Appendix 1

Rapport final de l'expérimentation avec annexes

« Effets psychophysiologiques d'une prise quotidienne d'ING911 durant 30 jours »

Auteurs

Dr L. Bourdon
Dr F. Canini
Dr D. Lanoir
Dr S. Martin
M^lle^ N. Fidier
M. P. d'Aléo
M. A. Roux
M^me^ J. Denis
M. F. Chapotot
M. G. Becq

Résumé

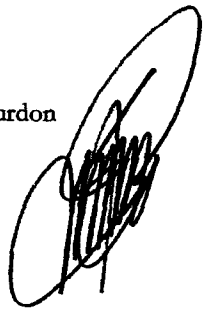
Les effets psychophysiologiques de 30 jours de prise unique quotidienne vespérale de 150 mg d'ING911 ont été étudiés chez 52 sujets, 25 hommes et 27 femmes, répartis aléatoirement en deux groupes stratifiés pour le sexe, ING911 et Placebo.

Les sujets ont participé à 4 tests identiques placés avant le traitement (J0), après 10 jours et 30 jours de traitement (J11 et J31, respectivement) et après 12 jours de lavage (J43). A chaque test, le statut psychophysiologique de base a été apprécié sur la base de mesures de fréquence cardiaque (FC), de pression artérielle systolique (PAS) et diastolique (PAD), d'excrétion de cortisol urinaire, d'état d'anxiété de fond (STAI-trait), de stress perçu (test de Cohen) et de comportement (test de Vitaliano). La réactivité au stress de laboratoire a été appréciée au cours d'une exposition de 5 minutes à un conflit cognitif (test de Stroop) encadrée par une phase de relaxation et une phase de récupération d'également 5 minutes. A la fin de chacune de ces trois phases, les mesures de FC, PAS, PAD, d'état d'anxiété (STAI-état), d'activation (test de Thayer) et d'activation endocrinienne (cortisol salivaire) ont été pratiquées. Une évaluation des effets secondaires par la check-list de Hopkins a été pratiquée après 30 jours de traitement.

Les sujets ayant pris ING911 présentent une réduction de leur cotation d'anxiété de fond (STAI-trait) en dépit du maintien du stress perçu et des niveaux d'activation cardio-vasculaire et endocrinienne. Un maintien de la réactivité sous stress est observée sous ING911 par rapport au Placebo sur les plans psychologiques et physiologiques (FC) quoiqu'une tendance à la réduction des valeurs de PA ait pu être observée. Aucune activation endocrinienne n'a été observée sous stress du fait des deux traitements. Aucun effet secondaire n'a été observé, après 30 jours de traitement.

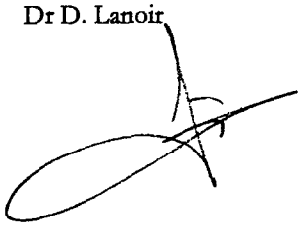
En conclusion, la prise d'ING911 présente un caractère modeste de réduction d'anxiété de fond sans modifier la réactivité des individu à un stresseur calibré. L'effet sur la réactivité cardiovasculaire pourrait être mieux mis en évidence soit par une augmentation des doses, soit par une analyse des effets d'ING911 selon les caractéristiques psychophysiologiques des sujets.

Dr L. Bourdon



Dr F. Canini

Dr D. Lanoir



Dr S. Martin

Docteur Lionel BOURDON
Département des facteurs humains,
Centre de recherches du service de santé des armées,
24 avenue des Maquis du Grésivaudan,
BP 87, F-38702 La Tronche, France
Tel : 33 476 636 950
Fax : 33 476 636 945
E-mail address : fredericcanini@crssa.net

La Tronche, le 28 mai 2002

Madame,

J'ai étudié le document que vous m'avez fait parvenir intitulé ANNEXE 6 : "Analyse des effets psychophysiologiques chroniques d'ING911", rapport développé par Dr Denise Lanoir.

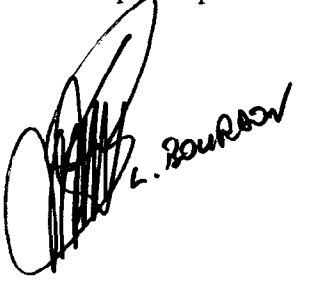
L'annexe 6 a été bâtie à partir du rapport d'étude que nous avions fourni ainsi que des données obtenues au cours de l'étude. L'introduction est conforme à l'état de la science. La section de matériel et méthode décrit clairement les procédures utilisées au cours de l'investigation.

L'analyse statistique a été effectuée dans cette annexe par une méthode d'ANCOVA analysant J11 et J31 corrélés à J0 pour l'effet lié au nutriment et J43 corrélé à J0 pour l'effet résiduel. Cette analyse apporte une réponse sur la totalité du traitement (30 jours) avec un point intermédiaire (10 jours). Cette stratégie conduit à une vision plus synthétique que celle qui avait été adoptée dans le rapport d'étude initial qui suivait une démarche analytique. En effet, dans l'analyse initiale, en réponse à la question posée (i.e., existe-t-il un effet du nutriment à J11 et existe-t-il un effet du nutriment à J31 et existe-t-il un effet résiduel à J43), nous avions pris en compte la valeur des niveaux de base par le biais du calcul de la variation Jx-J0.

Les conclusions émises dans cette annexe 6 sont cohérentes avec celles que nous apportions, à savoir une efficacité modeste du nutriment dans la population générale en tenant compte de la stratification liée au sexe.

Cette annexe 6 inclut également les résultats d'une analyse plus fine, effectuée sur des sous-groupes de sujets. La répartition en sous-groupes a été faite selon des critères d'anxiété et de réactivité de pression artérielle lors du test de Stroop effectué à J0. Elle a conduit à une séparation des sujets en sujets faiblement et fortement répondeurs. Cette stratégie a conduit à une analyse en sous-groupe relisant les variables obtenues avant exposition au stresseur et mettant en évidence un effet plus prononcé du nutriment chez les sujets anxieux et réactifs. Elle offre donc des pistes d'analyse sur le mode d'action du nutriment.

Veuillez agréer, Madame, l'expression de mes salutations les plus respectueuses,



Dr L. BOURDON

La Tronche, le 28 mai 2002

Madame,

J'ai étudié le document que vous m'avez fait parvenir intitulé ANNEXE 6 : "Analyse des effets psychophysiologiques chroniques d'ING911", rapport développé par Dr Denise Lanoir.

L'annexe 6 a été bâtie à partir du rapport d'étude que nous avions fourni ainsi que des données obtenues au cours de l'étude. L'introduction est conforme à l'état de la science. La section de matériel et méthode décrit clairement les procédures utilisées au cours de l'investigation.

L'analyse statistique a été effectuée dans cette annexe par une méthode d'ANCOVA analysant J11 et J31 corrélés à J0 pour l'effet lié au nutriment et J43 corrélé à J0 pour l'effet résiduel. Cette analyse apporte une réponse sur la totalité du traitement (30 jours) avec un point intermédiaire (10 jours). Cette stratégie conduit à une vision plus synthétique que celle qui avait été adoptée dans le rapport d'étude initial qui suivait une démarche analytique. En effet, dans l'analyse initiale, en réponse à la question posée (i.e., existe-t-il un effet du nutriment à J11 et existe-t-il un effet du nutriment à J31 et existe-t-il un effet résiduel à J43), nous avions pris en compte la valeur des niveaux de base par le biais du calcul de la variation Jx-J0.

Les conclusions émises dans cette annexe 6 sont cohérentes avec celles que nous apportions, à savoir une efficacité modeste du nutriment dans la population générale en tenant compte de la stratification liée au sexe.

Cette annexe 6 inclut également les résultats d'une analyse plus fine, effectuée sur des sous-groupes de sujets. La répartition en sous-groupes a été faite selon des critères d'anxiété et de réactivité de pression artérielle lors du test de Stroop effectué à J0. Elle a conduit à une séparation des sujets en sujets faiblement et fortement répondeurs. Cette stratégie a conduit à une analyse en sous-groupe relisant les variables obtenues avant exposition au stresseur et mettant en évidence un effet plus prononcé du nutriment chez les sujets anxieux et réactifs. Elle offre donc des pistes d'analyse sur le mode d'action du nutriment.

Veuillez agréer, Madame, l'expression de mes salutations les plus respectueuses,

Dr F. Canini

MINISTÈRE DE LA DÉFENSE

SERVICE DE SANTÉ
DES ARMÉES

CENTRE DE RECHERCHES
DU SERVICE DE SANTÉ
DES ARMÉES
ÉMILE PARDÉ

La Tronche, le 04/05/2001

A l'attention du Professeur
le docteur C. LEFRANC
Fax n° 03 21 23 80 02

Chère Professeur,

Je vous prie de trouver ci-après l'avis du CCPPRB de Grenoble concernant notre expérimentation. Les dates font référence au fait que je me suis appuyé sur un dossier transmis l'an dernier pour accélérer la procédure de celui-là.

Nous en sommes à environ 40% de terminé, pour l'instant tout va bien.

Très cordialement

Lionel BOURDON

CRSSA – 24, avenue des Maquis du Grésivaudan – B.P. 87 – 38702 LA TRONCHE CEDEX
Tél. : 04 76 63 69 00 – Télécopie : 04 76 63 69 01

Imp. ERNSEA - 2300/01

ANALYSE DES EFFETS PSYCHOPHYSIOLOGIQUES CHRONIQUES d'ING911

Mars 2003

Investigateur principal Dr L. Bourdon
Ont participé à l'étude :
Dr F. Canini
Dr D. Lanoir
Dr S. Martin
M^lle^ N Fidier
M. P. d'Aléo
M. A. Roux
M^me^ J. Denis
M. F. Chapotot
M. G. Becq

Auteur du rapport : Docteur Denise LANOIR

CONFIDENTIEL

Résumé

Objectif : Etude sur des sujets sains des effets de 30 jours de prise quotidienne de 150 mg d'ING911 sur l'état psychophysiologique de base et sur les réactions psychophysiologiques provoquées par un test de tâche attentionnelle perturbée de Stroop.

Méthode : Les effets psychophysiologiques de 30 jours de prise quotidienne unique vespérale de 150 mg d'ING911 ont été étudiés chez 52 sujets sains, 25 hommes et 27 femmes, répartis aléatoirement en deux groupes stratifiés pour le sexe, ING911 et Placebo. Les sujets ont participé à 4 tests identiques placés avant la première consommation du nutriment (J0), après 10 jours et 30 jours de consommation du nutriment (J11 et J31, respectivement) et après 12 jours de wash-out (J43). A chaque test, le statut psychophysiologique de base a été apprécié sur la base de mesures de fréquence cardiaque (FC), de pression artérielle systolique (PAS) et diastolique (PAD), d'excrétion de cortisol urinaire, d'état d'anxiété de fond (STAI-trait), de stress perçu (test de Cohen) et de comportement (test de Vitaliano). La réactivité au stress de laboratoire a été appréciée au cours d'une exposition de 5 minutes à un conflit cognitif (test de Stroop) encadrée par une phase de relaxation et une phase de récupération d'également 5 minutes chacune. A la fin de chacune de ces trois phases, les mesures de FC, PAS, PAD, d'état d'anxiété (STAI-état), d'activation (test de Thayer) et d'activation endocrinienne (cortisol salivaire) ont été pratiquées. Une évaluation des effets secondaires par la check-list de Hopkins a été pratiquée après 30 jours de consommation du nutriment.

Résultats · Le nutriment ING911 modère la réponse tensionnelle au stress. Il n'a pas été mis en évidence d'effet significatif sur les paramètres cardio-vasculaires de base ni sur les paramètres psychologiques.

L'analyse chez les sujets faiblement et fortement répondeurs au stress a permis de confirmer l'effet modérateur de la réactivité tensionnelle au stress et a révélé un effet contrasté sur la réactivité de la fréquence cardiaque qui pourrait refléter une action sur le système opiacé de régulation de la réponse cardiovasculaire au stress.

Par ailleurs, ING911 semble avoir un effet sur le sommeil que l'on peut qualifier de « stabilisateur ».

Aucun effet secondaire n'a été observé, après 30 jours de consommation du nutriment, ni après 12 j. d'arrêt de la consommation du nutriment.

Sommaire

INTRODUCTION 4

GÉNÉRALITÉS 5
LE STRESS 5

MATÉRIEL ET MÉTHODES 11

OBJECTIFS DE L'EXPÉRIMENTATION 12
PROTOCOLE D'ÉTUDE 12
SÉLECTION DES SUJETS 12
RANDOMISATION DES SUJETS 13
PRODUITS UTILISÉS 14
DÉROULEMENT D'UN TEST 15
MÉTHODE DE STRESS UTILISÉ 16
RECUEIL ET TRAITEMENT DES VARIABLES PHYSIOLOGIQUES 17
RECUEIL ET TRAITEMENT DES VARIABLES PSYCHOLOGIQUES 18
TRAITEMENT DES DONNÉES 20
ANALYSE STATISTIQUE 21

RÉSULTATS 23

RÉSULTATS 24
RÉACTIONS CARDIO-VASCULAIRES 25
RÉACTIONS ENDOCRINIENNES 33
RÉACTIONS PSYCHOLOGIQUES 36
ÉTUDE DU SOMMEIL 42
ANALYSE DES EFFETS SECONDAIRES SUBJECTIFS 45
ANALYSE COMPLÉMENTAIRE CHEZ LES HAUTS ET BAS RÉPONDEURS 47

DISCUSSION-CONCLUSION 52

QUALITÉ GÉNÉRALE DE L'EXPÉRIMENTATION 53
COMPARABILITÉ DES GROUPES EXPÉRIMENTAUX À J0 53
EFFICACITÉ DU STRESSEUR 54
RÉSULTATS 56
LES EFFETS SECONDAIRES 58
JUSTIFICATION DE LA DOSE QUOTIDIENNE D'ING911 58
CONCLUSION 59

BIBLIOGRAPHIE 60

Introduction

Généralités

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer les effets de la consommation d'un nutriment (ING911, hydrolysat de lait) pendant 30 jours, sur l'état psychophysiologique de base et les réactions provoquées par un test de tâche attentionnelle perturbée de Stroop. Cette étude est basée sur un modèle expérimental de stress de laboratoire défini en l'état actuel de la science.

Le stress

Définition

Le mot stress désigne aujourd'hui la réponse de l'organisme aux facteurs d'agression physiologiques ou psychologiques (c'est dans ce sens qu'il sera employé ici) et non pas les facteurs d'agression eux-mêmes qui sont qualifiés de " stresseurs "

Le concept de stress est apparu au début du XX^{ème} siècle. Il a été forgé par Walter Cannon qui montra que les modifications physiologiques accompagnant l'attaque ou la fuite (fight or flight) étaient dues à la libération d'adrénaline par la médullosurrénale, et par Hans Selye qui décrivit en 1936 le « syndrome général d'adaptation » (Selye, 1973). Ce syndrome, aspécifique du stresseur, comprend trois phases successives : alarme, résistance, épuisement. Les contributions modernes à ce schéma concernent les mécanismes mis en jeu dans le système nerveux central (Chrousos & Gold, 1992), impliquant divers noyaux de la base et du tronc, le système limbique et le cortex, ainsi que les voies d'expression que sont le système neurovégétatif, le système endocrinien, principalement l'axe limbo-hypothalamo-hypophyso-surrénalien ou HPA (Yehuda, 1997), et le système immunitaire (Ader, 2000). Ces contributions ont permis de fonder le concept de neuro-psycho-immunologie du stress.

Le stress était un moteur d'adaptation essentiel dans les conditions de vie primitive puisqu'il permet la préparation de l'organisme à la fuite ou à la riposte devant l'agresseur par la mise en jeu immédiate du système neurovégétatif sympathique (augmentation du débit cardiaque, répartition de la masse sanguine au profit des muscles, au détriment des territoires digestifs, augmentation de la vigilance...). Dans les conditions de vie actuelles, le stress est utile par la stimulation du système nerveux central qu'il induit ; on parle alors d'*eustress*. Il peut cependant devenir pathogène, induisant athérogenèse, dépression immunitaire et cancer. On parle alors de *distress*.

Expression biologique du stress

L'induction du stress

Le stress est l'expression de mécanismes biologiques très complexes. (Tableau n°1). Néanmoins, certains apparaissent particulièrement plus importants que se soit pour des raisons historiques (Cannon et Selye), méthodologiques (facilité d'exploration chez l'homme) et biologiques (leur altération modifie la qualité de la réaction de stress). Ainsi, il est usuel de distinguer deux systèmes principaux . (i) le système nerveux sympathique représentant un mode de réaction rapide du système nerveux central (augmentation de vigilance) et du corps (adaptation aux contraintes du combat ou de la fuite), (ii) l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien représentant un mode d'action différé capable de moduler les effets du premier. L'activation de ces deux systèmes au niveau central fait appel à un réseau complexe intégrant des informations de nature émotionnelle (*via* le système limbique), mnésiques (*via* l'hippocampe), viscérales (*via* le noyau du tractus solitaire), métaboliques et vasculaires (*via* les organes circumventriculaires du

troisième ventricule), sensorielles et thermoalgésiques (*via* la substance grise périaqueducale et le thalamus).

Les conséquences périphériques de l'activation de ces deux systèmes sont également complexes. Il existe des interactions synergiques entre ces deux systèmes tant au niveau de la sécrétion (i.e., il existe une innervation adrénergique de la corticosurrénale renforçant l'action activatrice de l'ACTH) qu'à celui des effecteurs (i.e., la libération de glucose par le foie par l'adrénaline sera d'autant plus intense que le cortisol aura joué un rôle permissif).

	Système nerveux sympathique	**Axe hypothalamo hypophyso-corticosurrénalien**
Structures et médiateurs	Locus Coeruleus · *noradrénaline* --- Hypothalamus latéral Relais médullaires sympathiques Nerfs sympathiques : *noradrénaline* Médullosurrénale : *adrénaline*	Voies CRF-ergiques centrales --- Paraventriculaire hypothalamique · *CRF* Antéhypophyse : *ACTH* Corticosurrénale : *cortisol*
Effecteur	Système cardio-vasculaire Métabolisme Ventilation	Métabolisme Système nerveux central
Délai d'intervention	De l'ordre de la seconde	Supérieur à 3 minutes
Durée de l'activation (stresseur ponctuel)	Quelques dizaines de secondes	Plusieurs dizaines de minutes

Tableau 1

Tableau récapitulatif des activations biologiques au cours du stress

Les conséquences biologiques du stress

Le stress prolongé peut s'avérer délétère pour l'organisme qui en est la victime. Tous les compartiments de l'organisme en sont alors affectés.

Dans le domaine central, si le stress améliore les performances à court terme, il entraîne des perturbations du sommeil (Buguet, Bourdon, Canini, Cespuglio, & Radomski, 1999), de la mémoire (de Quervain, Roosendaal, & McGaugh, 1998) et de la prise alimentaire (Hotta, Tamotsu, Arai, & Demura, 1999). A plus long terme, des dysfonctionnements voire des lésions du système nerveux central ont été décrits chez des sujets présentant des concentrations sériques élevées de glucocorticoïdes au long cours (Sapolsky, 1996).

Dans le domaine cardio-vasculaire (Hjemdahl, 2000), l'activation au long cours du système sympathique pourrait favoriser la survenue de nombreuses pathologies. L'angor et l'ischémie myocardique représentent le premier risque (Glassman & Shapiro, 1998). La stimulation sympathique active le développement de l'athérogenèse, facilite l'agrégation plaquettaire, induit une activité arythmogène cardiaque et facilite la survenue de l'ischémie myocardique par l'accentuation des besoins du myocarde en oxygène et métabolites et la réduction des apports qu'il suppose. Ainsi, l'incidence de l'angor est significativement plus élevée chez les individus dits de " type A " dont le caractère ambitieux, l'esprit de compétition en lutte permanente avec l'entourage représente un véritable facteur de risque (Shaw & Dimsdale, 2000; Sparagon, et al., 2001). Par ailleurs, de nombreux travaux ont montré le rôle du stress professionnel ou psychosocial dans certaines hypertensions artérielles (Vrijkotte, van Doornen, & de Geus, 2000).

Dans la sphère digestive, le stress modifie les sécrétions et la motilité digestives (Murison, 2000b), entraîne des dyskinésies biliaires, favorise la survenue des ulcères gastro-duodénaux et demeure souvent sous-jacent à des reprises évolutives de recto-colite ulcéro-hémorragique ou de maladie de Crohn (Murison, 2000a).

Dans la sphère endocrine, le stress bouleverse tous les équilibres : la fonction gonadotrope est inhibée, expliquant les anomalies du cycle menstruel classiquement observées, le système corticosurrénalien est activé (Sapolsky, 1997) décompensant ou déclenchant un diabète insulino-dépendant ou des maladies de Cushing, l'équilibre magnéso-calcique est perturbé altérant l'excitabilité neuromusculaire aboutissant à des manifestations de spasmophilie [Boulenger, 1985], etc.

Le système immunitaire est également affecté par le stress De nombreuses interactions entre les médiateurs libérés lors du stress et les facteurs immunitaires ont été décrites (Cacioppo, Malarkey, & Kiecolt-Glaser, 1995)

Expression psychologique du stress

Généralités

Le stress est la réaction physiologique de l'organisme face à une situation perçue comme menaçante. Cette connotation menaçante résulte d'une évaluation émotionnelle et cognitive de la situation qui diffère selon les individus. Ceci amène à définir les stratégies personnelles d'adaptation face au stresseur et l'évaluation cognitive de la contrainte.

Les travaux de Schachter et Singer, en 1962, ont montré que le modèle physiologique de Cannon et Selye était insuffisant. Le stress ne se limiterait pas à la réponse à un événement catastrophique, mais concernerait aussi l'ensemble des perceptions d'impuissance et de malaise qui envahissent l'individu face à des événements qu'il ne maîtrise pas. Il faut donc séparer deux versants : (i) Lindsay et Norman (1980) mentionnent que « *dans une situation stressante, l'évaluation subjective qui est faite de la situation importe plus que les faits objectifs* ». Ainsi, ce qui importe n'est donc ni l'événement stressant, ni l'individu mais davantage l'interaction entre l'agent stresseur et l'individu. Cette interaction a été modélisée par Cohen et coll. qui ont adopté le nom de « stress perçu » (« Perceived stress ») pour désigner cette interaction (Cohen, Kamarck, & Mermelstein, 1983). Ainsi, le stress, « .. *ce n'est pas une réaction de survie qui se déroule de façon stéréotypée quel que soit l'agent agresseur, mais une relation transactionnelle qui implique d'abord la perception et l'interprétation de la situation* » (Dantzer, 1989). (ii) Par ailleurs, il est devenu classique d'admettre que les réactions psychophysiologiques délétères du stress sont liées à une contrainte qui a pu échapper aux tentatives de maîtrise (Laborit, 1976; Laborit, 1986). Ainsi, les travaux concernant le stress d'origine professionnelle ont mis l'accent sur la congruence entre l'individu et son environnement la possibilité de contrôle de l'environnement et la liberté d'action de l'individu. L'efficacité du stress se mesure alors en terme de qualité du contrôle de l'environnement. Sur un plan physiologique, Frankenhauser et coll. avaient déjà distingué les conséquences neuroendocriniennes d'une tentative de prise de contrôle (concomitante d'une libération de catécholamines) et d'une perte de contrôle (concomitante d'une augmentation de la cortisolémie) lors d'une même situation stressante. Sur un plan psychologique, Rodin et Salovey, 1989, ont montré que le sentiment de contrôle de la situation était significativement associé à une issue favorable et le sentiment de perte de contrôle à une issue défavorable.

L'interdépendance du psychologique et du physiologique se précise donc : une tentative pour garder le contrôle serait associée à une activation sympathique et médullosurrénalienne, alors qu'une résignation serait associée à l'activation hypophyso-corticosurrénalienne (Laborit, 1986). Dans le même esprit, Dantzer a opposé les dimensions d'*effort* pour désigner le faire face associé à une augmentation des catécholamines, à celle de *détresse* (insatisfaction, impatience, irritation, ennui), associée à une augmentation de la production de cortisol (Dantzer, 1989).

La théorie du coping

Cette analyse du stress a donc conduit à la définition d'une nouvelle théorie psychologique désignant les modalités de faire-face des individus confrontés à une agression. Le terme consacré est le terme anglo-saxon *coping* ou *stratégies personnelles d'adaptation* qui désigne « l'ensemble des processus qu'un sujet interpose entre lui et l'événement perçu comme menaçant, pour maîtriser, tolérer ou diminuer l'impact de celui-ci sur son bien-être physique et psychologique » (Paulhan & Bourgeois, 1998)

La théorie du coping regroupe un ensemble de travaux répartissant les différents filtres cognitifs à travers la façon dont l'individu prend en compte le stresseur et tente de le maîtriser. Cette relation est fondamentale car elle implique que le stress ne peut être expliqué ni à partir du stresseur, ni à partir de la réaction psychophysiologique, mais dans leur relation matérialisée dans les processus intermédiaires (« filtres ») que l'organisme interpose entre l'agression et lui-même. Ces facteurs sont explorés à l'aide de questionnaires comme le questionnaire de Vitaliano qui interroge le sujet sur les modalités de gestion qu'il a adoptées face à une difficulté qu'il aurait rencontrée dans la semaine passée (Paulhan, Nuissier, Quintard, Cousson, & Bourgeois, 1994; Vitaliano, Russo Carr, Maiuro, & Becker, 1985)

Sujets faiblement et fortement répondeurs au stress

Les études récentes ont montré que les individus pouvaient être classés en fonction de leur profil de réponse au stress qui apparaît reproductible pour un même individu confronté à des stresseurs de même intensité (Negrao, Deuster, Gold, Singh, & Chrousos, 2000). Les sujets peuvent être classés en faiblement et fortement répondeurs en fonction de l'intensité d'activation de l'axe HPA (Kirschbaum, et al., 1995 ; Petrides, et al., 1997; Roy, Kirschbaum, & Steptoe, 2001), ou bien en fonction de l'intensité des réponses cardiovasculaires au stresseur, ces deux types de réponses étant concordants (Cacioppo, Malarkey, & Kiecolt-Glaser, 1995 ; Gerra, et al., 2001). Les sujets fortement répondeurs semblent être plus susceptible de développer des pathologies liées au stress notamment par le biais de modifications du système immunitaire (Cacioppo, Malarkey, & Kiecolt-Glaser, 1995).

Conséquences sur le stress en laboratoire

Généralités

L'étude du stress est particulièrement difficile en laboratoire, compte tenu de l'importance des facteurs cognitifs et environnementaux intervenant dans la régulation des réactions émotives. Ainsi, les différents tests de « stations spatiales » où quelques volontaires sont enfermés pendant quelques mois à bord d'un simulateur spatial, échouent simplement parce qu'il suffit de savoir que l'on est au sol pour que tout réalisme soit retiré à l'expérience.

Les stresseurs

Dans la vie quotidienne, les stresseurs sont de nature physique (bruit, température, effort excessif, chirurgie) ou psychique (stress relationnel, inadéquation de l'individu à l'environnement, perception d'un risque physique). Ils tiennent à la vie professionnelle (insécurité d'emploi, conflits, insuffisance d'organisation, de définition de la tâche, urgence, charge de travail excessive ou insuffisante. ..), sociale (émigration, changement de statut social..) ou personnelle (difficultés financières, décès d'un proche, relations conflictuelles...).

En laboratoire, il est classique d'essayer de reproduire ces stresseurs si possible d'une façon reproductible et calibrée. Parmi ceux-ci, on peut citer des stresseurs physiques :

- le bruit (à partir de 80 dB)

- l'environnement climatique, en particulier la température ambiante (Buguet, Bourdon, Canini, Cespuglio, & Radomski, 1999).
- l'exercice physique intense et/ou prolongé (Buguet, Bourdon, Canini, Cespuglio, & Radomski, 1999; Negrao, Deuster, Gold, Singh, & Chrousos, 2000; Singh, Petrides, Gold, Chrousis, & Deuster, 1999)
- l'exposition à une situation perçue comme dangereuse comme le saut en parachute

Des stresseurs mentaux sont également utilisés en laboratoire. Il peut s'agir de calculs mentaux (Stonev & Hughes, 2001), de questionnaires oraux ou d'examens (Ennis, Kelly, Wingo, & Lambert, 2001), de tests audiovisuels d'attention comme le « Stroop Color-Word Interference test » (Gerra, et al., 2001), des simulation de jeux de casino (Meyer, et al., 2000), ou enfin de tests de conversations publiques générant une situation sociale stressante comme la prise de parole en public, la présentation de soi devant un public critique, l'exposition à des situations relationnelles stressantes (Larson, Ader, & Moynihan, 2001). La tension psychique qu'ils génèrent est accentuée par différents moyens : en exigeant des réponses rapides, en reprochant systématiquement les réponses erronées (culpabilisation), en associant une stimulation sensorielle pénible à chaque erreur, en ne comptabilisant pas les réponses trop lentes (frustration), ou en quantifiant les résultats (compétition).

La mesure du stress en laboratoire

Elle fait appel à divers outils capables de caractériser les différentes composantes de la réaction de stress : questionnaires de psychologie, dosages endocriniens, mesures physiologiques.

Les mesures psychologiques reposent sur des questionnaires susceptibles de croiser leurs informations et dont le choix est fonction de la théorie psychologique adoptée. Ainsi, dans le cadre de la théorie du coping, il est usuel de faire appel à un questionnaire de stress perçu (questionnaire de Cohen), un questionnaire de modalité de coping (questionnaire de Vitaliano), un questionnaire d'état interne (anxiété avec le questionnaire de Spielberger, activation mentale avec le questionnaire de Thayer, etc.).

La mesure de la réaction endocrinienne repose sur le dosage du cortisol, de l'adrénaline, de la noradrénaline dans les urines, dans le plasma ou dans la salive. D'autres dosages sont possibles comme la prolactine ou l'interleukine 1β (Ilardo, et al., 2001). Ils relèvent encore du domaine de la recherche.

La mesure des effets physiologiques du stress est usuellement pratiquée sur les systèmes cardio-vasculaire et respiratoire. Les conséquences cardio-vasculaires du stress sont liées à l'activation sympathique qui provoque une élévation de la pression artérielle avec augmentation des résistances vasculaires périphériques et une accélération de la fréquence cardiaque (Larson, Ader, & Moynihan, 2001). Elles sont explorées par l'enregistrement de la fréquence cardiaque, la mesure des pressions artérielles systolique, diastolique, des pressions artérielles moyenne ou pression « utile », et différentielle qui traduit le travail des parois artérielles, susceptible d'induire une pathologie vasculaire. L'analyse spectrale de la variabilité de la fréquence cardiaque instantanée a été récemment évoquée pour l'exploration des facteurs de la régulation cardiaque comme la balance sympatho-vagale correspondant au rapport des activités sympathique activatrice et parasympathique, frénatrice (Dishman, et al., 2000; Porges, 1995). Les effets respiratoires de l'anxiété et du stress, peuvent également être analysés (amplitude, fréquence, part de la ventilation abdominale dans la ventilation totale) (Boiten, Frijda, & Wientjes, 1994).

D'autres effets physiologiques ont été décrits mais restent délicats d'utilisation comme l'augmentation de la sécrétion sudorale au niveau des paumes et des plantes conduisant à une modification de la conductivité électrique cutanée (Turpin & Harrison, 2000).

Les difficultés méthodologiques

L'exploration du stress en laboratoire se heurte à des difficultés méthodologiques, certaines pouvant être évitées et d'autres étant incontournables. Ainsi, il faut citer :

- L'interférence de la prise de mesure sur la perception du stresseur.
- La standardisation du stresseur
- La crédibilité du stresseur. Au delà de l'investissement du sujet dans l'expérimentation, la plupart des études cherchent à se mettre dans des situations naturalistiques rendant le stresseur crédible : demande d'une performance (Moradi, Tagha, Neshat Doost, Yule, & Dalgleish, 1999; Stuss, Floden, Alexander, Levine, & Katz, 2001), examen (Spangler, 1997), jeu en casino (Meyer, et al., 2000), etc.
- La séparation de l'émotion d'anticipation du stress lors d'un premier test. Cet effet d'anticipation anxieuse est visible lors de la première exposition au stresseur et diminue avec le nombre de réexposition au stresseur. L'analyse des effets d'un nutriment doit prendre en compte ce biais. Dans cette étude, les valeurs de repos servant de référence pour la mesure de la réactivité cardio-vasculaire et psychologique au stresseur, ont été mesurées à la fin de la période de relaxation suivant la période de stress, ce qui a permis de limiter le biais d'anticipation.
- L'unicité de l'individu. Cette caractéristique conduit à travailler davantage sur des variations au sein d'un même individu que sur des différences de population dont l'homogénéité statistique cache mal la profonde variabilité interindividuelle. Cette variabilité s'accentue si l'on prend en compte la notion de canal préférentiel, traduisant le fait qu'un individu réponde par exemple principalement par une augmentation de pression artérielle, ou bien par une augmentation de fréquence cardiaque.

Matériel et méthodes

Objectifs de l'expérimentation

Le but de l'expérimentation est d'étudier le retentissement de la consommation prolongée d'ING911 sur la réactivité cardio-vasculaire au cours d'un stress aigu. Le critère primaire est l'importance de la variation des variables cardio-vasculaires en début d'exposition au stress.

Les buts secondaires de l'expérimentation sont dans l'ordre de prise en compte : (i) d'évaluer le retentissement de la consommation prolongée d'ING911 sur les variables cardio-vasculaires, endocriniennes et psychologiques après exposition aux contraintes de la vie quotidienne, (ii) d'évaluer le retentissement de la consommation prolongée d'ING911 sur la réactivité psychique et endocrinienne au cours d'un stress aigu Les critères secondaires découlent de ces objectifs

Protocole d'étude

L'étude est un essai comparatif randomisé d'un nutriment, l'ING911, et d'un Placebo sur deux groupes de sujets non appariés, stratifiés selon le sexe, avec une procédure d'attribution en double aveugle du nutriment.

Elle se déroule sur 45 jours et comporte quatre tests psychophysiologiques identiques séparés par une exposition à la vie quotidienne de 10, 20 et 12 jours. A J0, les sujets passent un premier test évaluant leur réactivité au stress avant consommation du nutriment. Après J0, ils prennent le nutriment pendant 30 jours consécutifs durant lesquels ils passent deux autres tests, à J11 et J31, soit le lendemain des 10^{e} et 30^{e} jour de consommation du nutriment. A J43, soit douze jours après l'arrêt de la consommation du nutriment, les sujets passent un dernier test évaluant leur réactivité finale hors effet pharmacologique de la consommation de nutriment. A l'issue de ce dernier test, l'expérimentation est terminée et une période d'exclusion réglementaire de 14 jours débute. Durant les périodes inter-tests, les sujets remplissent un agenda de consommation du nutriment et de relation des événements importants afin de se garantir contre les oublis de prise et de juger des événements intercurrents.

Sélection des sujets

Les sujets ont été recrutés par voie d'affichage dans des lieux publics (facultés de médecine et de pharmacie, UFRAPS,...). L'expérimentation a été décrite en détail aux sujets volontaires et les dispositifs servant aux expérimentations leur ont été montrés avant l'obtention expresse de leur consentement éclairé. Les consentements éclairés ont été archivés dans le dossier individuel de chaque sujet. Les sujets n'avaient jamais été auparavant confrontés à ce type d'expérimentation. L'éligibilité à l'expérimentation a décidé après une visite médicale d'inclusion comprenant un examen médical complet et un ECG.

Critères d'inclusion

- sujets volontaires âgés de 18 à 40 ans ayant émis un consentement éclairé à leur participation
- examen clinique normal ;
- électrocardiogramme normal ;
- fréquence cardiaque au repos entre 50 et 80 bpm ;
- absence d'hypertension artérielle : PAS <140 mm Hg et PAD ≤ 80 mm Hg ;
- absence de surcharge pondérale : indice de masse corporelle < 25

Critères de non inclusion

- mineurs, majeurs protégés et les femmes enceintes conformément à l'article L-209 de la loi du 20 décembre 1988 modifiée ;
- allergie aux produits laitiers ;
- consommation importante de produits laitiers fermentés (> 2 yaourts par jour);
- syndrome de Raynaud connu ;
- affection coronarienne ;
- traitements médicamenteux en cours, y compris à visée antalgique ;
- pratique habituelle d'arts martiaux et de techniques de relaxation (yoga, sophrologie, etc.) ;
- travail de nuit ;
- consommation d'alcool supérieure à 150 g par semaine ;
- tabagisme supérieur à 1 paquet par jour ;
- sérologie HIV ou HCV ou HBV positive ;
- participation à une autre étude clinique en cours.

Typage psychophysiologique des sujets

A la fin de la visite d'inclusion, les sujets ont rempli une série de questionnaires d'inclusion comprenant :

- un questionnaire de Bortner permettant de juger de la classification A/B du sujet ;
- un questionnaire de matutinalité et de vespéralité de Horne et Osberg permettant de savoir si le sujet est plutôt « du matin » ou « du soir »..
- un questionnaire de sportivité afin d'évaluer le niveau de pratique sportive des sujets.

Randomisation des sujets

A l'issue de la visite médicale, 58 sujets ont été éligibles et 53 sujets ont participé effectivement à l'expérimentation, soit 27 femmes et 26 hommes. Les sujets ont été randomisés par blocs de 8 sujets en deux groupes ING911 et placebo. Une stratification selon le sexe a été respectée à l'intérieur de chaque bloc. La randomisation a conduit à la répartition décrite dans le Tableau 2.

	Homme	Femme	Total
Placebo	12	14	26
ING911	14	13	27
Total	26	27	53

Tableau 2
Répartition des sujets à l'inclusion

Un sujet placebo a été exclu avant J31 en raison de symptômes d'anxiété avec somatisation. Cette exclusion a eu lieu sur décision médicale sans ouverture des codes par les investigateurs. L'ouverture du code du sujet a été faite par le pharmacien responsable de la gestion de la randomisation et communiquée au sujet. Cette exclusion a porté les effectifs à 27 femmes et 25 hommes répartis comme mentionné dans le Tableau 3.

	Homme	Femme	Total
Placebo	11	14	25
ING911	14	13	27
Total	25	27	52

Tableau 3

Répartition des sujets dans l'expérimentation

Aucune sortie volontaire de l'étude n'a été constatée. La population analysée a été définie selon la technique du traitement donné : tous les sujets ayant été inclus dans l'expérimentation et ayant complété l'expérimentation ont été pris en compte dans l'analyse.

L'expérimentation a été conduite en double aveugle de façon à ne pas créer de biais pour les variables d'intérêt

Distribution temporelle des sujets

Dix séries expérimentales de six sujets ont été définies Les créneaux expérimentaux de chaque journée de test ont été définis à raison de 3 sujets testés le matin (8h00, 9h30, 11h00) et de 3 sujets testés l'après-midi (13h00, 14h30, 16h00). La distribution des créneaux expérimentaux aux sujets s'est faite de la façon suivante :

1. Les séries expérimentales ont été choisies par les sujets en fonction de leur disponibilité de façon à ce qu'ils soient certains de participer à tous les tests de la série sans écart de date.
2. La répartition des sujets d'une même série expérimentale dans la journée a été effectuée en fonction de leur possibilité ainsi que des résultats du questionnaire de Horne et Osberg. Les sujets franchement du matin ou franchement du soir ont été testés respectivement plutôt en fin de matinée ou en début d'après-midi de façon à ce que leur réactivité soit comparable à celle des sujets intermédiaires.

Produits utilisés

Généralités

Les produits ont été disponibles sous la forme de flacons contenant 30 gélules codés par une lettre représentative du sexe (F, M) et d'un numéro (1 à 28). La correspondance entre les codes et le contenu des gélules a été détenue par le pharmacien, investigateur indépendant responsable de la randomisation des nutriments. Les produits ont été stockés dans une armoire close du laboratoire à une température inférieure à 25°C et une humidité relative inférieure à 70%. Les produits ont été utilisés dans les 12 mois à compter de la date de fabrication. Les produits non utilisés ont été retournés à INGREDIA en fin d'expérimentation.

Les produits (ING911 et Placebo) ont été administrés à raison d'une gélule le soir au coucher pendant 30 jours consécutifs. Les produits ont été délivrés en entier au sujet après le premier test, soit les 30 gélules correspondant aux 30 jours de consommation du nutriment. De la même façon, il a été demandé aux sujets de maintenir ces gélules dans un endroit sec et frais.

Les sujets ont reçu leur pilulier à la fin de J0 et ont signé l'agenda précisant que le produit leur avait été remis en main propre. Ils ont vérifié que le numéro du gélulier correspondait à leur numéro de randomisation. Le suivi de la consommation a été effectué par un agenda sur lequel les sujets cochaient chaque jour la réalité de la consommation.

Produit Placebo

Le Placebo se présente sous forme de gélules d'aspect identique contenant 150 mg de lait écrémé en poudre.

Produit ING911

Le produit ING911 est une gélule contenant 150 mg d'hydrolysat de caséine alpha S1 en poudre (n° de lot : 067101). Il est fabriqué par la société INGREDIA à Arras (62). Il s'agit d'un nutriment dont les principales caractéristiques sont les suivantes :

Analyses physico-chimiques :

- Humidité : 5.3 %
- Matières grasses : < 0.1 %
- Matières azotées : 74.9 %
- Matières minérales : 19 %
- Lactose (par différence) : 0.8 %

Analyses bactériologiques :

- Germes totaux : 100/g.
- Coliformes : Abs/g.
- E. Coli : Abs/g
- Spores de clostridium SR : Abs/g (24h à 46°C).
- Staphylococcus aureus : Abs/g.
- Salmonelles : Abs/25 g.
- Levures et Moisissures : Abs/g.

Déroulement d'un test

Tous les tests d'une même série expérimentale se déroulent de la même manière (Tableau 4). La veille, les sujets ont eu une activité « normale », en particulier ils ont évité durant l'après-midi toute activité sportive, toute prise de café, d'alcool et de tabac, ils se sont couchés à l'heure habituelle après avoir vidé leur vessie.

Le matin du test, les sujets ont recueilli leurs urines immédiatement après le lever dans un bocal mis à leur disposition à cet effet En cas de besoin nocturne, les urines ont également été recueillies de façon à ce que le volume urinaire corresponde aux urines de la nuit. Puis, ils ont renseigné le questionnaire sur le sommeil (Buguet) et pris leur petit-déjeuner normalement avant de se rendre au laboratoire.

Arrivés au laboratoire, les sujets donnent aux expérimentateurs le questionnaire de sommeil dûment renseigné qui est archivé dans leur dossier, ainsi que le bocal d'urine qui est immédiatement traité Ils présentent également l'agenda sur lequel ils ont confirmé la consommation du nutriment. Puis, les sujets renseignent dans une pièce calme les questionnaires initiaux : questionnaire de coping de Vitaliano, questionnaire de stress perçu de Cohen, questionnaire de tendance anxieuse de Spielberger-trait et enfin, le questionnaire d'effets secondaires de Hopkins (uniquement à J0, J31 et J43). Les sujets restent ensuite en position assise confortable, à la neutralité thermique, pendant environ une demi-heure au cours de laquelle une vidéo sur un sujet affectivement neutre leur est proposée.

A l'issue de cette période, ils se rendent dans la salle de test. Le brassard de prise de la pression artérielle est mis en place. Les sujets ayant été équipés d'électrodes thoraciques, un électrocardiogramme est enregistré en continu jusqu'à la fin de l'expérimentation au moyen d'un enregistreur de type Temec™.

1) Mesure des paramètres « ambulatoires » : Une première mesure de pression artérielle et de fréquence cardiaque est effectuée, pour estimer les valeurs « Ambulatoires », dans les conditions de la vie courante. Puis les sujets demeurent au calme pendant à nouveau 10 minutes et

regardent une vidéo affectivement neutre (documentaire sur la civilisation Zen, série Grandes civilisations).

2) Période initiale de relaxation R : une première période de relaxation de 5 minutes (période R) est effectuée. Au cours de la sixième minute de relaxation, une mesure de pression artérielle et de fréquence cardiaque est effectuée (R6). Puis les sujets renseignent les questionnaires (questionnaire d'activation de Thayer, questionnaire d'anxiété de Spielberger–état) pendant qu'un prélèvement de salive est effectué grâce à une salivette.

3) Période de stress S : A l'issue de cette phase, la vidéo est arrêtée, le fauteuil des sujets est alors tourné vers le micro-ordinateur sur lequel est implémenté le test de Stroop qui est administré pendant 5 minutes. Durant cette période, ainsi que durant les 3 minutes immédiatement suivantes, la pression artérielle et la fréquence cardiaque sont mesurées toutes les minutes (mesures S1 à S5 et P1 à P3). Pendant les trois minutes suivant le Stroop, les sujets renseignent les questionnaires (questionnaire d'activation de Thayer, questionnaire d'anxiété de Spielberger-état) pendant qu'un prélèvement de salive est effectué. L'enregistrement de fréquence cardiaque et pression artérielle au cours des trois premières minutes après la fin du test (P1 à P3), dites « période de récupération initiale », permet d'analyser la cinétique de retour à l'état de base de ces variables cardio-vasculaires

4) Période de récupération Z : Après cette période, le sujet reste au calme pendant 10 minutes dans les mêmes conditions que durant la phase R de façon à se détendre. Puis, une deuxième période de relaxation de 5 minutes (période Z) est effectuée. Au cours de la sixième minute de relaxation, une mesure finale de pression artérielle et de fréquence cardiaque (Z6) est effectuée. Enfin, les sujets renseignent les questionnaires (questionnaire d'activation de Thayer, questionnaire d'anxiété de Spielberger–état. pendant qu'un prélèvement de salive est effectué grâce à une salivette.

Les valeurs de pression artérielle et de fréquence cardiaque mesurées en Z6 ont été considérées comme les valeurs de repos de référence (ceci pour éviter un biais d'anticipation probable en ce qui concerne les valeurs mesurées à la période initiale R). De même, les scores d'activation de Thayer et d'anxiété-état obtenus à cette période Z ont été utilisés comme scores de référence.

A l'issue du test, les sujets sont déséquipés et peuvent retourner à leur occupation usuelle sans consigne ou recommandation particulière, les épreuves auxquelles ils ont été soumis n'ayant aucune incidence sur leur état médico-psychologique.

Durée des phases des enregistrements		**(R)**	**(S)**	**(Z)**
		≠ 50 min	≠ 10 min.	≠ 20 min.
		5 minutes	8 minutes	5 minutes
Mesures	**Ambulatoire**	**Référence (R)**	**Pendant le test (S)**	**Récupération (Z)**
Questionnaires	- Sommeil - Coping de Vitaliano - Stress perçu de Cohen - Check-list de Hopkins	- Activation de Thayer - Anxiété « état » de Spielberger	- Activation de Thayer - Anxiété « état » de Spielberger	- Activation de Thayer - Anxiété « état » de Spielberger
Cortisol	urinaire	salivaire	salivaire	salivaire
PA	oui	oui	oui	oui
ECG	non	continu	continu	continu

Tableau 4

Tableau récapitulatif des mesures biologiques effectuées au cours de l'expérimentation

Méthode de stress utilisée

La méthode d'activation choisie est le test de conflit mental de Stroop (Stroop, 1935). Ce test entraîne une charge mentale importante avec un conflit cognitivo-sensoriel générant un stress

modéré de bonne reproductibilité. Il a donc été utilisé dans de nombreuses études concernant la réactivité psychophysiologique (Gabr, Birkle, & Azzaro, 1995; Gerra, et al., 2001; Linde, Hjemdahl, Frevschuss, & Juhlin-Dannfelt, 1989; Moradi, Tagha, Neshat Doost, Yule, & Dalgleish, 1999; Naesh, Haedersdal, Hindberg, & Trap-Jensen, 1993)

Les sujets doivent taper avec un doigt de la main dominante sur les touches colorées du clavier (bleu, vert, jaune ou rouge) au fur et à mesure que défilent sur l'ordinateur des séries de quatre couleurs écrites avec des mots de couleurs différentes. Chaque bonne réponse et chaque erreur sont enregistrées et signalées par deux sonneries différentes. La vitesse de défilement, initialement fixée à « 8 », varie au cours du temps en fonction de la performance des sujets : un grand nombre d'erreurs conduit à une réduction de la vitesse de défilement alors qu'un petit nombre d'erreurs s'accompagne du phénomène inverse.

La performance est résumée par le nombre total de réponses. Ce nombre est proportionnel au nombre de réponses justes car la vitesse de présentation diminue automatiquement en cas d'erreur.

Recueil et traitement des variables physiologiques

Variables cardio-vasculaires

Recueil des variables cardio-vasculaires

La mesure de la pression artérielle systolique et diastolique ainsi que de la fréquence cardiaque est effectuée par un appareil Dinamap (Critikon, Tampa, Floride) dont le brassard automatique est placé sur le bras non-dominant (Larson, Ader, & Moynihan, 2001; Lovallo & Al'Absi, 1998). La mesure est effectuée avant la phase R (Ambulatoire), en fin de la phase R (R6), toutes les minutes durant le test de Stroop et pendant les trois minutes suivantes (S1 à S5 et P1 à P3) ainsi qu'en fin de la phase Z (Z6). Les variables mesurées sont les pressions artérielles diastolique (PAD) et systolique (PAS). Elles sont exprimées en mm Hg.

Variables cardiovasculaires dérivées

Les variables calculées de premier ordre sont les pressions artérielles différentielle (P_{diff}=PAS-PAD) et moyenne (PAM=PAD+1/3(PAS-PAD)).

Les pressions vasculaires de stress sont estimées par la moyenne des pressions mesurées pendant les trois premières minutes de stress. Les pressions vasculaires de relaxation et de récupération retenues pour l'analyse, sont celles qui ont été mesurées pendant la sixième minute de relaxation des périodes 'R' (mesure 'R6') et 'Z' (mesure 'Z6'). Les paramètres vasculaires de récupération initiale ont été estimés par la moyenne des mesures effectuées pendant les trois premières minutes après la fin du stress.

La réactivité cardio-vasculaires de stress a été calculée comme la différence entre la valeur de stress et la valeur de référence mesurée à la fin de la deuxième période de relaxation en Z6.

Variables endocriniennes

Cortisol urinaire

La mesure du cortisol urinaire est effectuée sur le recueil des urines de la nuit précédant le test. Les 3 prélèvements urinaires sont conservés à –20°C. Ils servent respectivement au dosage des concentrations de cortisol et de créatinine, le troisième prélèvement étant en secours. Le dosage du cortisol est effectuée selon une technique radio immunologique en phase solide (Kit RIA cortisol réf TKC050, Dade Behring, Paris la défense, France) utilisant un solubilisant du

cortisol (réf. 25COZ, lot n°37A, péremption 31/12/2001, Dade Behring, Paris la défense, France) et des sérums de contrôle d'immunodosage (réf. CONO, lot 17, péremption 31/08/2001, Dade Behring, Paris la défense, France). Le dosage de la créatinine est fait par un automate.

L'excrétion totale de cortisol est exprimée comme le produit de la concentration urinaire de cortisol ($[Cort]_U$, nmol/l) par le volume émis lors de la nuit (l). Les résultats sont exprimés en valeurs absolues (nmol/nuit). Les valeurs aberrantes ont été supprimés sur un critère de volume urinaire émis inadéquat (oubli partiel du sujet, etc.).

Cortisol salivaire

La concentration salivaire du cortisol est mesurée dans les salives obtenues après les phases de relaxation, stress et récupération. Le recueil de la salive nécessaire aux dosages est effectué par les sujets eux-mêmes. Ils gardent dans la bouche un tampon hydrophile le temps nécessaire pour qu'il soit bien imbibé de salive, en général entre 2 et 3 minutes. Le dispositif utilisé (« salivette », Starstedt S.A., Orsay, France) permet le recueil de la salive puis sa centrifugation directe sans contamination. Les salivettes utilisées par un sujet sont conservées à 4°C durant la durée du test. Elles sont centrifugées ensemble et les échantillons de salive sont conservés à –20°C. Le dosage du cortisol est réalisé selon la technique radio immunologique référencée ci-dessus.

La production de cortisol salivaire est estimée à partir de la concentration salivaire du cortisol ($[Cort]_S$, nmol/l).

Les sujets ont été testés à la même heure au cours des 4 journées de test pour contrôler les effets de la variabilité circadienne du cortisol.

La mesure du cortisol salivaire effectuée à la fin de la première période de relaxation a été prise comme valeur de repos du cortisol salivaire. La mesure du cortisol salivaire effectuée 20 minutes après le début de l'épreuve de stress soit à la fin de la deuxième période de relaxation a été prise comme valeur de stress du cortisol salivaire, la réactivité du cortisol salivaire étant la différence entre cette mesure et la mesure de repos.

Recueil et traitement des variables psychologiques

Questionnaire de Bortner

Le questionnaire de Bortner apprécie la capacité des sujets à se comporter comme « un sujet compétiteur agressif » ou comme un « sujet paisible », ce qui correspond respectivement à la classification A et B de Rosenman et Friedman (Bouvard & Cottraux, 1998). Le questionnaire a été validé dans la population francophone pour un score total moyen allant de 169 à 184. Le sujet est décrété de type A si son score dépasse 190. La variable dérivée est le score total. Les réponses manquantes sont remplacées par le score moyen du sujet.

Questionnaire de sportivité

Le questionnaire de sportivité évalue à partir des données de biométrie et d'intensité de pratique sportive la vitesse maximale aérobie prédite (Melin, et al., 1998). Validé dans la population française, il permet une appréciation fiable de la qualité physique des sujets. La variable dérivée est la vitesse maximale aérobie prédite.

Questionnaire de Horne et Osberg

Le questionnaire de Horne et Osberg permet de qualifier le caractère matinal ou vespéral des sujets (Horne & Östberg, 1976). Il est auto-administré et a été validé dans la population

francophone (Billiard, 1994). A l'issue du questionnaire, les sujets sont classés en 5 catégories : franchement du matin (score de 70 à 86), du matin (score de 59 à 69), indifférent (score de 42 à 58), du soir (score de 31 à 41) et franchement du soir (score de 16 à 30). Les variables dérivées sont donc le score moyen et la typologie moyenne.

Questionnaire de coping de Vitaliano

Le questionnaire de coping de Vitaliano (Vitaliano, Russo, Carr, Maiuro, & Becker, 1985) permet de qualifier la façon dont le sujet pense affronter une difficulté. Ce questionnaire est divisé en deux parties :

1- la première partie concerne la cotation subjective sur une échelle à trois niveaux (bas, moyen, haut) de la contrainte de la vie quotidienne.

2- la seconde partie est un questionnaire de 42 items qui a été validé dans la population francophone (Paulhan & Bourgeois, 1998, Paulhan, Nuissier, Quintard, Cousson, & Bourgeois, 1994). Les variables dérivées sont les scores de chacun des 5 axes. Les axes de modalité de coping sont définis de la façon suivante :

+ Coping orienté vers la résolution du problème : items n° 1, 4, 6, 13, 16, 18, 24, 27
+ Coping orienté vers l'évitement avec pensée positive : items n° 7, 8, 11, 17, 19, 22, 25
+ Coping orienté vers la recherche du soutien social : items n° 3, 10, 15 (ci), 21, 23
+ Coping orienté vers la réévaluation positive : items n° 2, 5, 9, 12, 28
+ Coping orienté vers l'auto-accusation : items n° 14, 20, 26, 29

Les valeurs manquantes sont remplacées par le score moyen arrondi du sujet dans l'axe dans lequel la valeur manquante est constatée.

Questionnaire de stress perçu de Cohen et Williamson

Le questionnaire de stress perçu de Cohen et Williamson ou PSS (Cohen, Kamarck, & Mermelstein, 1983) permet de qualifier l'importance avec laquelle les situations de la vie sont généralement perçues comme menaçantes. Ce questionnaire a été validé dans la population francophone (Bruchon-Schweitzer & Dantzer, 1998). Il a été utilisé dans sa forme à 14 items.

La variable dérivée est la somme des scores obtenus à chacun des items. Les valeurs manquantes sont remplacées par le score moyen du sujet calculé sur les items remplis au cours du même test et arrondi à l'unité de cotation la plus proche.

Questionnaires d'anxiété état et trait de Spielberger

Les questionnaires d'anxiété état et trait de Spielberger apprécient le niveau d'anxiété d'un sujet soit en général (Spielberger-trait ou STAI-trait), soit à un moment particulier (Spielberger-état ou STAI-état). Ces tests ont été validés dans la population francophone. Il est distribué par les Editions du centre de psychologie appliquée auprès de qui il a été acheté.

La variable dérivée est la somme des scores obtenus à chacun des 20 items. Dans le STAI-trait, les valeurs manquantes sont remplacées par le score moyen du sujet calculé sur les items remplis au cours du même test et arrondi à l'unité de cotation la plus proche. En revanche, aucun remplacement de valeurs manquante n'a été effectué dans le STAI-état en raison du taux minime de valeurs manquantes (11 sur 12480, soit 0,08%).

Questionnaire d'activation de Thayer

Le questionnaire d'activation-désactivation de Thayer évalue le niveau de vigilance et de réactivité d'un sujet (Thayer, 1986). Les variables dérivées correspondent aux axes d'activation et de désactivation.

L'analyse initiale se fait sur 4 axes définis par les items suivants :

- Tension intérieure : mal à l'aise, inquiet, énervé, tendu, crispé

- Relaxation intérieure : indifférent, calme, détendu, tranquille, silencieux
- Activation générale : actif, énergique, dynamique, « la pêche », en forme
- Désactivation générale : endormi, fatigué, attentif (cotation inverse), somnolent, éveillé (cotation inverse).

L'analyse secondaire se fait par regroupement de ces axes initiaux en deux axes :

- Axe de tension : Tension intérieure/Relaxation intérieure (cotation TA)
- Axe d'énergie : Activation générale/Désactivation générale (cotation EA)

Questionnaire de sommeil

Le questionnaire de sommeil a été mis au point par A. Buguet et coll. (Buguet, 1994) et validé dans les populations francophones (Buguet, Bourdon, Canini, Cespuglio, & Radomski, 1999; Buguet, Lonsdorfer, Bogui, Yapi, & Eboulé, 1992). Il est administré tous les matins des jours de test.

Il est constitué de 10 items chiffrés explorant la qualité subjective générale du sommeil (Q1), la facilité et la durée subjective d'endormissement (Q2 et Q3), le nombre de réveils nocturnes (Q4), les conséquences sur l'envie de travailler (Q5), la forme physique (Q6, cotation inverse), le moral (Q7) et l'humeur (Q8). Les caractéristiques objectives de la nuit sont décrites par les heures de coucher (Q9) et de lever (Q10).

Le questionnaire est retiré aux sujets après chaque cotation afin d'éviter une contamination de cotation d'un test sur l'autre.

Check-list d'effet secondaire de Hopkins

Cette check-list permet d'apprécier les effets généraux psychologiques et somatiques d'un produit nutritionnel ou médicamenteux ou d'une situation (Derogatis, Lipman, Rickels, Uhlenhuth, & Covi, 1974). Les variables dérivées sont le score global et les scores totaux obtenus dans chacun des axes définis comme suit :

+ Axe n°1, Somatisation : Items n° 1, 4, 12, 14, 27, 42, 48, 49, 52, 53, 56, 58
+ Axe n°2, Obsession-compulsion : Items n° 9, 10, 28, 38, 45, 46, 51, 55
+ Axe n°3, Sensibilité interpersonnelle : Items n° 6, 11, 24, 34, 36, 37, 41
+ Axe n°4, Dépression : Items n° 5, 15, 19, 20, 22, 26, 29, 30, 31, 32, 54
+ Axe n°5, Anxiété : Items n° 2, 17, 23, 33, 39, 50

Les valeurs manquantes n'ont pas été remplacées car elles correspondaient essentiellement à un seul sujet n'ayant pas rempli le test à J43.

Traitement des données

<u>Procédures de saisie</u>

Les données ont été saisies manuellement par un opérateur et vérifiées à différents niveaux de la saisie.

Elles ont été vérifiées selon les procédures suivantes :

- données cardiovasculaires : vérification graphique sous Excel de toutes les données pour repérage des valeurs aberrantes et fautes de saisie
- données psychologiques : vérification au cours de la saisie. La saisie s'est effectuée sur un classeur Excel différent de celui de stockage des données. Le transfert de l'un sur l'autre s'est effectué par copie automatique. Le classeur de saisie contenait une feuille par test et l'opérateur ne devait rentrer que la valeur « 1 » dans la colonne adéquate. Les cotations ont été déduites de façon automatique en tenant compte des cotations inverses éventuelles et effectuant les sommes de scoring de façon automatique. Des lignes/colonnes de calcul ont été générées permettant de vérifier l'absence d'une double

cotation sur la même ligne ou la même colonne. Une vérification *a posteriori* concernant quelques sujets a été effectuée avant de valider la saisie.

- données endocriniennes : les valeurs générées par les automates de mesure ont été saisie à la main et vérifiées avant calcul.

Procédures de gel de données et de décodage

Les valeurs saisies ont été stockées dans des classeurs Excel dont la date de dernière modification est inférieure à la date du 19 octobre, date de levée d'anonymat.

Le décodage a été effectué après le 19 octobre par ouverture de l'enveloppe contenant les codes. L'enveloppe ouverte reste insérée dans le dossier de l'expérimentation. L'analyse statistique intermédiaire a été faite en aveugle (nutriment A *vs* nutriment B). L'adéquation des codes aux sujets a été vérifiée sur les dossiers individuels sur lesquels figurent le code du sujet et le n° du gélulier et l'adéquation entre type de nutriment et n° de gélulier a été effectuée deux fois par deux personnes différentes.

Analyse statistique

L'analyse statistique concernant des variables qualitatives comme la répartition des nutriments dans les séries, les fenêtres horaires et les parties de journées, fait appel au test de probabilité exacte de Fisher (données 2x2) ou au test de Chi2 corrigé des effectifs.

La comparabilité des groupes expérimentaux à J0 concernant les paramètres des caractéristiques générales, de l'état de base et de la réactivité au stress a été vérifiée par des tests t.

La stabilité des paramètres au cours de l'étude chez les sujets Placebo a été testé par une ANOVA à mesures répétées. En cas de positivité, un test HSD de Tuckey a été utilisé pour les comparaisons entre jours.

De même, l'analyse de l'évolution dans le temps des performances au test de Stroop a été effectuée par ANOVA à mesures répétées (4 répétitions) avec deux facteurs (nutriment et sexe).

L'analyse statistique évaluant l'impact d'un nutriment dans la population générale, a été réalisée par une ANCOVA à mesures répétées avec un effet nutriment (ING911 et Placebo) en considérant comme covariant la valeur à J0 du paramètre analysé. Secondairement, une ANCOVA à deux facteurs nutriment et sexe a été réalisée. Le résultat pris en compte est l'effet « nutriment » corrigé de l'effet « sexe ». Cette analyse permet de s'affranchir de différences liées au sexe comme cela est couramment observé pour les variables cardio-vasculaires et psychologiques (Kudielka, Hellhammer, & Kirschbaum, 2000).

Dans le cas d'une interaction significative nutriment x sexe sur les critères principaux de réactivité cardiovasculaire, une étude de contrastes a été effectuée et un l'effet nutriment testé par un test F dans chaque sous-groupe.

Dans le cas d'une interaction significative nutriment x sexe sur les critères secondaires, l'effet nutriment a été testé, dans les sous-groupes, par un test post-hoc de Tuckey.

La recherche d'un effet nutriment résiduel à J43 a été effectuée par une ANCOVA en considérant comme covariant la valeur à J0 du paramètre analysé.

Une analyse complémentaire a été réalisée pour étudier les effets de ING911 chez les sujets fortement répondeurs au stress ('high responders', HR) et chez les sujets faiblement répondeurs ('low responders', LR). Une classification des sujets en HR et LR a été effectuée sur la réactivité de la PAS face au stress et sur l'anxiété-trait des sujets à J0 selon la méthode des k-moyennes (MacQueen, 1967), après standardisation des données.

Dans chaque classe de sujets, l'effet nutriment a été analysé par une ANCOVA à mesures répétées ANCOVA à deux facteurs nutriment et sensibilité au stress avec la valeur à J0 du paramètre analysé comme covariant.

Dans le cas d'une interaction significative nutriment x sensibilité au stress sur les critères principaux de réactivité cardiovasculaire, une étude de contrastes a été effectuée et un l'effet nutriment testé par un test F dans chaque sous-groupe.

Les résultats statistiques ont été exprimés sous la forme de moyennes (déviation standard), m(SD). La significativité d'un résultat est acceptée au seuil de $p<0,05$ et la tendance au seuil de $p<0,10$. L'expression de la significativité est effectuée selon le code : * : $p<0,05$; ** : $p<0,01$; *** : $p<0,001$; **t** : $p<0,10$

NB : Les valeurs moyennes (SD) des résultats obtenus à J0, J11, J31 et J43 sont présentées sous forme de tableaux, où ne sont indiquées par des sigles (t : $p<0,10$; * : $p<0,05$; ** : $p<0,01$; *** : $p<0,001$) que les valeurs significativement différentes à J0 entre groupes par test t.

Les résultats des ANCOVA à mesures répétées à J11 et J31 et les éventuelles interactions entre facteurs figurent dans un deuxième tableau.

Résultats

Résultats

Répartition et biométrie des sujets à l'inclusion

Compte tenu du sujet exclu pour raison médicale, 52 sujets ont été inclus dans l'expérimentation, répartis comme noté dans le Tableau 3.

Aucune différence entre nutriments et sexe n'est observée dans la répartition des sujets (i) dans les séries expérimentales, (ii) dans les horaires expérimentaux au sein d'une même journée, que cette répartition soit considérée en tant qu'horaire ou que matutinalité/vespéralité. La majorité des sujets (43/52) était de typologie médiane, les sujets restant étant surtout du matin (matin : 8 et soir : 1).

Aucune différence significative n'est observée entre nutriments pour les variables morphologiques suivantes : âge (années), poids (kg), taille (cm), indice de masse corporelle (IMC, kg/m^2).

Aucune différence significative de répartition de niveau physique n'est observée entre nutriments chez les hommes et les femmes. Les sujets présentent la même vitesse maximale aérobie prédite (km/h) qui correspond à des sujets plutôt entraînés.

Aucune différence significative de score total au test de Bortner n'est observée entre nutriments chez les hommes et les femmes. Les valeurs correspondent à des sujets de type non A représentatifs de la population française.

Les variables physiologiques ne diffèrent pas entre groupes Placebo et ING911 à l'exception de la FC ambulatoire plus élevée chez les hommes ING911 que chez les hommes Placebo et du cortisol urinaire plus élevé chez les sujets ING911 que chez les sujets Placebo.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
Effectif	25	27	14	13	11	14
Age	29,7 (8,1)	29,1 (5,8)	31,4 (8,1)	28,5 (7,0)	27,6 (7,8)	29,6 (4,6)
Poids	63,6 (11,7)	65,3 (11,6)	56,4 (8,7)	56,7 (8,6)	72,7 (8,0)	73,2 (7,7)
Taille	169,9 (9,6)	170,7 (11,0)	163,6 (5,8)	162,5 (8,3)	178,0 (7,0)	178,3 (6,9)
IMC	21,9 (2,3)	22,3 (2,3)	21,0 (2,4)	21,4 (2,5)	22,9 (1,8)	23,0 (1,8)
FC	64,7 (12,3)	67,0 (11,7)	71,2 (13,1)	67,3 (14,5)	57,7 (6,4)	66,6 (9,3)*
PAS	118,5 (11,6)	119,4 (15,5)	114,1 (10,4)	108,6 (8,8)	123,3 (11,3)	128,6 (14,1)
PAD	71,5 (6,5)	73,4 (7,0)	71,3 (5,3)	71,5 (7,1)	71,8 (7,9)	75,0 (6,8)
Cortisol urin.	32,1 (22,3)	46,5 (22,9)*	22,6 (10,0)	39,6 (24,4)	44,2 (28,0)	53,0 (20,2)
Bortner	183,1 (21,8)	182,3 (24,8)	185,5 (16,6)	179,6 (27,9)	180,0 (27,6)	184,9 (22,2)
STAI-trait	35,9 (8,9)	38,6 (9,7)	35,0 (8,3)	40,3 (10,1)	37,1 (9,9)	37,1 (9,4)
Cohen	31,6 (5,5)	32,6 (5,2)	31,1 (5,5)	32,8 (4,5)	32,3 (5,7)	32,5 (5,9)

Tableau 5. Caractéristiques des groupes expérimentaux

Age (ans), poids (kg), taille (cm), index de masse corporelle (IMC, $kg\ m^{-2}$), fréquence cardiaque ambulatoire (FC, bpm), pression artérielle systolique ambulatoire (PAS, mmHg), pression artérielle diastolique ambulatoire (PAD, mmHg), cortisol urinaire (nMol/nuit), Comparaisons entre placebo et ING911 par test t, t $p<0,10$, * $p<0,05$, ** $p<0,01$,*** $p<0,001$

Performances réalisées au test de Stroop

Pour les 4 journées expérimentales, aucune différence significative du nombre de réponses n'est notée entre les groupes nutriment chez les hommes et chez les femmes, au cours des 5 minutes d'exposition au stresseur. La performance augmente significativement ($p<0.001$) avec la répétition des expositions. Il n'a pas été mis en évidence de différence entre les groupes nutriments concernant l'amélioration de la performance.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0	275 (45)	270 (37)	288 (47)	256 (40)	261 (41)	284 (29)
J11	316 (46)	306 (43)	319 (41)	296 (44)	314 (54)	316 (41)
J31	338 (44)	331 (45)	345 (38)	322 (59)	329 (51)	340 (26)
J43	354 (45)	345 (46)	355 (41)	329 (55)	351 (50)	360 (33)

Tableau 6. Score total au test de Stroop

Durée du test : 5 minutes. Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t.

Réactions cardio-vasculaires

Réactions cardio-vasculaires au cours de J0

L'exposition au test de Stroop a entraîné une modification significative des paramètres cardiovasculaires ($p<0,001$).

A J0, la fréquence cardiaque (FC) ambulatoire et la variation sous stress de la FC ne sont pas différentes entre groupes nutriments dans la population générale ni dans le sous-groupe femmes mais elles sont plus élevées chez les hommes ING911 que chez les hommes placebo (Tableau 7).

Les pressions artérielles systolique (PAS) et diastolique (PAD) ambulatoires et les variations de PAS et PAD sous stress ne sont pas différentes entre groupes nutriments dans la population générale ni dans les sous-groupes femmes et hommes (Tableau 9 et Tableau 11).

Fréquence cardiaque

L'analyse par ANCOVA à mesures répétées ne montre pas, dans la population globale, d'effet nutriment sur la FC ambulatoire, ni sur la variation sous stress de la FC, à J11 et J31, (Tableau 8, Figure 1 et Figure 2). La prise en compte du facteur sexe ne modifie pas ce résultat.

A J43, il n'y a pas de différence significative entre nutriments, dans la population globale, concernant la FC de repos ni la variation de la FC sous stress.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Ambulatoire (bpm)	64,7 (12,3)	67,0 (11,7)	71,2 (13,1)	67,3 (14,5)	57,7 (6,4)	66,6 (9,3)*
Repos (bpm)	64,3 (8,6)	69,2 (12,4)	68,9 (7,6)	68,2 (13,4)	58,4 (5,8)	70,1 (11,7)**
Stress (bpm)	73,7 (9,6)	82,1 (14,7)*	78,7 (7,8)	79,4 (14,3)	67,7 (8,3)	84,4 (15,2)**
Variation (bpm)	*11,5 (6,9)*	*15,8 (11,8)*	*13,2 (6,6)*	*13,1 (12,4)*	*9,6 (7,0)*	*18,1 (11,2)**
Récupération (bpm)	62,6 (7,1)	66,6 (12,3)	66,2 (6,9)	66,8 (15,5)	58,1 (4,1)	66,3 (9,0)**
J11						
Ambulatoire (bpm)	64,5 (7,4)	67,1 (10,8)	66,9 (6,3)	69,8 (13,6)	61,5 (7,9)	64,7 (7,1)
Repos (bpm)	65,5 (6,3)	66,5 (10,5)	67,7 (6,0)	68,1 (12,5)	62,7 (5,7)	65,0 (8,5)
Stress (bpm)	76,9 (13,3)	82,9 (11,2)	79,2 (9,2)	81,1 (9,6)	74,0 (17,3)	84,6 (12,7)
Variation (bpm)	*13,4 (12,4)*	*17,2 (9,2)*	*14,2 (7,5)*	*14,9 (8,3)*	*12,5 (17,2)*	*19,4 (9,7)*
Récupération (bpm)	63,5 (6,9)	65,7 (9,3)	65,1 (6,5)	66,2 (12,5)	61,5 (7,1)	65,2 (5,3)
J31						
Ambulatoire (bpm)	63,6 (5,8)	66,5 (10,0)	65,7 (5,8)	65,8 (12,1)	61,0 (4,8)	67,2 (7,9)
Repos (bpm)	64,8 (6,4)	66,1 (10,8)	67,0 (6,5)	66,0 (13,4)	62,0 (5,1)	66,1 (8,2)
Stress (bpm)	77,6 (12,7)	81,6 (14,0)	79,7 (11,9)	78,3 (11,9)	74,8 (13,7)	84,6 (15,5)
Variation (bpm)	*13,7 (12,0)*	*16,1 (9,8)*	*15,0 (9,3)*	*13,8 (8,4)*	*12,1 (15,0)*	*18,2 (10,8)*
Récupération (bpm)	63,8 (6,6)	65,5 (9,9)	64,7 (6,2)	64,5 (10,9)	62,7 (7,2)	66,4 (9,3)
J43						
Ambulatoire (bpm)	63,5 (7,7)	67,5 (9,8)	63,4 (7,1)	67,7 (12,4)	63,6 (8,7)	67,3 (7,2)
Repos (bpm)	64,8 (7,5)	68,3 (9,5)	65,8 (6,9)	67,5 (10,8)	63,5 (8,3)	69,1 (8,5)
Stress (bpm)	74,6 (9,2)	82,5 (10,5)	77,0 (8,8)	79,3 (10,1)	71,6 (9,2)	85,4 (10,3)
Variation (bpm)	*10,9 (7,6)*	*14,6 (9,9)*	*12,4 (5,2)*	*13,7 (9,9)*	*8,9 (9,7)*	*15,4 (10,2)*
Récupération (bpm)	63,7 (6,6)	67,9 (10,6)	64,6 (6,2)	65,5 (12,1)	62,6 (7,1)	70,0 (9,0)

Tableau 7. Fréquence cardiaque

Valeurs absolues en bpm, et *variation par rapport à la valeur de référence en fin de relaxation finale*. Moyenne (DS).

Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t,

t : p<0,10 ; * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
FC ambulatoire	ANCOVA 1	0,181		0,566		0,972
	ANCOVA 2	0,193	0,765	0,456	0,123	0,916
Variation de la FC	ANCOVA 1	0,516		0,456		0,557
	ANCOVA 2	0,539	0,656	0,455	0,834	0,560

Tableau 8. Fréquence cardiaque

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

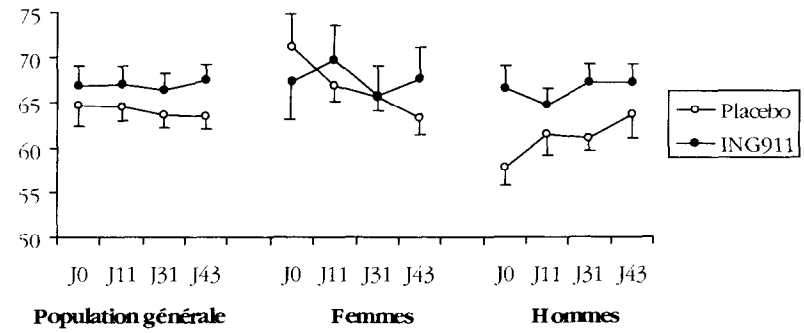


Figure 1. Fréquence cardiaque ambulatoire (bpm)

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

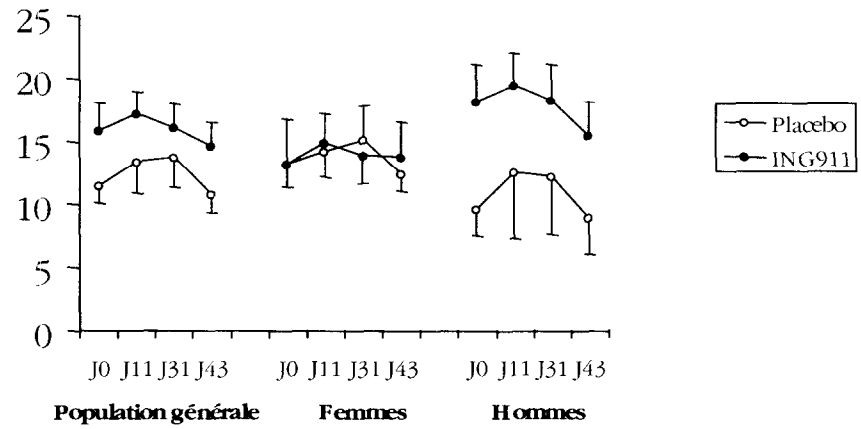


Figure 2. Réactivité au stress de la FC en valeur absolue

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Pression artérielle systolique

Il n'apparaît pas d'effet nutriment sur la PAS ambulatoire (Tableau 10 et Figure 3). Il existe un effet sexe attendu (la PAS ambulatoire est plus élevée chez les hommes que chez les femmes) ainsi qu'une interaction significative nutriment * sexe, mais le test de Tuckey ne montre pas d'effet nutriment dans les sous-groupes hommes (p= 0,99) et femmes (p= 0,83).

La réactivité de la PAS tend à diminuer à J11 et J31 dans le groupe ING911 comparativement au groupe Placebo (Tableau 10 et Figure 4). Cette tendance persiste après ajustement sur le sexe, sans interaction nutriment * sexe.

A J43, il n'y a pas de différence significative entre groupes nutriment concernant la PAS de repos ni la variation sous stress de la PAS dans la population globale.

	Groupe Placebo	GROUPE ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Ambulatoire (mmHg)	118,5 (11,6)	119,4 (15,5)	114,1 (10,4)	108,6 (8,8)	123,3 (11,3)	128,6 (14,1)
Repos (mmHg))	111,2 (10,6)	114,4 (12,9)	108,0 (10,3)	105,4 (8,7)	115,2 (10,0)	122,8 (10,2)
Stress (mmHg)	129,3 (13,4)	134,3 (18,4)	125,7 (12,3)	121,6 (15,0)	133,6 (13,9)	146,1 (12,7)*
Variation (mmHg)	*19,0 (9,2)*	*20,0 (11,2)*	*19,1 (9,9)*	*15,7 (11,9)*	*18,9 (8,8)*	*24,1 (9,2)*
Récupération (mmHg)	111,2 (9,7)	114,3 (12,8)	108,4 (10,4)	105,9 (9,6)	114,7 (7,7)	122,1 (10,5)
J11						
Ambulatoire (mmHg)	112,7 (12,4)	115,3 (12,5)	105,8 (11,2)	110,6 (11,7)	121,5 (7,2)	119,6 (11,9)
Repos (mmHg))	107,6 (11,1)	110,4 (9,2)	100,4 (7,2)	105,5 (7,2)	116,9 (7,7)	114,9 (8,7)
Stress (mmHg)	126,7 (15,7)	129,2 (15,9)	120,8 (14,3)	118,9 (13,2)	134,2 (14,6)	138,8 (11,7)
Variation (mmHg)	*17,1 (12,4)*	*15,2 (11,4)*	*18,0 (12,7)*	*11,9 (11,6)*	*16,0 (12,5)*	*18,3 (10,7)*
Récupération (mmHg)	109,6 (10,4)	114,0 (11,4)	102,8 (6,6)	107,0 (9,4)	118,2 (7,4)	120,5 (9,3)
J31						
Ambulatoire (mmHg)	114,0 (13,6)	113,5 (12,4)	107,3 (11,9)	106,8 (11,5)	122,5 (10,9)	119,7 (9,9)
Repos (mmHg))	108,6 (12,3)	108,2 (9,5)	100,6 (6,9)	102,1 (7,7)	118,7 (10,0)	113,9 (7,2)
Stress (mmHg)	127,1 (15,7)	124,6 (15,7)	120,3 (13,6)	114,7 (12,8)	135,7 (14,5)	133,8 (12,4)
Variation (mmHg)	*17,9 (9,8)*	*12,3 (11,2)*	*19,1 (10,1)*	*9,5 (8,3)*	*16,4 (9,6)*	*15,0 (13,1)*
Récupération (mmHg)	109,2 (12,1)	112,3 (12,6)	101,2 (6,0)	105,2 (11,6)	119,3 (10,1)	118,9 (9,8)
J43						
Ambulatoire (mmHg)	110,8 (14,2)	112,8 (14,0)	102,8 (9,8)	104,0 (10,5)	121,0 (12,3)	120,9 (11,8)
Repos (mmHg))	107,9 (14,8)	110,2 (12,6)	98,1 (8,1)	102,2 (8,1)	120,3 (11,7)	117,7 (11,6)
Stress (mmHg)	124,3 (13,9)	125,6 (18,3)	117,4 (10,5)	114,2 (14,7)	133,1 (12,9)	136,3 (14,6)
Variation (mmHg)	*13,8 (10,4)*	*13,5 (10,5)*	*15,1 (10,4)*	*9,9 (10,9)*	*12,0 (10,7)*	*16,9 (9,3)*
Récupération (mmHg)	110,5 (13,2)	112,1 (13,5)	102,2 (6,4)	104,2 (10,2)	121,1 (12,0)	119,4 (12,2)

Tableau 9. Pression artérielle systolique

Valeurs absolues en mmHg, et *variation par rapport à la valeur de référence en fin de relaxation finale*. Moyenne (DS).

Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t,

t : p<0,10 , * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
PAS ambulatoire	ANCOVA 1	0,690		0,754		0,096
	ANCOVA 2	0,585	0,015 *	0,820	0,041*	0,091
Variation de la PAS	ANCOVA 1	0,081 t		0,568		0,216
	ANCOVA 2	0,091 t	0,997	0,570	0,627	0,233

Tableau 10. Pression artérielle systolique

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

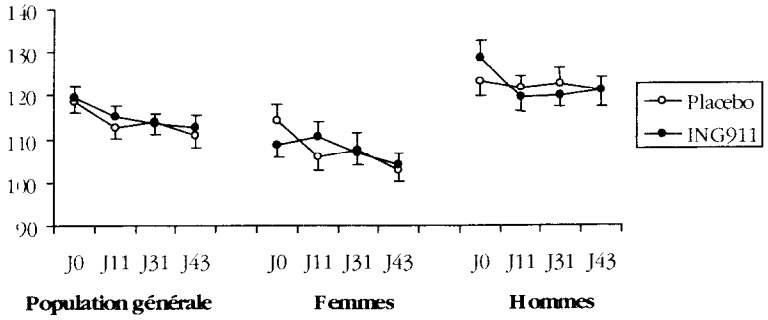


Figure 3 PAS ambulatoire

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

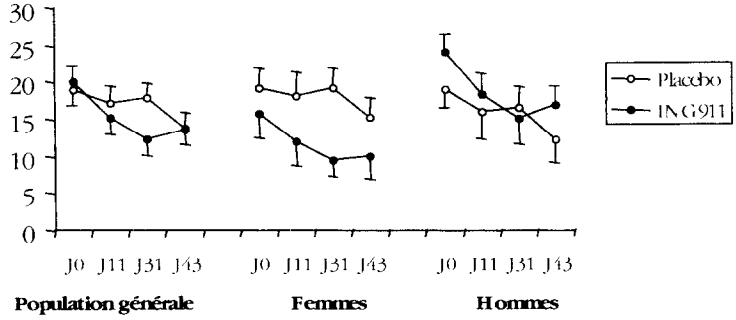


Figure 4 Réactivité au stress de la PAS en valeur absolue

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Pression artérielle diastolique

Il n'apparaît pas d'effet nutriment sur la PAD ambulatoire (Tableau 12 et Figure 5). Il existe un effet sexe attendu (la PAD ambulatoire est plus élevée chez les hommes que chez les femmes) sans interaction nutriment * sexe.

Il existe un effet nutriment significatif sur la réactivité de la PAD qui est diminuée à J11 et J31 dans le groupe ING911 comparativement au groupe Placebo (Tableau 12 et Figure 6) Il persiste une tendance après ajustement sur le sexe, sans interaction nutriment * sexe.

A J43, il n'y a pas de différence entre nutriments concernant la PAD de repos ni la variation sous stress de la PAD.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Ambulatoire (mmHg)	71,5 (6,5)	73,4 (7,0)	71,3 (5,3)	71,5 (7,1)	71,8 (7,9)	75,0 (6,8)
Repos (mmHg))	68,4 (6,6)	70,1 (6,3)	69,4 (6,2)	67,8 (5,0)	67,3 (7,2)	72,2 (6,8)
Stress (mmHg)	78,9 (7,5)	82,0 (8,2)	79,3 (8,4)	79,3 (9,1)	78,3 (6,7)	84,2 (6,8)*
Variation (mmHg)	*8,9 (5,9)*	*10,4 (6,7)*	*10,1 (5,7)*	*10,5 (8,3)*	*7,4 (6,1)*	*10,4 (5,3)*
Récupération (mmHg)	69,8 (6,4)	71,4 (6,2)	68,9 (6,5)	68,8 (4,9)	70,9 (6,3)	73,9 (6,4)
J11						
Ambulatoire (mmHg)	67,8 (4,6)	69,6 (7,1)	67,1 (4,3)	69,5 (6,1)	68,6 (5,1)	69,6 (8,2)
Repos (mmHg))	66,4 (5,4)	68,3 (5,7)	65,7 (6,1)	67,4 (5,9)	67,4 (4,5)	69,1 (5,6)
Stress (mmHg)	77,3 (6,0)	78,3 (7,2)	77,6 (7,0)	76,1 (7,5)	76,9 (4,7)	80,4 (6,4)
Variation (mmHg)	*10,8 (3,9)*	*8,5 (5,4)*	*11,5 (4,8)*	*8,6 (6,1)*	*9,8 (2,1)*	*8,5 (4,8)*
Récupération (mmHg)	66,5 (5,8)	69,8 (6,8)	66,1 (6,4)	67,5 (7,1)	67,1 (5,3)	71,9 (5,9)
J31						
Ambulatoire (mmHg)	66,8 (6,3)	66,5 (6,5)	68,9 (6,5)	64,8 (7,7)	64,3 (5,3)	68,1 (5,0)
Repos (mmHg))	65,4 (3,9)	66,3 (6,3)	64,9 (4,3)	64,2 (6,6)	66,1 (3,5)	68,3 (5,4)
Stress (mmHg)	77,3 (7,2)	76,8 (6,4)	77,4 (8,3)	73,9 (6,3)	77,1 (5,8)	79,4 (5,3)
Variation (mmHg)	*11,3 (5,6)*	*9,8 (5,3)*	*11,5 (6,0)*	*9,1 (4,5)*	*11,2 (5,3)*	*10,5 (6,0)*
Récupération (mmHg)	65,9 (4,6)	66,9 (5,4)	65,9 (4,6)	64,8 (5,4)	65,9 (4,9)	68,9 (4,7)
J43						
Ambulatoire (mmHg)	66,1 (6,5)	67,9 (8,2)	65,7 (6,3)	65,3 (7,8)	66,5 (6,9)	70,3 (8,1)
Repos (mmHg))	64,7 (5,0)	68,0 (7,0)	64,9 (3,7)	65,8 (5,5)	64,5 (6,5)	70,0 (7,9)
Stress (mmHg)	76,1 (6,8)	77,0 (7,5)	76,5 (7,8)	74,4 (8,0)	75,5 (5,7)	79,4 (6,3)
Variation (mmHg)	*10,3 (6,6)*	*8,2 (6,1)*	*11,1 (7,8)*	*7,1 (8,2)*	*9,4 (4,9)*	*9,4 (3,3)*
Récupération (mmHg)	65,7 (6,1)	68,7 (6,7)	65,4 (5,8)	67,4 (6,2)	66,1 (6,7)	70,0 (7,2)

Tableau 11. Pression artérielle diastolique

Valeurs absolues en mmHg, et *variation par rapport à la valeur de référence en fin de relaxation finale*. Moyenne (DS).

Comparaisons entre placebo et ING911 à J_0 par test t,

t : p<0,10 ; * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
PAD ambulatoire	ANCOVA 1	0,910		0,043*		0,290
	ANCOVA 2	0,584	0,024*	0,449	0,266	0,584
Variation de la PAD	ANCOVA 1	0,049 *		0,296		0,775
	ANCOVA 2	0,057 t	0,940	0,308	0,600	0,815

Tableau 12. Pression artérielle diastolique

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

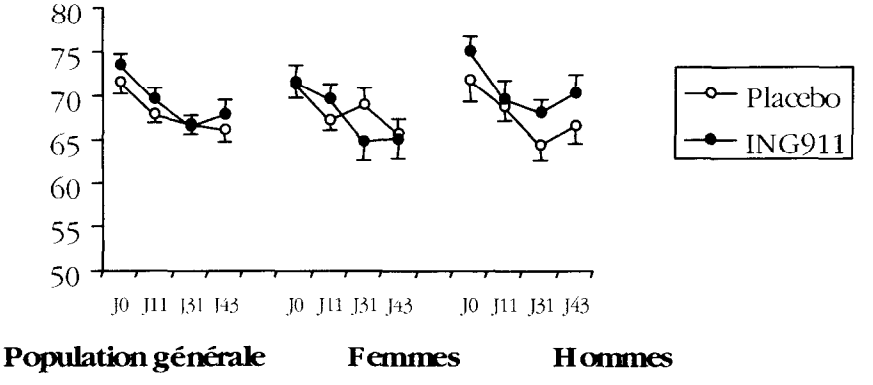


Figure 5. PAD ambulatoire (*mm Hg*)

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

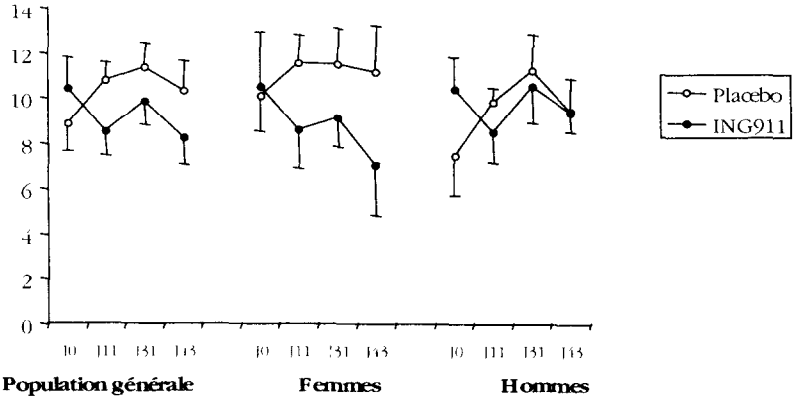


Figure 6 Réactivité au stress de la PAD en valeur absolue

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Pression artérielle moyenne

Il n'apparaît pas d'effet nutriment, dans la population globale, concernant la PAM ambulatoire.

Il existe un effet nutriment significatif sur la réactivité de la PAM qui est diminuée à J11 et J31 dans le groupe ING911 comparativement au groupe Placebo (Tableau 13, Figure 7). Cet effet persiste après ajustement sur le sexe, sans interaction nutriment * sexe.

A J43, il n'y a pas de différence significative entre nutriments concernant la PAM de repos ni la variation sous stress de la PAM.

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
PAM ambulatoire	ANCOVA 1	0,724		0,201		0,145
	ANCOVA 2	0,696	0,117	0,143	0,517	0,127
Variation de la PAM	ANCOVA 1	0,028 *		0,702		0,623
	ANCOVA 2	0, 030 *	0,724	0,715	0,540	0,617

Tableau 13. Pression artérielle moyenne

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

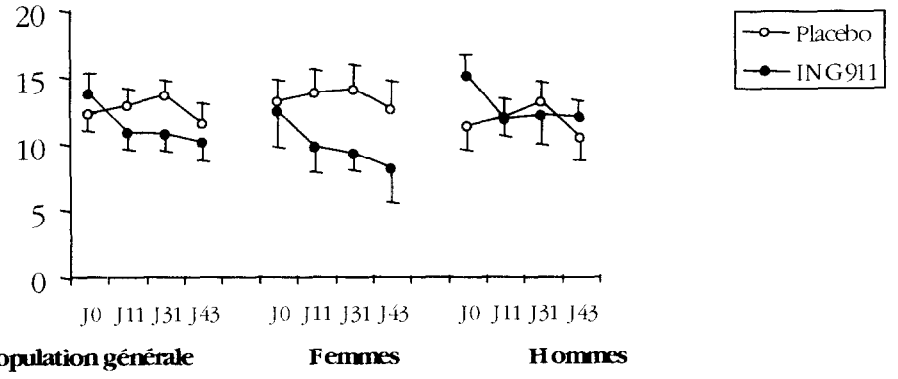


Figure 7 Réactivité au stress de la PAM en valeur absolue

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Réactions endocriniennes

Etude de l'excrétion urinaire de cortisol

A J0, les sujets ING911 dans la population générale et dans le sous-groupe des femmes présentent une excrétion urinaire nocturne totale de cortisol supérieure à celle des témoins. Chez les hommes il n'y a pas de différence entre nutriments à J0.

A J11 et J31, il n'apparaît pas d'effet nutriment sur le cortisol urinaire dans la population générale (Tableau 15). Il n'y a pas d'effet nutriment sur le cortisol urinaire à J43.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0	32,1 (22,3)	46,5 (22,9)*	22,6 (10,0)	39,6 (24,4)*	44,2 (28,0)	53,0 (20,2)
J11	31,3 (18,3)	42,0 (21,8)	23,6 (9,7)	38,3 (16,5)	42,0 (22,3)	45,7 (26,1)
J31	29,5 (21,8)	47,0 (35,4)	17,7 (7,9)	31,8 (18,2)	43,3 (25,1)	61,1 (41,8)
J43	25,4 (19,6)	40,0 (27,6)	16,6 (10,2)	35,6 (28,2)	36,5 (23,4)	44,0 (27,5)

Tableau 14 Cortisol urinaire

Valeurs absolues en nmol/nuit Moyenne (déviation standard)

Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t, * p<0,05

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
Cortisol urinaire	ANCOVA 1	0,361		0,713		0,474
	ANCOVA 2	0,309	0,058 t	0,618	0,910	0,519

Tableau 15. Cortisol urinaire

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant

ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment

ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe

1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe

1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

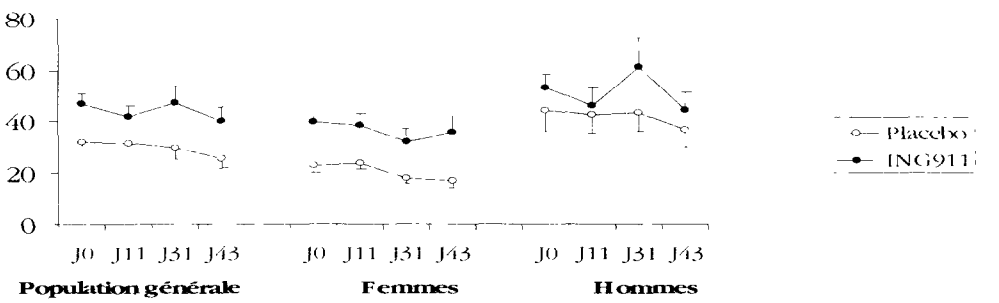


Figure 8. Cortisol urinaire

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Etude de l'excrétion salivaire de cortisol

A J0, le cortisol salivaire de stress est plus élevée chez les sujets ING911 que chez les sujets placebo.

A J0, l'exposition au stresseur n'entraîne pas d'activation corticosurrénalienne dans la population générale ni dans les sous-groupes femmes et hommes.

Il n'y a pas d'effet nutriment sur le cortisol salivaire de base (Tableau 17)

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Repos	4,7 (2,7)	6,1 (3,3)	5,3 (3,2)	7,0 (3,8)	3,8 (1,6)	5,2 (2,4)
Stress	4,4 (2,1)	6,5 (3,1)**	5,0 (2,5)	6,7 (3,5)	3,6 (1,3)	6,3 (2,8)**
Variation	*-0,3 (1,3)*	*0,3 (1,6)*	*-0,3 (1,2)*	*-0,4 (1,2)*	*-0,4 (1,5)*	*0,9 (1,7)*
J11						
Repos	5,5 (3,3)	6,8 (3,2)	6,5 (4,0)	8,2 (3,4)	4,2 (1,5)	5,4 (2,3)
Stress	5,0 (3,2)	5,5 (2,5)	6,0 (3,7)	6,6 (2,7)	3,7 (1,9)	4,4 (1,6)
Variation	*-0,5 (1,0)*	*-1,2 (1,2)*	*-0,5 (0,9)*	*-1,5 (1,0)*	*-0,4 (1,1)*	*-0,8 (1,3)*
J31						
Repos	6,0 (3,9)	6,4 (3,3)	7,0 (4,6)	7,6 (3,7)	4,6 (2,4)	5,3 (2,6)
Stress	5,2 (3,1)	6,0 (2,9)	6,4 (3,5)	7,1 (3,5)	3,8 (1,8)	5,0 (1,9)
Variation	*-0,7 (1,4)*	*-0,4 (1,4)*	*-0,6 (1,7)*	*-0,5 (1,1)*	*-0,9 (0,9)*	*-0,3 (1,6)*
J43						
Repos	5,8 (3,4)	6,8 (3,7)	6,7 (3,6)	8,1 (4,0)	4,6 (3,0)	5,5 (3,1)
Stress	5,2 (3,0)	6,1 (3,4)	5,6 (2,9)	7,1 (3,8)	4,5 (3,1)	5,1 (2,8)
Variation	*-0,9 (1,2)*	*-0,8 (1,2)*	*-1,1 (1,5)*	*-1,0 (1,0)*	*-0,6 (0,6)*	*-0,5 (1,4)*

Tableau 16. Cortisol salivaire

Valeurs absolues en nmol/l, et *variation par rapport à la valeur de référence en fin de relaxation finale*. Moyenne (DS).

Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t,

t : p<0,10 ; * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
Cortisol salivaire de repos	ANCOVA 1	0,821	[illegible]	0,703	[illegible]	0,270
	ANCOVA 2	0,945	0,058	0,718	0,971	0,286

Tableau 17. Cortisol salivaire

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

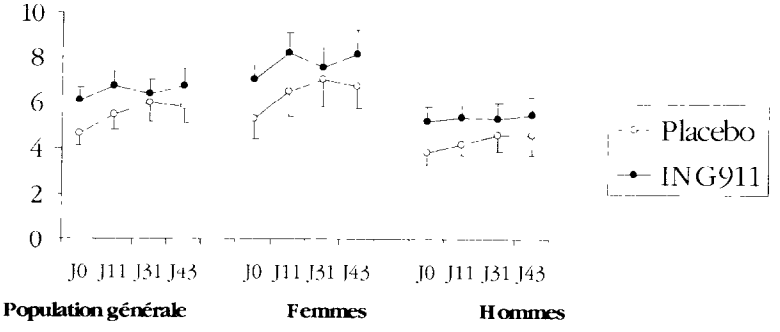


Figure 9. Cortisol salivaire de repos

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, ● ING911, ○ Placebo

Réactions psychologiques

Questionnaire de coping de Vitaliano

Au cours des différent tests, le taux de réponses manquantes a été inférieur à 0,5%. Les stratégies de coping ne diffèrent pas à J0 et n'évoluent pas différemment au cours de l'étude entre les groupes nutriment.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
Axe 1. Résolution du problème						
J0	24,9 (3,3)	24,5 (3,9)	25,6 (3,0)	25,4 (3,6)	24,0 (3,7)	23,6 (4,2)
J11	24,0 (3,9)	23,1 (3,4)	24,5 (3,6)	23,6 (2,6)	23,3 (4,3)	22,6 (4,0)
J31	24,0 (4,0)	23,7 (3,2)	24,6 (3,6)	24,6 (2,2)	23,2 (4,4)	22,9 (3,8)
J43	23,4 (3,7)	22,7 (4,2)	24,4 (2,5)	23,7 (3,0)	22,2 (4,7)	21,7 (5,0)
Axe 2. Evitement avec pensée positive						
J0	14,9 (4,5)	14,9 (4,7)	13,9 (4,5)	16,5 (5,2)	16,2 (4,5)	13,4 (3,8)
J11	14,3 (4,4)	13,8 (4,4)	13,3 (4,6)	14,3 (4,6)	15,5 (4,0)	13,3 (4,4)
J31	13,3 (5,0)	13,9 (5,1)	12,1 (3,7)	14,6 (4,4)	14,8 (6,1)	13,2 (5,8)
J43	13,2 (5,6)	13,9 (5,6)	12,9 (5,0)	16,3 (5,4)	13,6 (6,4)	11,7 (5,1)
Axe 3. Recherche du soutien social						
J0	14,5 (3,4)	15,6 (3,2)	15,6 (3,5)	16,3 (2,9)	13,1 (2,8)	14,9 (3,3)
J11	14,4 (3,9)	14,0 (3,6)	16,1 (3,5)	15,7 (2,6)	12,2 (3,4)	12,4 (3,7)
J31	14,0 (3,3)	15,0 (3,6)	14,8 (3,0)	16,1 (2,8)	12,9 (3,5)	13,9 (4,0)
J43	13,2 (3,5)	13,9 (3,6)	13,7 (3,7)	14,8 (3,4)	12,5 (3,2)	13,0 (3,7)
Axe 4. Réévaluation positive						
J0	14,9 (2,4)	15,1 (1,8)	14,6 (2,7)	15,2 (1,9)	15,3 (2,1)	15,0 (1,8)
J11	14,7 (1,2)	14,8 (1,8)	14,6 (1,1)	14,8 (1,8)	14,9 (1,4)	14,8 (1,8)
J31	14,5 (2,3)	15,1 (2,4)	14,7 (2,2)	15,7 (1,8)	14,2 (2,5)	14,6 (2,7)
J43	14,3 (2,5)	14,7 (2,7)	14,9 (2,3)	15,5 (2,3)	13,5 (2,7)	14,1 (3,0)
Axe 5. Auto-accusation						
J0	9,0 (2,7)	9,0 (3,2)	8,9 (3,0)	8,9 (3,6)	9,2 (2,4)	9,1 (2,9)
J11	8,9 (3,0)	8,9 (2,9)	8,5 (2,5)	9,2 (3,1)	9,5 (3,6)	8,6 (2,8)
J31	8,0 (3,1)	8,2 (3,4)	7,3 (2,1)	8,8 (3,2)	9,0 (3,9)	7,6 (3,6)
J43	8,6 (2,9)	7,9 (3,3)	8,4 (2,8)	8,6 (3,5)	8,8 (3,3)	7,3 (3,0)

Tableau 18. Test de Vitaliano
Moyenne (DS). Comparaisons à J0 par test t.

Questionnaire de stress perçu de Cohen

Le nombre de réponses manquantes a été inférieur à 0,1%. Ces valeurs manquantes ont été remplacées par la moyenne des réponses du sujet. Aucune différence de perception du stress quotidien n'est observée à J0 entre les groupes nutriments, en population générale, chez les hommes et chez les femmes. Aucun effet nutriment significatif n'est observé à J11 et J31 (Figure 10).

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0	31,6 (5,5)	32,6 (5,2)	31,1 (5,5)	32,8 (4,5)	32,3 (5,7)	32,5 (5,9)
J11	32,5 (7,2)	33,4 (7,4)	32,9 (7,4)	34,9 (7,2)	32,0 (7,2)	32,1 (7,5)
J31	31,5 (8,0)	34,7 (7,6)	31,4 (6,9)	35,3 (7,3)	31,7 (9,6)	34,2 (8,2)
J43	30,4 (8,9)	33,0 (8,2)	29,9 (9,5)	35,3 (6,7)	30,9 (8,4)	31,1 (9,1)

Tableau 19. Test de stress perçu de Cohen

Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t.

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
Cohen	ANCOVA 1	0,402		0,872		0,224
	ANCOVA 2	0,363	0,256	0,856	0,906	0,256

Tableau 20. Test de stress perçu de Cohen

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

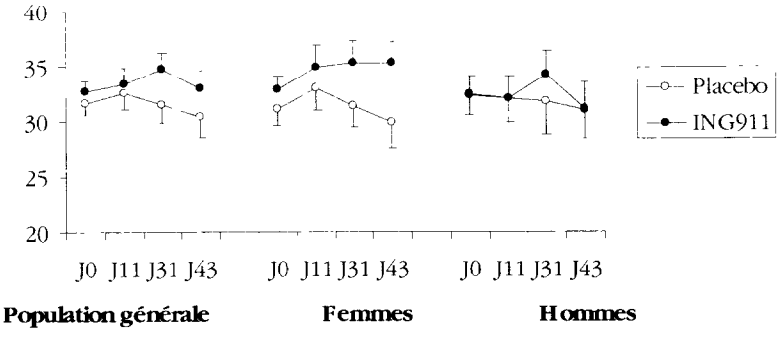


Figure 10. Score du test de Cohen

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, ● ING911, ○ Placebo

Questionnaire d'anxiété-trait de Spielberger

Le nombre de réponse manquantes a été inférieur à 0,4 %. Ces valeurs manquantes ont été remplacées par la moyenne des réponses du sujet. Aucune différence de score d'anxiété-trait n'est observée à J0 entre les groupes nutriments, en population générale, chez les hommes et chez les femmes. Aucun effet nutriment significatif n'est observé à J11 et J31 (Figure 11).

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0	35,9 (8,9)	38,6 (9,7)	35,0 (8,3)	40,3 (10,1)	37,1 (9,9)	37,1 (9,4)
J11	36,1 (8,2)	35,2 (10,4)	34,6 (5,9)	38,3 (9,8)	38,0 (10,5)	32,4 (10,5)
J31	33,6 (7,9)	35,8 (10,6)	33,4 (5,7)	37,2 (9,0)	33,9 (10,3)	34,5 (12,1)
J43	34,6 (9,3)	36,9 (10,9)	34,4 (9,4)	38,2 (10,3)	34,8 (9,7)	35,5 (11,8)

Tableau 21. Test d'anxiété-trait de Spielberger

Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t.

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
STAI trait	ANCOVA 1	0,386		0,346		0,133
	ANCOVA 2	0,407	0,620	0,294	0,427	0,121

Tableau 22. Test d'anxiété-trait de Spielberger

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

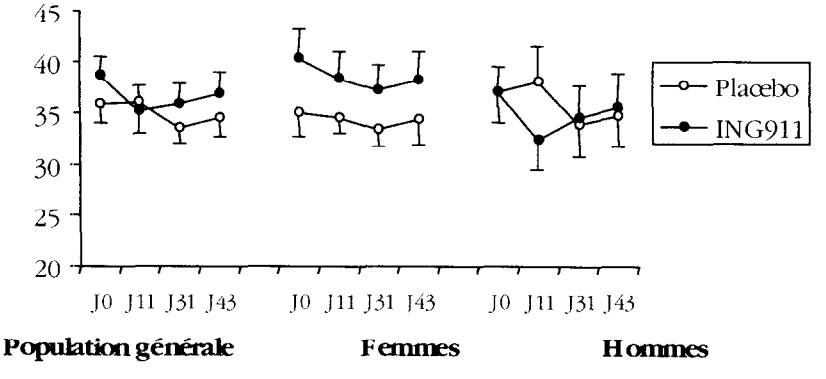


Figure 11. Score du STAI- trait

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, ● ING911, ○ Placebo

Questionnaire d'anxiété-état de Spielberger

A J0, on n'observe pas de différence entre les groupes nutriments concernant l'état d'anxiété à la fin de la période de repos. Le stresseur entraîne une augmentation significative du niveau d'anxiété exprimé dans tous les groupes ($p<0,0001$). Cette activation ne diffère pas entre les groupes nutriments en population générale ni dans les sous-groupes femmes et hommes.

L'analyse globale ne montre pas d'effet nutriment à J11 et J31 comparativement à J0 dans la population générale.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Repos	29,1 (5,3)	29,0 (4,6)	29,8 (5,8)	28,9 (4,3)	28,4 (4,9)	29,1 (5,0)
Stress	38,0 (7,5)	35,0 (9,3)	37,0 (6,2)	36,5 (9,3)	39,3 (9,0)	33,4 (9,5)
Récupération	30,0 (7,7)	30,6 (8,2)	28,8 (4,3)	32,9 (9,4)	31,5 (10,5)	28,6 (6,8)
J11						
Repos	28,5 (3,8)	28,3 (6,6)	27,9 (4,3)	29,1 (6,9)	29,4 (3,0)	27,6 (6,5)
Stress	35,0 (6,4)	36,9 (10,4)	33,6 (7,5)	40,0 (11,1)	36,5 (4,8)	33,9 (9,1)
Récupération	28,1 (4,3)	29,2 (8,7)	27,9 (5,2)	31,6 (9,7)	28,3 (3,0)	27,2 (7,5)
J31						
Repos	27,8 (6,0)	28,4 (7,0)	26,9 (5,6)	29,2 (6,2)	28,8 (6,7)	27,6 (7,8)
Stress	34,8 (7,4)	34,6 (8,4)	35,1 (6,2)	35,3 (7,4)	34,4 (9,0)	33,9 (9,7)
Récupération	28,8 (6,7)	29,6 (7,3)	30,0 (7,1)	31,0 (7,9)	27,2 (6,0)	28,3 (6,9)
J43						
Repos	27,2 (6,0)	29,2 (8,1)	26,8 (5,5)	30,3 (6,8)	27,7 (6,9)	28,1 (9,4)
Stress	35,0 (7,5)	36,1 (10,6)	34,9 (7,5)	37,3 (8,6)	35,2 (7,9)	35,0 (12,3)
Récupération	28,6 (5,4)	28,9 (7,7)	28,3 (4,9)	29,4 (7,6)	28,9 (6,3)	28,4 (8,0)

Tableau 23. Test d'anxiété-état de Spielberger
Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t

Questionnaire d'activation/désactivation de Thayer

Etude de l'axe de tension activation (TA)

A J0, on n'observe pas de différence entre les groupes nutriments concernant l'état de tension à la fin de la période de relaxation initiale. Le stresseur entraîne une augmentation significative du niveau de tension dans tous les groupes ($p<0,0001$). Cette activation ne diffère pas entre les groupes nutriments en population générale ni dans les sous-groupes hommes et femmes.

L'analyse globale ne montre pas d'effet nutriment à J11 et J31 comparativement à J0 dans la population générale.

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Repos	0,40 (0,16)	0,36 (0,09)	0,43 (0,20)	0,35 (0,06)	0,37 (0,11)	0,37 (0,11)
Stress	1,08 (0,68)	0,94 (0,70)	1,16 (0,69)	0,91 (0,64)	0,98 (0,70)	0,97 (0,78)
Récupération	0,44 (0,26)	0,43 (0,26)	0,41 (0,16)	0,46 (0,34)	0,48 (0,35)	0,40 (0,19)
J11						
Repos	0,36 (0,10)	0,37 (0,13)	0,36 (0,10)	0,36 (0,12)	0,35 (0,10)	0,37 (0,14)
Stress	0,82 (0,63)	1,01 (0,79)	0,94 (0,79)	1,06 (0,77)	0,67 (0,32)	0,96 (0,83)
Récupération	0,42 (0,34)	0,47 (0,38)	0,47 (0,44)	0,51 (0,51)	0,34 (0,06)	0,43 (0,24)
J31						
Repos	0,38 (0,14)	0,41 (0,20)	0,39 (0,16)	0,45 (0,25)	0,37 (0,11)	0,38 (0,14)
Stress	0,90 (0,61)	0,96 (0,72)	0,99 (0,71)	0,90 (0,64)	0,78 (0,45)	1,02 (0,81)
Récupération	0,39 (0,11)	0,42 (0,33)	0,40 (0,11)	0,48 (0,47)	0,37 (0,12)	0,37 (0,10)
J43						
Repos	0,36 (0,08)	0,50 (0,53)	0,36 (0,07)	0,38 (0,14)	0,36 (0,10)	0,62 (0,72)
Stress	0,76 (0,66)	0,91 (0,65)	0,88 (0,85)	0,80 (0,58)	0,61 (0,25)	1,02 (0,70)
Récupération	0,37 (0,10)	0,41 (0,22)	0,37 (0,10)	0,42 (0,28)	0,38 (0,10)	0,39 (0,15)

Tableau 24. Axe de tension-activation (TA) du test de Thayer
Moyenne (DS).Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t.

Etude de l'axe d'activation énergétique (EA)

A J0, on n'observe pas de différence entre les groupes nutriments concernant l'état d'énergie exprimé à la fin de la période de relaxation initiale. Le stresseur entraîne une augmentation significative du niveau d'énergie exprimé dans tous les groupes ($p<0,0001$). Cette activation ne diffère pas entre les groupes nutriments en population générale ni dans les sous-groupes hommes et femmes.

L'analyse globale ne montre pas d'effet nutriment sur l'état d'énergie de base ni sur son activation due au stress à J11 et J31 comparativement à J0 dans la population générale..

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
J0						
Repos	1,2 (0,6)	1,3 (0,8)	1,2 (0,7)	1,3 (0,8)	1,1 (0,5)	1,4 (0,9)
Stress	2,0 (0,8)	2,3 (0,8)	2,1 (1,0)	2,4 (0,9)	2,0 (0,6)	2,2 (0,7)
Récupération	1,3 (0,7)	1,3 (1,0)	1,4 (0,8)	1,2 (1,0)	1,2 (0,6)	1,5 (1,1)
J11						
Repos	1,2 (0,6)	1,1 (0,8)	1,3 (0,7)	1,1 (0,8)	1,0 (0,5)	1,1 (0,8)
Stress	2,0 (0,7)	2,3 (0,9)	2,1 (0,9)	2,2 (1,0)	1,9 (0,4)	2,4 (0,8)
Récupération	1,5 (0,7)	1,5 (1,0)	1,7 (0,8)	1,2 (0,8)	1,3 (0,5)	1,7 (1,1)
J31						
Repos	1,5 (0,9)	1,4 (1,0)	1,7 (1,0)	1,2 (0,8)	1,2 (0,6)	1,6 (1,2)
Stress	2,2 (0,7)	2,2 (1,0)	2,2 (0,8)	1,8 (0,8)	2,1 (0,7)	2,5 (1,1)
Récupération	1,5 (0,8)	1,3 (1,1)	1,6 (0,9)	1,0 (0,9)	1,2 (0,6)	1,6 (1,2)
J43						
Repos	1,4 (0,9)	1,4 (1,0)	1,7 (1,1)	1,3 (1,0)	1,0 (0,5)	1,5 (1,0)
Stress	2,2 (0,9)	2,1 (0,8)	2,5 (0,9)	2,0 (0,8)	1,9 (0,7)	2,3 (0,8)
Récupération	1,7 (0,9)	1,6 (0,9)	2,0 (1,1)	1,3 (0,8)	1,3 (0,6)	1,8 (0,9)

Tableau 25. Axe de activation énergétique (EA) du test de Thayer
Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t, * : $p<0,05$

Etude du sommeil

A J0, il n'y a pas de différence significative de qualité du sommeil, de l'endormissement, ni de la forme physique et psychologique au réveil, ni les horaires de coucher et de lever entre les groupes nutriments (Tableau 27), mais le sommeil du groupe des femmes ING 911 tend à être de meilleure qualité à J0 que celui des femmes du groupe placebo.

Chez les sujets Placebo, la veille des tests, la qualité du sommeil est meilleure à J31 qu'à J0 (p=0,014). Tous les autres paramètres décrivant la qualité du sommeil, et du réveil, sont stables au cours de l'étude dans le groupe Placebo.

Dans la population générale, on n'observe un effet nutriment que sur la qualité du sommeil (axe 1/10 du questionnaire), qui reste stable dans le groupe ING911, alors qu'elle s'améliore dans le groupe Placebo (Tableau 26).

Il n'y a pas d'effet nutriment significatif sur les autres paramètres décrivant la qualité de l'endormissement, du sommeil et du réveil.

A J43, on ne retrouve plus d'effet nutriment sur la qualité du sommeil, qui décroît dans les deux groupes après arrêt de la prise du nutriment.

		1 Nutriment	2 Sexe	3 Session J11 J31	1x2	1x3
Qualité du sommeil	ANCOVA 1	0,046*		0,262		0,490
	ANCOVA 2	0,045*	0,667	0,269	0,280	0,506

Tableau 26. Qualité du sommeil

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sexe
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet sexe
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

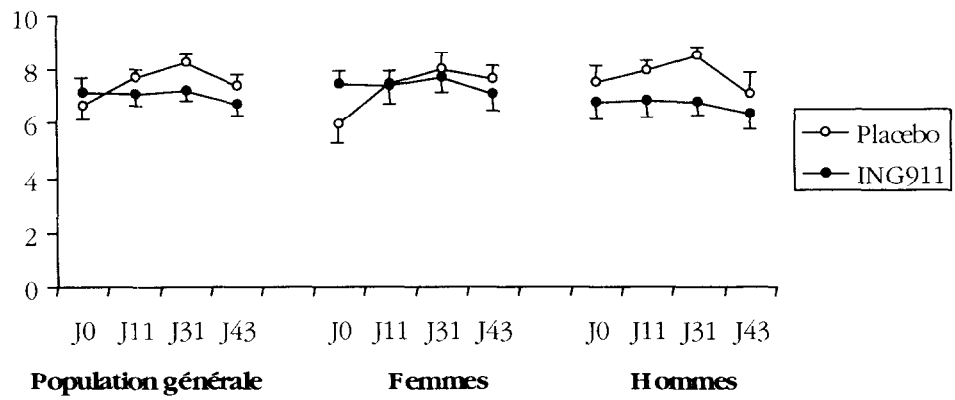


Figure 12. Qualité du sommeil (question n°1 du test de Buguet)

Moyenne ± erreur standard de la moyenne, ● ING911, ○ Placebo

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
Axe 1. Avez-vous bien dormi ?						
J0	6,6 (2,3)	7,1 (2,0)	5,9 (2,3)	7,5 (1,5) t	7,5 (2,0)	6,8 (2,4)
J11	7,7 (1,5)	7,1 (2,3)	7,5 (1,6)	7,4 (2,4)	8,0 (1,3)	6,8 (2,2)
J31	8,2 (1,8)	7,2 (1,9)	8,0 (2,2)	7,7 (1,9)	8,5 (1,1)	6,8 (1,8)
J43	7,4 (2,3)	6,7 (2,2)	7,6 (2,0)	7,1 (2,3)	7,1 (2,6)	6,3 (2,1)
Axe 2. Vous êtes-vous endormi facilement ?						
J0	7,6 (1,4)	7,7 (2,0)	7,7 (1,4)	7,7 (1,7)	7,5 (1,6)	7,7 (2,2)
J11	7,2 (2,3)	7,1 (2,5)	7,6 (1,9)	7,7 (2,3)	6,8 (2,8)	6,6 (2,7)
J31	8,0 (2,3)	7,2 (2,3)	8,3 (2,2)	7,5 (2,1)	7,7 (2,5)	6,9 (2,5)
J43	7,3 (2,6)	6,5 (2,9)	7,8 (2,0)	6,3 (3,2)	6,6 (3,2)	6,6 (2,6)
Axe 3. En combien de temps, vous êtes-vous endormi ?						
J0	14,8 (14,9)	17,4 (12,8)	14,7 (14,8)	20,2 (14,8)	14,9 (15,7)	14,7 (10,5)
J11	16,8 (19,7)	25,2 (41,5)	15,3 (15,8)	25,9 (46,6)	18,6 (24,6)	24,5 (37,8)
J31	13,2 (15,2)	24,9 (29,7)	11,1 (14,5)	19,0 (16,4)	15,9 (16,4)	30,4 (38,0)
J43	24,0 (36,5)	22,4 (21,1)	16,0 (17,3)	21,7 (20,0)	34,1 (51,0)	23,0 (22,6)
Axe 4. Combien de fois vous êtes-vous réveillé ?						
J0	1,4 (2,1)	1,0 (1,1)	1,7 (2,7)	0,7 (0,8)	1,0 (0,9)	1,2 (1,4)
J11	0,9 (1,1)	0,6 (0,8)	1,1 (1,2)	0,9 (1,0)	0,7 (0,9)	0,3 (0,5)
J31	0,6 (1,0)	0,9 (1,1)	0,9 (1,2)	0,6 (0,8)	0,4 (0,7)	1,1 (1,4)
J43	0,8 (1,0)	1,0 (1,2)	0,8 (0,8)	0,7 (0,8)	0,9 (1,3)	1,3 (1,5)
Axe 5. Avez-vous envie de travailler ?						
J0	6,4 (2,4)	6,5 (2,6)	6,8 (2,1)	5,8 (2,9)	5,9 (2,7)	7,0 (2,3)
J11	7,2 (1,6)	7,0 (2,4)	7,6 (1,2)	7,1 (2,5)	6,7 (2,0)	6,9 (2,5)
J31	6,5 (2,8)	7,0 (2,0)	6,8 (2,7)	7,1 (2,2)	6,2 (3,2)	7,0 (1,9)
J43	6,3 (2,4)	6,3 (2,4)	6,6 (2,2)	6,8 (2,4)	6,0 (2,8)	6,0 (2,5)
Axe 6. Comment vous sentez-vous sur le plan physique ?						
J0	2,4 (1,4)	2,7 (1,8)	2,2 (1,2)	2,1 (1,5)	2,7 (1,5)	3,1 (2,0)
J11	2,8 (1,6)	2,3 (1,4)	2,8 (1,9)	2,4 (1,8)	2,8 (1,2)	2,3 (1,0)
J31	2,1 (1,5)	2,7 (1,7)	2,0 (1,6)	2,2 (1,7)	2,2 (1,4)	3,3 (1,6)
J43	2,5 (1,6)	3,1 (1,7)	2,6 (1,3)	2,6 (1,5)	2,4 (2,0)	3,7 (1,7)

Tableau 27. Test du sommeil de Buguet (première partie)
Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t ; ^{t} : p<0,10

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
Axe 7. Comment vous sentez-vous sur le plan moral ?						
J0	7,2 (1,3)	7,3 (1,6)	7,3 (1,4)	7,5 (1,7)	7,1 (1,2)	7,1 (1,6)
J11	7,1 (1,5)	7,4 (1,6)	7,0 (1,5)	7,5 (1,6)	7,3 (1,7)	7,2 (1,7)
J31	7,4 (1,8)	7,3 (1,4)	7,7 (1,6)	7,6 (1,1)	7,1 (2,1)	7,0 (1,6)
J43	7,4 (1,5)	6,9 (1,9)	7,4 (1,3)	7,5 (1,9)	7,5 (1,7)	6,3 (1,9)
Axe 8. Etes-vous de bonne humeur ?						
J0	7,4 (1,9)	7,3 (1,7)	7,6 (1,9)	7,7 (1,4)	7,3 (2,0)	6,8 (1,8)
J11	7,4 (1,4)	7,2 (1,6)	7,4 (1,3)	7,3 (1,8)	7,5 (1,6)	7,2 (1,5)
J31	7,6 (1,7)	7,3 (1,3)	7,5 (1,8)	7,6 (1,4)	7,7 (1,6)	7,1 (1,2)
J43	7,7 (1,5)	6,7 (1,8)	7,8 (1,0)	7,6 (1,6)	7,5 (2,0)	5,9 (1,5)
Axe 9. A quelle heure vous êtes-vous couché ?						
J0	23,0 (0,9)	23,5 (1,2)	22,7 (0,7)	23,2 (1,2)	23,4 (1,0)	23,7 (1,2)
J11	23,1 (0,8)	23,6 (1,1)	22,9 (0,4)	23,4 (1,0)	23,3 (1,1)	23,7 (1,1)
J31	23,2 (0,9)	23,3 (1,2)	23,1 (0,7)	23,4 (1,1)	23,3 (1,2)	23,3 (1,3)
J43	22,9 (0,9)	23,4 (1,1)	22,8 (0,6)	23,2 (0,8)	23,1 (1,1)	23,5 (1,3)
Axe 10. A quelle heure vous êtes-vous levé ?						
J0	7,6 (1,1)	7,9 (1,4)	7,2 (1,2)	8,1 (1,7)	8,1 (0,9)	7,7 (1,2)
J11	7,5 (1,1)	7,7 (1,3)	7,1 (0,6)	7,8 (1,2)	8,0 (1,4)	7,6 (1,5)
J31	7,2 (0,7)	7,4 (1,1)	7,0 (0,4)	7,5 (1,3)	7,4 (0,9)	7,3 (0,9)
J43	7,2 (0,7)	7,5 (1,1)	7,0 (0,6)	7,6 (1,3)	7,4 (0,8)	7,5 (0,9)

Tableau 27. Test du sommeil de Buguet (fin)

Moyenne (DS).Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t, t : $p<0,10$; * : $p<0,05$

Analyse des effets secondaires subjectifs

Le taux de valeurs manquantes du test de Hopkins est de 0,04%, en dehors d'un questionnaire qui n'a pas été rempli à J43 qui porte ce taux à 0,7%.

A J0, il n'existe pas de différence entre nutriments dans la population générale ni pour les deux sexes concernant les effets secondaires subjectifs rapportés par la check-list de Hopkins.

On n'observe pas d'effet nutriment sur les scores de somatisation, d'obsession compulsion, de sensibilité interpersonnelle, ni de dépression, dans la population générale. Le score d'anxiété reste stable chez les sujet ING911 alors qu'il tend à diminuer chez les sujets Placebo (p=0,092). Cette tendance ne persiste pas à D43.

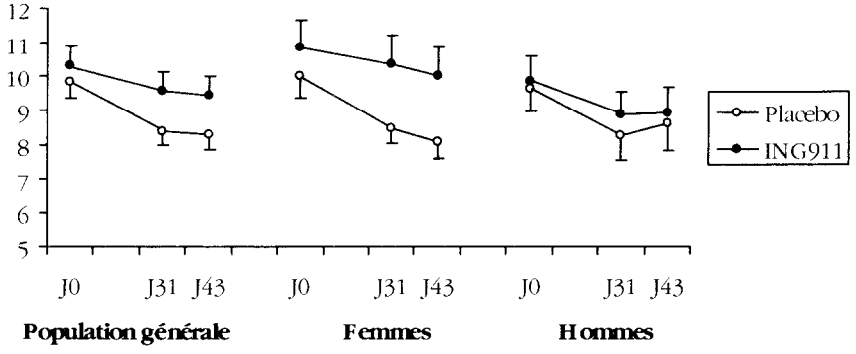


Figure 13. Axe 5 du questionnaire de Hopkins : anxiété
Moyenne ± erreur standard de la moyenne, ● ING911, ○ Placebo

	Groupe Placebo	Groupe ING911	Femmes		Hommes	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
Axe 1. Somatisation						
J0	15,9 (4,2)	15,8 (2,9)	14,9 (2,8)	16,3 (3,2)	17,4 (5,4)	15,4 (2,6)
J31	15,4 (3,7)	15,4 (3,9)	14,8 (2,3)	16,2 (4,7)	16,1 (4,9)	14,6 (2,8)
J43	14,8 (2,8)	15,0 (3,6)	14,4 (2,3)	15,3 (4,1)	15,2 (3,5)	14,7 (3,2)
Axe 2. Obsession-compulsion						
J0	13,4 (2,8)	13,7 (3,1)	13,1 (2,7)	13,8 (3,5)	13,8 (3,1)	13,6 (2,8)
J31	12,8 (3,3)	12,9 (3,2)	12,5 (2,6)	13,2 (3,4)	13,3 (4,1)	12,6 (3,2)
J43	12,1 (3,1)	12,5 (2,9)	11,3 (2,1)	12,7 (2,6)	13,2 (3,9)	12,4 (3,3)
Axe 3. Sensibilité interpersonnelle						
J0	10,8 (2,7)	10,8 (2,6)	10,2 (2,6)	11,4 (2,9)	11,5 (2,7)	10,3 (2,3)
J31	10,4 (2,8)	10,6 (3,2)	10,1 (2,4)	11,2 (3,2)	10,7 (3,4)	10,1 (3,1)
J43	9,9 (2,6)	10,7 (3,4)	9,2 (2,0)	11,3 (3,7)	10,9 (3,1)	10,2 (3,1)
Axe 4. Dépression						
J0	14,6 (3,4)	14,6 (3,4)	14,5 (3,9)	15,4 (4,3)	14,8 (3,0)	13,9 (2,3)
J31	14,4 (3,4)	14,6 (4,2)	14,1 (2,3)	14,8 (4,5)	14,6 (4,5)	14,4 (4,0)
J43	13,6 (3,1)	14,8 (4,3)	13,4 (1,9)	15,5 (5,0)	14,0 (4,4)	14,1 (3,6)
Axe 5. Anxiété						
J0	9,8 (2,3)	10,3 (2,8)	10,0 (2,5)	10,8 (2,9)	9,6 (2,2)	9,9 (2,7)
J31	8,4 (2,0)	9,6 (2,8)	8,5 (1,8)	10,4 (3,0)	8,3 (2,4)	8,9 (2,6)
J43	8,3 (2,0)	9,4 (2,9)	8,1 (1,7)	10,0 (3,1)	8,6 (2,5)	8,9 (2,7)

Tableau 28. Test de Hopkins

Moyenne (DS). Comparaisons entre placebo et ING911 à J0 par test t.

Analyse complémentaire chez les hauts et bas répondeurs

L'analyse en clusters sur les deux critères 'variation de la PAS' et 'STAI-trait' à J0 a conduit à la séparation des sujets en sujets fortement répondeurs au stress (HR) et sujets faiblement répondeurs (LR) dont les caractéristiques sont décrites dans le Tableau 30. Les coordonnées des centres des deux clusters sont données dans le Tableau 29.

	LR	HR
Effectif	37	14
Coordonnées des centres des clusters		
Variation de PAS	14,9	31,8
STAI-trait	36,2	41,1
Somme des carrés des écarts	4433	1967

Tableau 29. Résultats de l'analyse en clusters

Comparabilité à J0

A J0, les sujets HR se distinguent des sujets LR par une PAS de base, une réactivité cardiovasculaire et un STAI-trait plus élevés. Les sujets ING911 et Placebo ne diffèrent que par la FC ambulatoire et la réactivité du cortisol salivaire dans le sous-groupe LR, et par le cortisol urinaire dans le sous-groupe HR

	LR	HR	LR		HR	
			Placebo	ING911	Placebo	ING911
Effectif	37	14	18	19	6	8
Caractéristiques et paramètres de base						
Age	28,6 (6,8)	31,6 (7,1)	28,2 (7,9)	29,1 (5,8)	35,0 (7,4)	29,1 (6,1)
IMC	22,4 (2,5)	21,5 (1,2)	22,3 (2,5)	22,5 (2,5)	21,1 (0,7)	21,8 (1,5)
FC	66,0 (10,7)	62,6 (11,2)	62,7 (9,4)	69,3 (11,2) t	64,5 (11,1)	61,6 (11,9)
PAS	116,1 (13,4)	126,6 (12,0)*	116,7 (11,5)	115,6 (15,5)	123,8 (11,8)	128,0 (12,6)
PAD	71,8 (6,9)	74,8 (6,5)	71,1 (6,9)	72,6 (7,0)	73,8 (5,7)	75,3 (7,2)
Cortisol urin.	41,2 (25,7)	37,3 (16,8)	35,1 (25,2)	47,0 (25,5)	26,5 (9,6)	45,5 (16,8)*
Cortisol saliv	5,7 (3,4)	4,9 (2,1)	4,7 (2,9)	6,5 (3,7)	4,6 (2,6)	5,1 (1,8)
Bortner	181,5 (24,4)	184,8 (20,8)	181,8 (23,0)	181,3 (26,3)	184,7 (20,8)	184,9 (22,2)
STAI-trait	36,2 (9,4)	41,1 (8,1) t	34,8 (8,8)	37,6 (10,1)	41,1 (8,0)	41,1 (8,8)
Cohen	32,4 (5,4)	31,9 (5,2)	32,5 (5,4)	32,3 (5,5)	29,8 (5,7)	33,4 (4,5)
Réactivité au stress						
FC	11,1 (7,5)	20,5 (12,2)**	10,0 (6,3)	12,3 (8,5)	16,2 (6,8)	23,7 (14,7)
PAS	14,9 (5,8)	31,8 (9,2)***	15,0 (6,5)	14,8 (5,4)	30,9 (4,5)	32,5 (11,9)
PAD	8,5 (6,0)	12,6 (6,5)*	8,2 (6,2)	8,9 (5,9)	10,8 (4,9)	14,0 (7,5)
Cortisol saliv	-0,2 (1,6)	0,4 (1,1)	-0,8 (1,1)	0,3 (1,8)*	0,6 (1,2)	0,2 (1,1)
STAI état	5,7 (8,1)	8,1 (6,2)	7,8 (10,2)	3,8 (5,0)	8,0 (6,4)	8,3 (6,4)
Thayer TA	0,49 (0,67)	0,83 (0,57)	0,58 (0,68)	0,41 (0,66)	0,94 (0,60)	0,75 (0,58)
Thayer EA	0,78 (0,90)	0,95 (0,68)	0,61 (0,88)	0,95 (0,91)	0,95 (0,53)	0,95 (0,81)

Tableau 30. Caractéristiques et réactivité des sujets fortement (HR) et faiblement (LR) répondeurs au stress

Moyenne (DS) Comparaisons entre placebo et ING911 par test t * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Fréquence cardiaque

Il n'y a pas d'effet nutriment sur la FC ni sur la variation de FC sous stress après prise en compte de la sensibilité au stress. Néanmoins, l'interaction nutriment * sensibilité au stress à la limite de la significativité traduit une diminution de la réactivité de la FC chez les sujets HR sous ING911 contrastant avec une augmentation chez les sujets LR (effets non significatifs dans les sous-groupes · LR, $F_{1,15}$ =2,599, P-valeur=0,114 ; HR, $F_{1,15}$ =1,338, P-valeur=0,253).

		1 Nutriment	2 Sensibilité au stress	3 Session J11 J31	1x2	1x3
FC ambulatoire	ANCOVA 1	0,181		0,566		0,972
	ANCOVA 2	0,285	0,009*	0,626	0,784	0,955
Variation de la FC	ANCOVA 1	0,516		0,456		0,557
	ANCOVA 2	0,879	0,012*	0,354	0,072 t	0,595

Tableau 31. Fréquence cardiaque

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sensibilité au stress
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet Sensibilité au stress
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

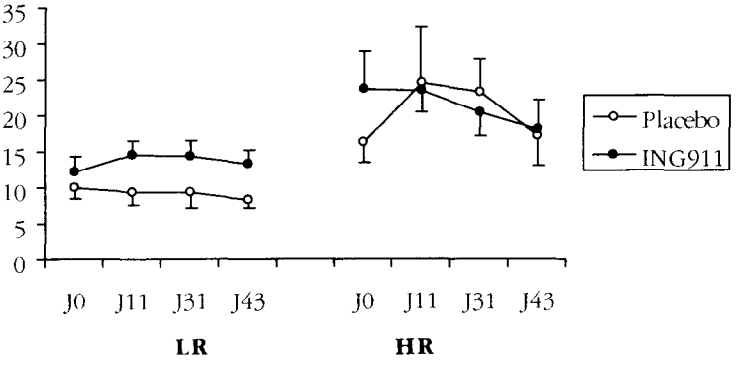


Figure 14. Réactivité de la fréquence cardiaque pendant le Stroop (bpm)

chez les sujets faiblement (LR) et fortement (HR) répondeurs au stress
Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Pression artérielle systolique

Il n'y a pas d'effet nutriment sur la PAS ambulatoire après prise en compte de la sensibilité au stress.

L'effet nutriment observé sur la réactivité de la PAS est renforcé par la prise en compte de la sensibilité au stress, sans interaction nutriment * sensibilité au stress.

		1 Nutriment	2 Sensibilité au stress	3 Session J11 J31	1x2	1x3
PAS ambulatoire	ANCOVA 1	0,690		0,754		0,096
	ANCOVA 2	0,944	0,035*	0,106	0,769	0,012*
Variation de la PAS	ANCOVA 1	0,081 t		0,568		0,216
	ANCOVA 2	0,023*	0,003**	0,318	0,211	0,419

Tableau 32. Pression artérielle systolique

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sensibilité au stress
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet Sensibilité au stress
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

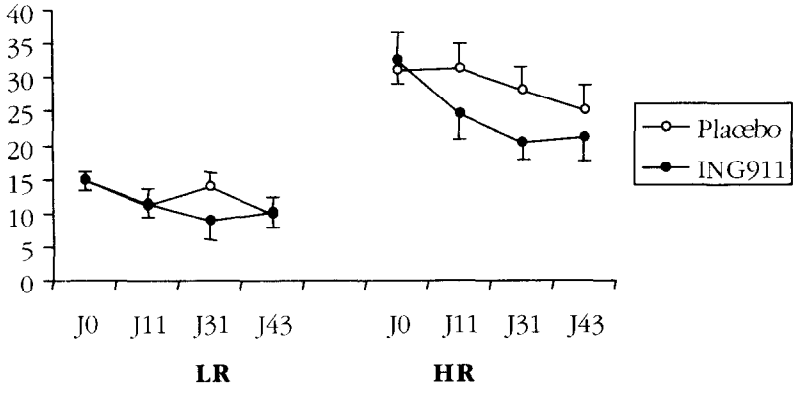


Figure 15. Réactivité de la PAS pendant le Stroop (mmHg)

chez les sujets faiblement (LR) et fortement (HR) répondeurs au stress
Moyenne ± erreur standard de la moyenne, ● ING911, ○ Placebo

Pression artérielle diastolique

Il n'y a pas d'effet nutriment sur la PAD ambulatoire après prise en compte de la sensibilité au stress.

L'effet nutriment observé sur la réactivité de la PAD est renforcé par la prise en compte de la sensibilité au stress, sans interaction nutriment * sensibilité au stress.

		1 Nutriment	2 Sensibilité au stress	3 Session J11 J31	1x2	1x3
PAD ambulatoire	ANCOVA 1	0,910		0,043*		0,290
	ANCOVA 2	0,303	0,285	0,230	0,097	0,044*
Variation de PAD	ANCOVA 1	0,049*		0,296		0,775
	ANCOVA 2	0,039*	0,001**	0,513	0,949	0,855

Tableau 33. Pression artérielle diastolique

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sensibilité au stress
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet Sensibilité au stress
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

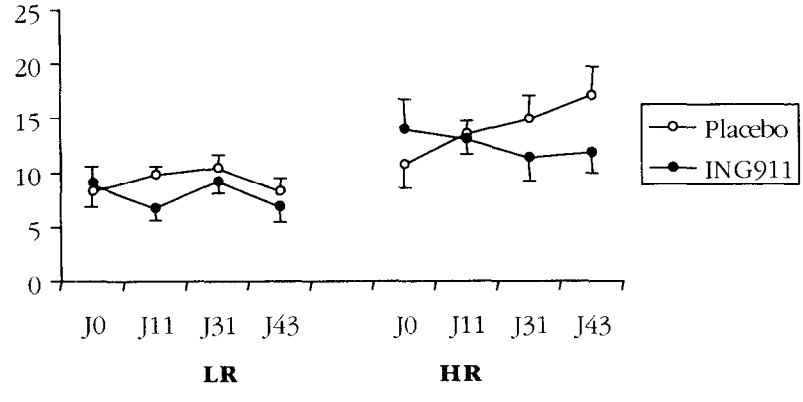


Figure 16. Réactivité de la PAD pendant le Stroop (mmHg)

chez les sujets faiblement (LR) et fortement (HR) répondeurs au stress
Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Paramètres endocriniens

Il n'apparaît pas d'effet nutriment ni d'interaction entre le nutriment et la sensibilité au stress sur le cortisol urinaire, ni sur le cortisol salivaire.

Paramètres psychologiques

Il n'apparaît pas d'effet nutriment ni d'interaction entre le nutriment et la sensibilité au stress sur le STAI-trait, le score de Cohen, ni sur les modification sous stress des scores de STAI-état et de Thayer.

Sommeil

L'effet nutriment observé sur la qualité du sommeil est renforcé par la prise en compte de la sensibilité au stress, sans interaction nutriment * sensibilité au stress. La qualité du sommeil est stable chez les sujets ING911 alors qu'elle s'améliore chez les Placebo à J11 et J31. Cet différence disparaît à J43.

		1 Nutriment	2 Sensibilité au stress	3 Session J11 J31	1x2	1x3
Qualité du sommeil	ANCOVA 1	0 ,046*		0,262		0,490
	ANCOVA 2	0 ,031*	0,730	0,273	0,275	0,669

Tableau 34. Qualité du sommeil

Résultats (P-valeurs) des ANCOVA à mesures répétées (Session J11-J31) avec la valeur mesurée à J0 comme covariant
ANCOVA 1 ANCOVA à mesures répétées à 1 facteur Nutriment
ANCOVA 2 ANCOVA à mesures répétées à 2 facteurs Nutriment et Sensibilité au stress
1x2 interaction entre l'effet nutriment et l'effet Sensibilité au stress
1x3 interaction entre l'effet nutriment et l'effet session J11-J31

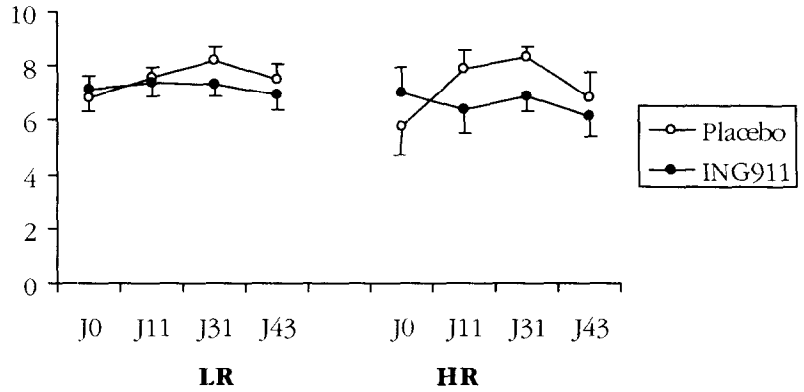


Figure 17 . Qualité du sommeil (Test de Buguet, Question n°1) chez les sujets HR
Moyenne ± erreur standard de la moyenne, • ING911, ○ Placebo

Discussion-conclusion

Qualité générale de l'expérimentation

L'expérimentation a porté sur 53 sujets. Le seul sujet sorti d'expérimentation l'a été sur des considérations médicales sans rapport avec l'absorption des nutriments. Aucune sortie volontaire n'a été observée. Les sujets sélectionnés ont rempli avec rigueur leurs obligations.

Les sujets ont toujours été testés à une heure identique de la journée fonction de leurs caractéristiques circadiennes, cet horaire étant resté identique à lui-même tout au long de l'expérimentation.

Comparabilité des groupes expérimentaux à J0

Population générale

Synthèse sur l'ensemble des sujets

Dans la population générale aucune différence significative entre nutriments n'est observée à J0 concernant les caractéristiques biométriques ni les variables psychophysiologiques basales (FC, PAS, et PAD ambulatoires, test de Cohen, test de STAI-trait, questionnaire de sommeil), à part le cortisol urinaire, plus élevé chez les sujets ING911.

Au cours de l'exposition au stresseur, la fréquence cardiaque et le cortisol salivaire des sujets ING911 sont plus élevés à J0 que ceux des sujets Placebo ; cependant leur variation pendant le stress ne diffère pas entre nutriments. Les autres variables cardiovasculaires et psychologiques ne diffèrent ni en valeur absolue ni en variation pendant le stress.

Synthèse dans les sous-groupes LR et HR

Dans le sous-groupe LR, les sujets ING911 ne diffèrent pas significativement des sujets Placebo si ce n'est par une réactivité du cortisol salivaire plus élevée.

Dans le sous-groupe HR, les sujets ING911 ne diffèrent des sujets Placebo que par un cortisol urinaire plus élevé.

Discussion

La comparabilité des groupes expérimentaux est satisfaisante pour les valeurs psychophysiologiques de base et la réactivité au stress.

Cependant, le cortisol urinaire n'est pas comparable dans les groupes expérimentaux. La quantité de cortisol contenu dans les urines d'une nuit représente le niveau d'activation de l'axe HPA au cours de la journée précédente et l'anticipation de la journée qui suit au cours de laquelle a lieu l'expérimentation. En effet, le cortisol est une hormone stéroïde diffusant dans les urines de façon proportionnelle à sa concentration sanguine. Le cortisol retrouvé dans les urines d'une nuit est peu dépendant de la durée du sommeil car la cinétique d'excrétion est caractérisée par un pic en deuxième partie de nuit. La différence de cortisol urinaire observée entre les groupes expérimentaux peut être expliquée par la grande variabilité de l'activation de l'axe HPA selon les sujets (Negrao, Deuster, Gold, Singh, & Chrousos, 2000). Mais elle peut aussi traduire un biais car la précision de la mesure dépend de la rigueur avec laquelle le volume total des urines nocturnes a été recueilli, facteur qui n'a pas pu être contrôlé.

Femmes

Aucune différence significative entre nutriments n'est observée à J0 concernant les caractéristiques biométriques, ni les variables psychophysiologiques basales, à part le cortisol urinaire, qui est plus élevé chez les sujets ING911 (p=0,025).

Les marqueurs de stress ne diffèrent ni en valeur absolue ni en variation pendant le stress.

La comparabilité est très satisfaisante dans le sous-groupe des femmes en ce qui concerne les paramètres étudiés.

Cependant, le cycle menstruel n'a pu être pris en compte au cours de l'étude. Or il conditionne la réponse au stress (Suri & Altshuler, 2000) puisque les réactions de l'axe HPA sont modulées chez les femmes par l'œstradiol et de plus que les métabolites de la progestérone qui ont une action anxiolytique, modulent l'état d'anxiété selon leur concentration sérique, c'est-à-dire selon le moment du cycle. Au cours de cette expérimentation qui s'est déroulée sur 7 semaines, aucune garantie relative à la relation entre le moment du cycle et le jour des tests n'a pu être assurée. L'évolution de la réponse au stress peut donc être biaisée par ce facteur.

Hommes

Les caractéristiques biométriques ne diffèrent pas entre nutriments à J0. Les variables psychophysiologiques basales ne sont pas différentes à part la fréquence cardiaque ambulatoire plus élevée chez les sujets ING911 que chez les sujets Placebo (p=0,012).

Au cours de l'exposition au stresseur, la fréquence cardiaque des sujets ING911 varie plus que celle des sujets Placebo. La variation pendant le stress de la pression artérielle et des paramètres psychologiques ne diffère pas, entre les sujets Placebo et ING911.

Les hommes Placebo et ING911 diffèrent par leur fréquence cardiaque (valeur de base et réactivité) mais les paramètres psychologiques et l'agressivité face à la vie (test de Bortner) sont comparables.

Efficacité du stresseur

Efficacité intrinsèque

Le stresseur utilisé, le test de Stroop, a permis d'obtenir une réactivité cardiovasculaire (touchant les variables de FC, PAS et PAD) et psychologique (test de Thayer, STAI-état) mais le cortisol salivaire n'a pas été augmenté.

L'activation cardio-vasculaire

L'activation cardio-vasculaire a été mesurée en prenant pour référence la mesure effectuée à la fin de la deuxième période de relaxation pour éviter un biais d'anticipation de l'épreuve.

Les résultats concernant l'activation cardio-vasculaire sont en accord avec la littérature (Allen, Stoney, Owens, & Matthews, 1993; Fauvel, et al., 1996; Frankenhaeuser, Dunne, & Lundberg, 1976; Freyschuss, et al., 1990; Gerra, et al., 2001; Hjemdahl, Freyschuss, Juhlin-Dannfeit, & Linde, 1984; Hoshikawa & Yamamoto, 1997 ; Matthews, Davis, & Stoney, 1991; Steptoe, Willensen, Owen, Flower, & Mohamed-Ali, 2001). Freyschuss rapporte une activation de l'ordre de 16% de la FC, de 15 % de la Pas dans les 3 premières minutes de Stroop (Freyschuss, et al., 1990). Cette activation s'accompagne d'une augmentation de la secrétion de catécholamines (Frankenhaeuser, Dunne, & Lundberg, 1976; Freyschuss, et al., 1990; Gerra, et al., 2001; Hjemdahl, Freyschuss, Juhlin-Dannfeit, & Linde, 1984). Les tests de Stroop référencés ci-dessus duraient entre 3 minutes (Allen, Stoney, Owens, & Matthews, 1993) et 20 minutes (Fauvel, et al.,

1996; Freyschuss, et al., 1990) et avaient des supports techniques variables : des cartes ou des diapositives pour les plus anciens (Frankenhaeuser, Dunne, & Lundberg, 1976; Hjemdahl, Freyschuss, Juhlin-Dannfeit, & Linde, 1984), des programmes informatiques pour les plus récents (Fauvel, et al., 1996; Steptoe, Willensen, Owen, Flower, & Mohamed-Ali, 2001) Le stresseur utilisé dans notre étude était très proche de celui décrit dans l'étude de Steptoe (Steptoe, Willensen, Owen, Flower, & Mohamed-Ali, 2001), portant sur 6 hommes et 6 femmes, dans laquelle un test de Stroop informatisé de 5 minutes a entraîné une augmentation de 8% de la FC et de 13% de la PAS, ce qui est inférieur à l'activation que nous avons obtenue. Cette différence peut-être due à la présence dans notre étude d'un stimulus sonore intense et désagréable à chaque épreuve, alors que l'étude de Steptoe ne fait pas état d'incitation sonore.

L'absence de réponse du cortisol salivaire

L'intensité de la réponse de l'axe HPA à un stresseur dépend i) de la sensibilité de l'individu ii) des caractéristiques du stresseur.

i) l'activation de l'axe HPA est très variable selon les individus, dépendant de la personnalité du sujet, des caractéristiques de son système d'adaptation et de sa sensibilisation envers le stresseur , ceci a conduit à définir des forts et faibles répondeurs (Chrousos & Gold, 1992; Gerra, et al., 2001; Kirschbaum, et al., 1995; Pruessner, et al., 1997; Roy, Kirschbaum, & Steptoe, 2001).

ii) Les caractéristiques du stresseur conditionnent également l'activation HPA. Le stress psychologique entraîne une augmentation de cortisol s'il est intense et durable et particulièrement lorsqu'il s'accompagne d'une forte motivation, d'une compétition, d'un faible niveau de contrôle sur les évènements, et d'une faible prédictibilité (Kirschbaum & Hellhammer, 1994 ; Meyer, et al., 2000; Peters, et al., 1998; Rohrmann, Hennig, & Netter, 1999).

La réaction de l'axe HPA peut être appréhendée soit par la mesure du cortisol sérique, soit par celle du cortisol salivaire. Cette dernière est préférable car elle n'induit pas de stress parasite (« mâcher une salivette » n'est pas stressant en soi). A la suite d'un stress, le cortisol salivaire augmente rapidement, avec un décalage de moins de 3 minutes sur le cortisol sérique (Kirschbaum & Hellhammer, 2000).

Deux études récentes rapportent l'effet du Stroop sur la concentration de cortisol . Dans l'étude de Gerra (2001) portant sur 20 hommes, le cortisol plasmatique augmentait de 300 à 550 nmol/l après un test de Stroop de 10 minutes ; le cortisol était mesuré dans le plasma sanguin après cathétérisation, ce qui est une source de stress supplémentaire. L'étude de Steptoe (Steptoe, Willensen, Owen, Flower, & Mohamed-Ali, 2001) n'a pas mis en évidence d'augmentation du cortisol dans la salive après 5 minutes de Stroop. Nos résultats sont donc en accord avec ceux de l'étude de Steptoe. Cette absence de réponse est vraisemblablement due à la durée insuffisante du stresseur. En effet le cortisol n'a pas été trouvé augmenté après le Stroop (soit entre 8 et 10 minutes après le début du stress), mais n'était pas augmenté non plus lors de la troisième mesure (soit 25 minutes après le début du stress).

Par ailleurs, dans notre étude, chaque sujet a toujours été exploré à la même heure pour éviter la variabilité circadienne du cortisol (Kirschbaum & Hellhammer, 2000) et permettre des comparaisons entre les tests.

Evolution dans le temps de l'efficacité du stresseur

Dans le cadre d'une expérimentation où les sujets sont soumis à un stresseur calibré de façon répétée, il est probable qu'un apprentissage intervienne et concerne à la fois l'environnement expérimental et le stresseur. La reproductibilité des effets du Stroop a été trouvée très satisfaisante dans une étude récente (Fauvel, et al., 1996). Au cours de notre expérimentation, les sujets Placebo ont rapporté une nette diminution de l'anxiété dans le test de Hopkins ($p<0,0001$). Cependant la réactivité face au stresseur des principaux paramètres cardiovasculaires et psychologiques est restée stable au cours des quatre tests chez les sujets

Placebo. Cette stabilité de l'effet activateur du stresseur a été acquise au prix d'une augmentation de la performance au test de Stroop avec la répétition des expositions($p<0.001$). Une motivation avouée des sujets qui ont le désir de faire mieux que la fois précédente explique en partie cet effet.

Résultats

Effet nutriment en population générale

Analyse sur l'ensemble des sujets

Dans la population générale, on n'observe pas d'effet nutriment sur les paramètres cardio-vasculaires ambulatoires et psychologiques de base.

La réactivité de la pression artérielle au stress est atténuée chez les sujets ING911, alors qu'il n'apparaît pas d'effet nutriment sur la réactivité de la fréquence cardiaque. Il ne s'agit pas d'un effet anti-hypertenseur puisque la pression artérielle ambulatoire n'est pas modifiée par le nutriment.

L'analyse ne montre pas d'effet significatif sur la réactivité au stress des paramètres psychologiques.

La qualité du sommeil apparaît différente chez les sujets ING911 et Placebo. Le questionnaire de Buguet concernant la nuit précédant les tests, ne montre pas de dégradation de la qualité du sommeil mais l'absence d'amélioration chez les sujets ING911 alors que la qualité du sommeil s'améliore chez les sujets Placebo. Il s'agit d'une cotation subjective, ce n'est pas nécessairement la structure physiologique du sommeil qui est en cause mais plutôt sa perception. Une exploration du sommeil par polysomnographie apporterait un élément important de réflexion. Il faut noter que les autres paramètres d'évaluation du sommeil (endormissement, horaires de sommeil, forme physique et psychique au réveil) ne sont pas différentes chez les sujets ING911 et Placebo.

Prise en compte du sexe

Il est classiquement reconnu que la réponse au stress diffère entre les hommes et les femmes (Kudielka, Hellhammer, & Kirschbaum, 2000). Considérant la réponse cardiovasculaire au stress, les femmes ont une plus grande réactivité en fréquence cardiaque et les hommes en pression artérielle (Allen, Stoney, Owens, & Matthews, 1993; Eliasson, Hjemdahl, & Kahan, 1983; Fichera & Andreassi, 2000; Girdler, Turner, & Sherwood, 1990; Tardy & Allen, 1998). Une plus grande sensibilité et une plus grande densité des récepteurs sympathiques α a été trouvée dans les vaisseaux périphériques chez l'homme (Friedman & Irwin, 1997).

La réponse de l'axe HPA au stress est également différente selon le sexe puisqu'elle est influencée par l'œstradiol chez les femmes et par les métabolites de la progestérone qui ont une action anxiolytique, et donc modulent l'état d'anxiété selon leur concentration sérique, c'est-à-dire selon le moment du cycle menstruel (Kirschbaum, Kudielka, Gaab, Schommer, & Hellhammer, 1999; Suri & Altshuler, 2000). Dans l'étude de Kudielka la sécrétion d'ACTH et de cortisol était plus élevée chez les hommes que chez les femmes en réponse à un stress psychologique standardisé (Kudielka, et al., 1998).

La perception du stress également diffère entre les hommes et les femmes (Carillo, et al., 2001), de même que les stratégies d'adaptation : les hommes ont un coping plutôt centré sur la résolution du problème et les femmes plutôt centré sur l'émotion (Kudielka, et al., 1998).

De surcroît, dans notre étude, les sujets ont tous reçu une même dose quotidienne d'ING911, ce qui a entraîné la consommation d'une moindre quantité (inférieure d'environ 30%), rapportée au kg de masse corporelle, chez les hommes que chez les femmes.

Le facteur sexe a donc été pris en compte secondairement dans le modèle d'ANCOVA.

Il n'est pas apparu d'interaction significative entre le facteur nutriment et le facteur sexe dans l'analyse des paramètres de base ni de la réactivité au stress. L'effet nutriment sur la réactivité de la pression artérielle au stress n'est pas apparu modifié par le sexe.

Analyse complémentaire sur les sujets LR et HR

L'analyse dans les sous-groupes de sujets faiblement (LR) et fortement (HR) répondeurs au stress confirme l'effet nutriment sur la réactivité vasculaire sans révéler d'interaction nutriment*sensibilité au stress.

La prise en compte de la sensibilité au stress fait apparaître une tendance contrastée de la réactivité au stress de la FC, chez les sujets ING : la réactivité au stress de la FC tendrait à augmenter chez les sujets LR, alors que elle tendrait à s'atténuer chez les sujets HR, contrairement aux tendances observées chez les sujets Placebo. Cet effet n'est pas significatif dans les sous-groupes, mais il évoque un mécanisme d'action à un haut niveau de régulation de la réponse cardio-vasculaire au stress.

La mise en jeu du système opiacé pourrait expliquer cet effet différentiel. L'activation cardio-vasculaire au stress est modulée par le système opiacé (Drolet & Rivest, 2001; Vaccarino, 2001). Cette modulation s'exerce à différents niveaux de regulation. La stimulation des récepteurs opiacés dans le noyau paraventriculaire active le système sympatho-adréno-médullosurrénalien et participe à la vasodilatation dans les territoires musculaires et à la vasoconstriction dans le territoire splanchnique observée dans la réaction de stress (Bachelard & Pitre, 1995; Siren, Paakkari, Goldstein, & Feuerstein, 1989). En périphérie également le système opiacé intervient au niveau de la surrénale et des ganglions végétatifs, ainsi qu'aux niveaux cardiaque et vasculaire (Eimerl & Feuerstein, 1986; Livett, Day, Elde, & Howe, 1982). Le système opiacé pourrait jouer un rôle dans l'atténuation de la réponse vasculaire au stress et le retour à l'état basal (McCubbin, Kaplan, Manuck, & Adams, 1993). Cet effet serait très variable selon les individus et pourrait être moins efficace chez les sujets fortement répondeurs au stress (McCubbin, Kaplan, Manuck, & Adams, 1993).

Dans une étude clinique chez des bas et hauts répondeurs au stress, Fontana et collaborateurs ont observé un lien entre la réactivité vasculaire au stress et le profile de sécrétion endogène d'opiacés (Fontana, et al., 1997): chez des bas répondeurs au stress, la sécrétion de β-endorphine est prédominante conjointement à une activation de l'axe HPA ; chez des hauts répondeurs au stress, la sécrétion de met-enkephaline et de dynorphine B est prédominante conjointement à une activation de l'axe sympatho-adréno-médullosurrénalien. Or la met-enkephaline pourrait être responsable d'une réduction du tonus parasympathique et d'une exagération de l'activation du tonus sympathique (Caffrey, Mateo, Napier, Gaugl, & Barron, 1995).

L'effet dual observé chez les sujets ING911 sur la réponse au stress de la FC (modération chez les HR et accentuation chez les LR) pourrait donc refléter une action sur ce système de régulation opiacé : chez les LR, l'accentuation de la réponse au stress de la FC pourrait traduire une diminution du frein opiacé, alors que chez les HR la modération de la réponse au stress de la FC traduirait son rétablissement.

Analyse à J43

A J43, il ne persiste pas d'effet nutriment sur la réactivité tensionnelle au stress.

Analyse comparée des effets nutriment à J11 et J31

L'objectif principal de l'étude était l'analyse des effets d'une consommation chronique d'ING911 pendant 30 jours, c'est pourquoi les effets à 11 et 31 jours ont été pris en compte

conjointement dans l'analyse statistique. Ce protocole d'étude ne permet pas d'analyser isolément les effets à J11 car le risque statistique de première espèce en serait multiplié, c'est à dire le risque de conclure à tort à une différence entre les groupes expérimentaux. Les effets de la consommation de nutriment pendant 10 jours doivent faire l'objet d'une étude spécifique.

Cependant, on peut observer globalement que l'évolution des paramètres cardiovasculaires est cohérente à J11 et J31

Les effets secondaires

Aucune différence significative n'a été observée entre nutriments au test de Hopkins pour les axes somatisation, obsession-compulsion, dépression, et sensibilité interpersonnelle à J31 comparativement à J0, ni à J43. Le score d'anxiété tend à rester stable chez les sujet ING911 alors qu'il diminue chez les sujets Placebo (p=0,092). Cette appréciation est complétée par l'absence d'effets indésirables chroniques dans le domaine cardio-vasculaire (variables ambulatoires respectées par la consommation d'ING911) et psychologiques (même cotation des niveaux de stress vécus au questionnaire de Vitaliano à J11 et J31, pas d'augmentation de l'anxiété-trait à J11 et J31). De surcroît, les sujets se sont révélés en fin d'expérimentation (J43) incapables de préciser si leur nutriment était Placebo ou ING911, ce qui suggère l'absence de survenue d'effets latéraux qui auraient été marquants et qui n'auraient pas été cotés par les différents tests utilisés. Ces résultats doivent cependant être replacés dans leur cadre, à savoir un petit nombre de sujets jeunes et en bonne santé.

Justification de la dose quotidienne d'ING911

Plusieurs études des effets de l'hydrolysat ING911 ont été réalisées antérieurement chez l'homme :

1. une étude des effets aigus d'une consommation ponctuelle d'ING911à forte dose (3 fois 400 mg) qui a mis en évidence des effets modérateur de la réponse cardiovasculaire à un stresseur psychologique intense (publication en cours)
2. une étude des effets de la consommation d'ING911 pendant 15 jours (2 fois 75 mg ou 2 fois 150 mg par jour) qui a montré une tendance vers un effet modérateur de la réponse psychologique à un stresseur de faible intensité chez les sujets anxieux (publication en cours).

Cette étude a pour objectif de confirmer l'effet de la consommation chronique d'une faible dose d'ING911 sur la réponse à un stresseur psychologique intense. C'est pourquoi la dose de 150 mg par jour a été retenue.

Dans notre étude, une dose faible d'hydrolysat (150 mg) a été consommée le soir (22 heures), soit en moyenne 12 heures avant l'étude des sujets. Ce protocole de consommation du produit a notamment deux conséquences :

1. le travail sur des faibles doses de produit actif et à distance entraîne, si l'on se réfère à la théorie allopathique, des effets plus faibles et donc plus difficile à détecter.
2. une indication sur le mécanisme d'action de la molécule. Compte tenu du fait que le produit utilisé est un peptide, donc de faible demi-vie, il est probable que le mécanisme incriminé soit indirect. Seule, une estimation de la pharmacocinétique du produit actif permettrait de savoir si l'effet est direct ou non.

Conclusion

Au total, le nutriment ING911 modère la réponse tensionnelle au stress, sans effet hypotenseur. Il n'a pas été mis en évidence d'effet significatif sur les paramètres psychologiques.

L'analyse chez les sujets faiblement et fortement répondeurs au stress a permis de confirmer l'effet modérateur de la réactivité tensionnelle au stress et a révélé un effet contrasté sur la réactivité de la fréquence cardiaque qui pourrait refléter une action sur le système opiacé de régulation de la réponse cardiovasculaire au stress.

Par ailleurs, ING911 semble avoir un effet sur le sommeil que l'on peut qualifier de « stabilisateur »

Bibliographie

Ader, R. (2000). On the development of psychoneuroimmunology. *European Journal of Pharmacology, 405*, 167-176.

Allen, M.T., Stoney, C.M., Owens, J.F., & Matthews, K.A. (1993). Hemodynamic adjustments to laboratory stress: the influence of gender and personality. *Psychosomatic Medicine, 55*, 505-517.

Bachelard, H., & Pitre, M. (1995). Regional haemodynamic effects of mu-, delta-, and kappa-opioid agonists microinjected into the hypothalamic paraventricular nuclei of conscious, unrestrained rat. *Br J Pharmacol, 115*(4), 613-621.

Billiard, M. (Ed.). (1994). *Le sommeil normal et pathologique* (Vol. 1). Paris: Masson.

Boiten, F.A., Frijda, N.H., & Wientjes, C.J.E. (1994). Emotions and respiratory patterns: review and critical analysis. *International Journal of Psychophysiology, 17*, 103-128.

Bouvard, M., & Cottraux, J. (1998). *Protocoles et échelles d'évaluation en psychiatrie et en psychologie*. Paris (France): Masson.

Bruchon-Schweitzer, M., & Dantzer, R. (1998). *Introduction à la psychologie de la santé*. Paris: PUF.

Buguet, A. (1994). Exploration du sommeil chez l'adulte et l'adolescent., *Psychiatrie* (Vol. 37-680-A-04, pp. 4). Paris (France): Editions techniques.

Buguet, A., Bourdon, L., Canini, F., Cespuglio, R., & Radomski, M. (1999). Sommeil et stress: exercice physique et environnement extrême. *Revue Scientifique et Technique de la Défense, 41*, 187-198.

Buguet, A., Lonsdorfer, J., Bogui, P., Yapi, F., & Eboulé, C. (1992). Habitudes de sommeil d'étudiants africains vivant en climat tropical humide. *Psychologie Médicale, 24*(2) 190-194.

Cacioppo, J., Malarkey, W., & Kiecolt-Glaser, J. (1995). Heterogeneity in neuroendocrine and immune response to brief psychological stressors as a function of autonomic cardiac activation. *Psychosomatic Medicine, 57*, 154-164.

Caffrey, J., Mateo, Z., Napier, L., Gaugl, J., & Barron, B. (1995). Intrinsic cardiac enkephalins inhibit vagal bradycardia in the dog. *American Journal of physiology Heart and Circulation Physiology, 268*(37), H848-H855.

Carillo, E., Moya-Albiol, L., Gonzalez-Bono, E., Salvador, A., Ricarte, J., & Gomez-Amor, J. (2001). Gender differences in cardiovascular and electrodermal responses to public speaking task: the role of anxiety and mood states. *International Journal of Psychophysiology, 42*, 253-264.

Chrousos, G.P., & Gold, P.W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA, 267*, 1244-1252.

Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1983). A global measure of perceived stress. *Journal of Health and Social Behavior, 24*, 385-396.

Dantzer, R. (1989). *L'illusion psychosomatique* (Vol. 1). Paris: Editions Odile Jacob.

de Quervain, D.J.F., Roosendaal, B., & McGaugh, J.L. (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval long-term spatial memory. *Nature, 394*(20 august), 787-790.

Derogatis, L.R., Lipman, R.S., Rickels, K., Uhlenhuth, E.H., & Covi, L. (1974). The Hopkins symptom checklist (HSCL): a self-report symptom inventory. *Behavioral Science, 19*, 1-15.

Dishman, R.K., Nakamura, Y., Garcia, M.E., Thompson, R.W., Dunn, A.L., & Blair, S.N. (2000). Heart rate variability, trait anxiety, and perceived stress among physically fit men and women. *International Journal of Psychophysiology, 37*, 121-133.

Drolet, G., & Rivest, S (2001). Corticotropin-releasing hormone and its receptors, an evaluation at the transcription level in vivo. *Peptides, 22*, 761-767.

Eimerl, J., & Feuerstein, G. (1986). The effect of mu, delta, kappa and epsilon opioid receptor agonists on heart rate and blood pressure of the pithed rat. *Neuropeptides, 8*(4), 351-358

Eliasson, K., Hjemdahl, P., & Kahan, T. (1983). Circulatory and sympatho-adrenal responses to stress in borderline and established hypertension. *Journal of Hypertension, 1*(2), 131-139

Ennis, M., Kelly, K., Wingo, M.K., & Lambert, P.L. (2001). Cognitive appraisal mediates adrenomedullary activation to a psychological stressor. *Stress and Health, 17*, 3-8.

Fauvel, J.P., Bernard, N., Laville, M., Daoud, S., Pozet, N., & Zech, P. (1996) Reproducibility of the cardiovascular reactivity to a computarized version of the Stroop stress test in normotensive and hypertensive subjects. *Clinical Autonomic Research, 6*, 219-224.

Fichera, L.V., & Andreassi, J L. (2000). Cardiovascular reactivity during speaking as a function of personnality variables. *International Journal of Psychophysiology, 37*, 267-273.

Fontana, F., Bernardi, P., Pich, E.M., Boschi, S., De Iasio, R., Spampinatos, S., & Grossi, G. (1997). Opioid peptide modulation of circulatory and endocrine response to mental stress in humans. *Peptides, 18*(2), 169-175.

Frankenhaeuser, M., Dunne, F., & Lundberg, U. (1976). Sex differences in sympathetic adrenal medullary reactions induced by different stressors. *Psychopharmacology, 47*, 1-5.

Freyschuss, U., Fagius, J., Wallin, B., Bohlin, G., Perski, A., & Hjemdahl, P. (1990) Cardiovascular and sympathoadreanal repsonses to mental stress: a study of sensory intake and rejection reactions. *Acta Physiologica Scandinavica, 139*, 173-183.

Friedman, E.M., & Irwin, M.R. (1997). Modulation of immune cell function by the autonomic nervous system. *Pharmacology and Therapeutic, 74*(1), 27-38.

Gabr, R W., Birkle, D.L., & Azzaro, A.J. (1995). Stimulation of the amygdala by glutamate facilitates corticotropin-releasing factor release from the median eminence and activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in stressed rats. *Neuroendocrinology, 62*, 333-339.

Gerra, G., Zaimovic, A., Mascetti, G.G., Gardini, S., Zambelli, U., Timpano, M., Raggi, M.A., & Brambilla, F. (2001). Neuroendocrine responses to experimentally-induced psychological stress in healthy humans. *Psychoneuroendocrinology, 26*, 91-107.

Girdler, S., Turner, J., & Sherwood, A. (1990). Gender differences in blood pressure control during a variety of behavioral stressors. *Psychosomatic Medicine, 52*, 571-591.

Glassman, A.H., & Shapiro, P.A. (1998). Depression and the course of coronary artery disease. *American Journal of Psychiatry, 155*, 4-11.

Hjemdahl, P. (2000). Cardiovascular system and stress. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 1, pp. 389-403). San Diego: Academic Press.

Hjemdahl, P., Freyschuss, U., Juhlin-Dannfeit, A., & Linde, B. (1984). Differentiated sympathetic activation during mental stress evoked by the Stroop test. *Acta Physiologica Scandinavica, 527*, 25-29.

Horne, J.A.,, & Östberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology, 4*, 97-110.

Hoshikawa, Y., & Yamamoto, Y. (1997). Effects of Stroop color-word conflict test on the autonomic nervous system responses. *The American Journal of Physiology, 272*(41), H1113-H1221.

Hotta, M., Tamotsu, S., Arai, K., & Demura, H. (1999). Corticotropin-releasing factor receptor type 1 mediates emotional stress-induced inhibition of food intake and behavioral changes in rats. *Brain Research, 823*, 221-225.

Ilardo, C., Toniolo, A.-M., Aimone-Gastin, I., Abdelmouttaleb, I., Guéant, J.-L., & Desor, D. (2001) Effects of psycho-physiological stress (competitive rafting) on saliva interleukin-1 beta. *Stress and Health, 17*, 9-15.

Kirschbaum, C., & Hellhammer, D H. (1994). Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology, 19*(4), 313-333.

Kirschbaum, C., & Hellhammer, D.H. (2000). Salivary cortisol. In G. Fink (Ed.)., *Encyclopedia of stress* (Vol. 3, pp. 379-383). San Diego: Academic Press.

Kirschbaum, C , Kudielka, B., Gaab, J., Schommer, N., & Hellhammer, D.H. (1999). Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosomatic medicine, 61*, 154-162.

Kirschbaum, C., Pruessner, J.C., Stone, A.A., Federenko, I., Gaab, J., Lintz, D., Schommer, N., & Hellhammer, D.H. (1995). Persistent high cortisol responses to repeated psychological stress in a subpopulation of healthy men. *Psychosomatic Medicine*, 57, 468-474.

Kudielka, B.M., Hellhammer, D.H., & Kirschbaum, C. (2000). Sex difference in human stress response. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 3, pp. 424-429). San Diego: Academic Press.

Kudielka, B.M., Hellhammer, J., Hellhammer, D.H., Wolf, O.T., Pirke, K.-M., Varadi, E., Pilz, J., & Kirschbaum, C. (1998). Sex differences in endocrine and psychological responses to psychosocial stress in healthy elderly subjects and the impact of a 2-week dihydroepiandrosterone treatment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 83*(5) 1756-1761.

Laborit, H. (1976). *L'éloge de la fuite*. Paris: Editions Robert Laffont.

Laborit, H. (1986). *L'inhibition de l'action* (Vol. 1). (2 ed.) Paris, Montréal: Masson & Les presses de l'université de Montréal.

Larson, M.R., Ader, R., & Moynihan, J.A. (2001). Heart rate, neuroendocrine, and immunological reactivity in response to an acute laboratory stressor. *Psychosomatic Medicine, 63*, 493-501.

Linde, B., Hjemdahl, P., Freyschuss, U., & Juhlin-Dannfelt, A. (1989). Adipose tissue and skeletal muscle blood flow during mental stress. *American Journal of Physiology, 256*(19, E12-E18.

Livett, B., Day, R., Elde, R., & Howe, P. (1982). Co-storage of enkephalins and adrenaline in the bovine adrenal medulla. *Neuroscience*, 7(5), 1323-1332.

Lovallo, W.R., & Al'Absi, M. (1998). Hemodynamics during rest and behavioral stress in normotensive men at high risk for hypertension. *Psychophysiology, 35*, 47-53.

MacQueen, J. (1967). *Some methods for classification and analysis of multivariate observations.* Paper presented at the Proceedings of the Symposium of Mathematic Statistics and Probability (5th), Berkeley.

Matthews, K.A., Davis, M., & Stoney, C.M. (1991). Does the gender relevance of the stressor influence sex differences in psychphysiological responses. *Health Psychol, 10*, 112-120.

McCubbin, J.A., Kaplan, J.R , Manuck, S., & Adams, M. (1993). Opioidergic inhibition of circulatory and endocrine stress responses in cynomolgus monkeys: a preliminary study. *Psychosomatic Medicine, 55*, 23-28.

Melin, B., Brion, R., Picard, J., Pibarot, A., Bigard, A.X., Guezennec, C.Y., & Bittel, J. (1998). Aptitude physique. Evaluation par questionnaire. *Médecine et Armées, 26*(3) 207-211.

Meyer, G., Hauffa, B.P., Schedlowski, M., Pawlak, C., Stadler, M.A., & Exton, M.S. (2000). Casino gambling increases heart rate and salivary cortisol in regular gamblers. *Biological Psychiatry, 48*, 948-953.

Moradi, A.R., Tagha, M R., Neshat Doost, H.T., Yule, W., & Dalgleish, T. (1999). Performance of children and adolescents with PTSD on the Stroop colour-naming task. *Psychological Medicine, 29*, 415-419.

Murison, R. (2000a). Gastrointestinal effects. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 2, pp. 191-196). San Diego: Academic Press.

Murison, R. (2000b). Ulceration, gastric. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 3, pp. 631-634). San Diego: Academic Press.

Naesh, O., Haedersdal, C., Hindberg, I., & Trap-Jensen, J. (1993). Platelet activation in mental stress. *Clinical Physiology, 13*, 299-307.

Negrao, A.B., Deuster, P.A., Gold, P.W., Singh, A., & Chrousos, G.P. (2000). Individual reactivity and physiology of the stress response. *Biomedical and Pharmacotherapy, 54*, 122-128.

Paulhan, I., & Bourgeois, M. (1998). *Stress et coping Les stratégies d'ajustement à l'adversité.* Paris: PUF.

Paulhan, I., Nuissier, J., Quintard, B., Cousson, F., & Bourgeois, M. (1994). La mesure du "coping" traduction et validation française de l'échelle de Vitaliano (Vitaliano et al. 1985). *Annales Médico-Psychologiques, 152*(5), 292-299.

Peters, M.L., Godaert, G.L.R., Ballieux, R.E., van Vliet, M., Wilensen, J.J., Sweep, F.C.G.J., & Heijnen, C.J. (1998). cardiovascular and endocrine responses to experimental stress: effects of mental effort and controllability. *Psychoneuroendocrinology, 23*(1), 1-17.

Petrides, J.S., Gold, p.W., Mueller, G.P., Singh, A., Stratakis, C., Chrousos, G.P., & Deuster, P.A. (1997). Marked differences in functioning of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis between groups of men. *Journal of Applied Physiology, 82*(6), 1979-1988.

Porges, S.W. (1995). Cardiac vagal tone: a physiologic index of stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 19*(2), 225-233.

Pruessner, J.C., Gaab, J., Hellhammer, D.H., Lintz, D., Schommer, N., & Kirschbaum, C. (1997). Increasing correlations between personnality traits and cortisol stress responses obtained by data aggregation. *Psychoneuroendocrinology, 22*(8), 615-625.

Rohrmann, S., Hennig, J., & Netter, P. (1999). Changing psychobiological stress reactions by manipulating cognitive processes. *International Journal of Psychophysiology, 33*, 149-161.

Roy, M.P., Kirschbaum, C., & Steptoe, A. (2001). Psychological, cardiovascular, and metabolic correlates of individual differences in cortisol stress recovery in young men. *Psychoneuroendocrinology, 26*, 375-391.

Sapolsky, R.M. (1996). Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: the current state of confusion. *Stress, 1*, 1-19.

Sapolsky, R.M. (1997). McEwen-induced modulation of endocrine history: a partial review. *Stress, 2*(1), 1-12.

Selye, h. (1973). The evolution of stress. *American Scientist, 61*(6), 692-699.

Shaw, W.S., & Dimsdale, J.E. (2000). Type A personnality, type B personnality. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 3, pp. 624-629). San Diego: Academic Press.

Singh, A., Petrides, J.S., Gold, P.W., Chrousis, G.P., & Deuster, P. (1999). Differential hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity to psychological and physical stress. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 84*(6), 1944-1948.

Siren, A., Paakkari, P., Goldstein, D., & Feuerstein, G. (1989). Mechanisms of central hemodynamic and sympathetic regulation by mu opioid receptors: effects of dermorphin in the conscious rat. *J Pharmacol Exp Ther, 248*(2), 596-604.

Spangler, G. (1997). Psychological and physiological responses during an exam and their relation to personnality characteristics. *Psychoneuroendocrinology, 22*(6), 423-441

Sparagon, B., Friedman, M , Breall, W.S., Goodwin, M.L., Fleischmann, N., & Ghandour, G. (2001). Type A behavior and coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis, 156*, 145-149.

Steptoe, A., Willensen, G., Owen, N., Flower, L., & Mohamed-Ali, V. (2001). Acute mental stress elicits delayed increases in circulating inflammatory cytokine levels. *Clinical Science, 101*, 185-192.

Stoney, C.M., & Hughes, J.W. (2001). Catecholamine stress responses in arterialized blood. *Psychophysiology, 38*, 590-593.

Stroop, J.R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology, 28*, 643-662.

Stuss, D.T., Floden, D., Alexander, M.P., Levine, B., & Katz, D. (2001). Stroop performance in focal lesion patients: dissociation of processes and frontal lobe lesion location. *Neuropsychologia, 39*, 771-786.

Suri, R., & Altshuler, L. (2000). Menstrual cycles and stress. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 2, pp. 736-742). San Diego: Academic Press.

Tardy, C.H., & Allen, M.T. (1998). Moderator of cardiovascular reactivity to speech: discourse production and group variation in blood pressure and pulse rate. *International Journal of Psychophysiology, 29*, 247-254.

Thayer, R.E. (1986). Activation-deactivation adjective check list: current overview and structural analysis. *Psychological Reports, 58*, 607-614.

Turpin, G., & Harrison, L. (2000). Electrodermal activity. In G. Fink (Ed.),, *Encyclopedia of stress* (Vol. 2, pp. 23-27). San Diego: Academic Press.

Vaccarino, A. (2001). Endogenous opiates: 2000. *Peptides, 22*, 2257-2328.

Vitaliano, P.P., Russo, J., Carr, J.E., Maiuro, R.D., & Becker, J. (1985). The ways of coping checklist: revision and psychometric properties. *Multivariate Behavioral Research, 20*, 3-26.

Vrijkotte, T.G.M., van Doornen, L.J.P., & de Geus, E.J.C. (2000). Effects of work stress on ambulatory blood pressure, heart rate, and heart rate variability. *Hypertension, 35*, 880-886.

Yehuda, R. (1997). Stress and glucocorticoid. *Science, 275*, 1662-1663.