuropsychological development in a multicenter birth cohort study. *Environ Int* 2013 ; 59 : 175-82.

Lucki I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol. Psychiatry* 1998 ; 44 : 151-62.

Magby JP, Richardson JR. Role of calcium and calpain in the downregulation of voltage-gated sodium channel expression by the pyrethroid pesticide deltamethrin. *J Biochem Mol Toxicol* 2015 ; 29 : 129-34.

Marks AR, Harley K, Bradman A, *et al.* Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children : the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect* 2010 ; 118 : 1768-74.

Maurya SK, Mishra J, Tripathi VK, *et al.* Cypermethrin induces astrocyte damage: role of aberrant Ca(2+), ROS, JNK, P38, matrix metalloproteinase 2 and migration related reelin protein. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2014 ; 111 : 51-9.

Meijer M, Dingemans MML, van den Berg M, *et al.* Inhibition of voltage-gated calcium channels as common mode of action for (mixtures of) distinct classes of insecticides. *Toxicol Sci* 2014 ; 141 : 103-11.

Millenson ME, Braun JM, Calafat AM, *et al.* Urinary organophosphate insecticide metabolite concentrations during pregnancy and children's interpersonal, communication, repetitive, and stereotypic behaviors at 8 years of age: The home study. *Environ Res* 2017 ; 157 : 9-16.

Mortuza TB, Edwards GL, White CA, *et al.* Age dependency of blood-brain barrier penetration by cis- and trans-permethrin in the rat. *Drug Metab Dispos* 2019 ; 47 : 234-7.

Muguruma M, Unami A, Kanki M, *et al.* Possible involvement of oxidative stress in piperonyl butoxide induced hepatocarcinogenesis in rats. *Toxicology* 2007 ; 236 : 61-75.

Oulhote Y, Bouchard MF. Urinary metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides and behavioral problems in Canadian children. *Environ Health Perspect* 2013 ; 121 : 1378-84.

Personne S. *Développement d'un modèle toxicocinétique basé sur la physiologie pour la perméthrine et ses métabolites chez la rate gestante.* Université de Picardie Jules Verne. Amiens. Thèse de Doctorat, 2019.

Quiros-Alcala L, Mehta S, Eskenazi B. Pyrethroid pesticide exposure and parental report of learning disability and attention deficit/hyperactivity disorder in U.S. children: NHANES 1999-2002. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122 : 1336-42.

Rajawat NK, Soni I, Syed F, *et al.* Effect of beta-cyfluthrin (synthetic pyrethroid) on learning, muscular coordination and oxidative stress in Swiss albino mice. *Toxicol Ind Health* 2019 ; 35 : 358-67.

Rauh VA, Garcia WE, Whyatt RM, *et al.* Prenatal exposure to the organophosphate pesticide chlorpyrifos and childhood tremor. *Neurotoxicology* 2015 ; 51 : 80-6.

Rauh VA, Perera FP, Horton MK, *et al.* Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 7871-6.

Richardson JR, Taylor MM, Shalat SL, *et al.* Developmental pesticide exposure reproduces features of attention deficit hyperactivity disorder. *FASEB J* 2015 ; 29 : 1960-72.

Rodriguez JL, Ares I, Castellano V, *et al.* Effects of exposure to pyrethroid cyfluthrin on serotonin and dopamine levels in brain regions of male rats. *Environ Res* 2016 ; 146 : 388-94.

Rodriguez J-L, Ares I, Martinez M, *et al.* Bioavailability and nervous tissue distribution of pyrethroid insecticide cyfluthrin in rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 220-6.

Romero A, Ramos E, Ares I, *et al.* Oxidative stress and gene expression profiling of cell death pathways in alpha-cypermethrin-treated SH-SY5Y cells. *Arch Toxicol* 2017a ; 91 : 2151-64.

Romero DM, Berardino BG, Wolansky MJ, *et al.* From the cover: vulnerability of C6 astrocytoma cells after single-compound and joint exposure to type I and type II pyrethroid insecticides. *Toxicol Sci* 2017b ; 155 : 196-212.

Rowe C, Gunier R, Bradman A, *et al.* Residential proximity to organophosphate and carbamate pesticide use during pregnancy, poverty during childhood, and cognitive functioning in 10-year-old children. *Environ Res* 2016 ; 150 : 128-37.

Sagiv SK, Harris MH, Gunier RB, *et al.* Prenatal organophosphate pesticide exposure and traits related to autism spectrum disorders in a population living in proximity to agriculture. *Environ Health Perspect* 2018 ; 126 : 47012.

Saoudi M, Slama-Ben Salem RB, Salem MB, *et al.* Beneficial effects of crataegus oxyacantha extract on neurobehavioral deficits and brain tissue damages induced by an insecticide mixture of deltamethrin and chlorpyrifos in adult wistar rats. *Biomed Pharmacother* 2019 ; 114 : 108795.

Sapbamrer R, Hongsisong S. Effects of prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides on child neurodevelopment in different age groups: a systematic review. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019.

Schmidt RJ, Kogan V, Shelton JF, *et al.* Combined prenatal pesticide exposure and folic acid intake in relation to autism spectrum disorder. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 97007.

Scollon EJ, Starr JM, Godin SJ, *et al.* In vitro metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome p450 isoforms. *Drug Metab Dispos* 2009 ; 37 : 221-8.

Shelton JF, Geraghty EM, Tancredi DJ, *et al.* Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122 : 1103-9.

Shukla RK, Dhuriya YK, Chandravanshi LP, *et al.* Influence of immobilization and forced swim stress on the neurotoxicity of lambda-cyhalothrin in rats: Effect on brain biogenic amines and BBB permeability. *Neurotoxicology* 2017 ; 60 : 187-96.

Silver MK, Shao J, Ji C, *et al.* Prenatal organophosphate insecticide exposure and infant sensory function. *Int J Hyg Environ Health* 2018 ; 221 : 469-78.

Silver MK, Shao J, Zhu B, *et al.* Prenatal naled and chlorpyrifos exposure is associated with deficits in infant motor function in a cohort of Chinese infants. *Environ Int* 2017 ; 106 : 248-56.

Soorash A, Sayes CM, Pine M. Effects of a novel pesticide-particle conjugate on viability and reactive oxygen species generation in neuronal (PC12) cells. *Drug Chem Toxicol* 2015 ; 38 : 205-11.

Sourkes TL, Poirier L. Influence of the substantia nigra on the concentration of 5-hydroxytryptamine and dopamine of the striatum. *Nature* 1965 ; 207 : 202-3.

Stein LJ, Gunier RB, Harley K, *et al.* Early childhood adversity potentiates the adverse association between prenatal organophosphate pesticide exposure and child IQ: The CHAMACOS cohort. *Neurotoxicology* 2016 ; 56 : 180-7.

Stengel D, Wahby S, Braunbeck T. In search of a comprehensible set of endpoints for the routine monitoring of neurotoxicity in vertebrates : sensory perception and nerve transmission in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018 ; 25 : 4066-84.

Suarez-Lopez JR, Checkoway H, Jacobs DR, JR, *et al.* Potential short-term neuro-behavioral alterations in children associated with a peak pesticide spray season: The Mother's Day flower harvest in Ecuador. *Neurotoxicology* 2017 ; 60 : 125-33.

Syed F, Awasthi KK, Chandravanshi LP, *et al.* Bifenthrin-induced neurotoxicity in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicol Res (Camb)* 2018 ; 7 : 48-58.

Syed F, John PJ, Soni I. Neurodevelopmental consequences of gestational and lactational exposure to pyrethroids in rats. *Environ Toxicol* 2016 ; 31 : 1761-70.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural effects of piperonyl butoxide administered to mice in the diet. *Food Addit Contam* 2003 ; 20 : 207-14.

Toescu EC, Verkhratsky A. The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging. *Aging Cell* 2007 ; 6 : 267-73.

Varro P, Kovacs M, Vilagi I. The insecticide esfenvalerate modulates neuronal excitability in mammalian central nervous system in vitro. *Toxicol Lett* 2017 ; 267 : 39-44.

- Vester AI, Hermetz K, Burt A, *et al.* Combined neurodevelopmental exposure to deltamethrin and corticosterone is associated with Nr3c1 hypermethylation in the midbrain of male mice. *Neurotoxicol Teratol* 2020 ; 80 : 106887.
- Viel J-F, Rouget F, Warembourg C, *et al.* Behavioural disorders in 6-year-old children and pyrethroid insecticide exposure: the PELAGIE mother-child cohort. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 275-81.
- Viel J-F, Warembourg C, Le Maner-Idrissi G, *et al.* Pyrethroid insecticide exposure and cognitive developmental disabilities in children : The PELAGIE mother-child cohort. *Environ Int* 2015 ; 82 : 69-75.
- von Ehrenstein OS, Ling C, Cui X, *et al.* Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *BMJ* 2019 ; 364 : 1962.
- Wagner-Schuman M, Richardson JR, Auinger P, *et al.* Association of pyrethroid pesticide exposure with attention-deficit/hyperactivity disorder in a nationally representative sample of U.S. children. *Environ Health* 2015 ; 14 : 44.
- Wang Y, Zhang Y, Ji L, *et al.* Prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides and childhood neurodevelopment in Shandong, China. *Environ Int* 2017 ; 108 : 119-26.
- Watkins DJ, Fortenberry GZ, Sanchez BN, *et al.* Urinary 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) levels among pregnant women in Mexico City : Distribution and relationships with child neurodevelopment. *Environ Res* 2016 ; 147 : 307-13.
- Westerink RHS, Ewing AG. The PC12 cell as model for neurosecretion. *Acta Physiol (Oxf)* 2008 ; 192 : 273-85.
- Xiong J, Zhang X, Huang J, *et al.* Fenpropathrin, a widely used pesticide, causes dopaminergic degeneration. *Mol Neurobiol* 2016 ; 53 : 995-1008.
- Yang L, Li L. Actions of the pyrethroid insecticide bifenthrin on sodium channels expressed in rat cerebral cortical neurons. *Toxicol Mech Methods* 2015 ; 25 : 63-9.
- Yolton K, Xu Y, Sucharew H, *et al.* Impact of low-level gestational exposure to organophosphate pesticides on neurobehavior in early infancy: a prospective study. *Environ Health* 2013 ; 12 : 79.
- Yu C-J, Du J-C, Chiou H-C, *et al.* Increased risk of attention-deficit/hyperactivity disorder associated with exposure to organophosphate pesticide in Taiwanese children. *Andrology* 2016 ; 4 : 695-705.
- Zhang Y, Han S, Liang D, *et al.* Prenatal exposure to organophosphate pesticides and neurobehavioral development of neonates: a birth cohort study in Shenyang, China. *PLoS One* 2014 ; 9 : e88491.
- Zheng J, Yu Y, Feng W, *et al.* Influence of nanomolar deltamethrin on the hallmarks of primary cultured cortical neuronal network and the role of ryanodine receptors. *Environ Health Perspect* 2019 ; 127 : 67003.