



HAL
open science

Influence de polymorphismes génétiques sur le sommeil et l'efficacité de la caféine

Mégane Erblang

► **To cite this version:**

Mégane Erblang. Influence de polymorphismes génétiques sur le sommeil et l'efficacité de la caféine. Psychologie et comportements. Université Paris-Saclay, 2020. Français. NNT : 2020UPASW002 . tel-03184111

HAL Id: tel-03184111

<https://theses.hal.science/tel-03184111v1>

Submitted on 29 Mar 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Influence de polymorphismes génétiques sur le sommeil et l'efficacité de la caféine.

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n°566, Science du sport, de la motricité et du mouvement humain (SSMMH)

Spécialité de doctorat : Physiologie

Unité de recherche : Université Paris-Saclay, Univ Evry, Laboratoire de biologie de l'exercice pour la performance et la sante, 91000, Evry-Courcouronnes, France.

Etablissement référent : Université d'Évry Val d'Essonne.

Thèse présentée et soutenue à Evry, le 4 Novembre 2020 par
Madame Mégane ERBLANG

Composition du Jury

Damien Léger

Professeur des universités, Praticien Hospitalier, Centre du sommeil et de la vigilance, VIFASOM, Université de Paris, Paris, France

Président

Irène Margaritis

Professeur des universités, Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, Maison-Alfort, France

Rapporteur & Examinatrice

Nathalie Pattyn

Professeur des universités, Vrije Universiteit Brussel, Bruxelles, Belgique

Rapporteur & Examinatrice

Jean Slawinski

Maître de conférences, HDR, Université Paris Ouest Nanterre La Défense, Paris, France

Examineur

Mounir Chennaoui

HDR, IRBA, Brétigny sur Orge ; EA7330 VIFASOM, Université de Paris, Paris, France.

Invité

Claire THOMAS-JUNIUS

Professeur des Universités, LBEPS, Univ Evry, IRBA, Université de Paris-Saclay, Evry, France.

Directrice de thèse

Fabien SAUVET

Professeur agrégé de l'école du Val-de-Grâce, HDR, IRBA, Brétigny sur Orge ; EA7330 VIFASOM, Université de Paris, Paris, France.

Co-Directeur de thèse

Mme Mégane Erblang a bénéficié d'un statut militaire de volontaire haut niveau du service de santé des armées (VSSA HN) pour la période 2017-2020.

Les travaux présentés dans ce document ont été financés par la Direction Générale de l'Armement (DGA) via un projet Biomedef PDH-1-SMO2-509

REMERCIEMENTS

A Madame le Pharmacien Général Inspecteur Haude Tymen, Directrice de l'institut de recherche biomédicale des armées (IRBA).

A Monsieur le Pharmacien Général Frédéric Dorandeu, directeur adjoint de l'institut de recherche biomédicale des armées (IRBA).

A Monsieur le médecin général Frédéric Canini, Directeur scientifique de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA).

A M. Mounir Chennaoui, Chef de la division Santé du Militaire en Opération de l'IRBA, co-directeur de l'équipe VIFASOM, qui m'a permis d'intégrer l'équipe et de participer à des projets passionnants depuis ma première année de master jusqu'à aujourd'hui.

A Monsieur le Professeur Damien Léger, Chef de Service du Centre National du Sommeil et de la Vigilance de l'Hôtel-Dieu et co-directeur de l'équipe VIFASOM, pour m'avoir permis de mener à bien la préparation de ce doctorat. Un grand merci également à toute son équipe de chercheurs et de techniciens pour avoir contribué à l'obtention de mon diplôme universitaire des technologies du sommeil et de la vigilance durant ma thèse et à ma meilleure compréhension des outils du sommeil.

A Monsieur le Médecin chef Fabien Sauvet, Chef du département Environnements Opérationnels, Chef de l'unité Fatigue et Vigilance et co-directeur de thèse, pour m'avoir aidée durant toutes mes années de thèse, pour ses disponibilités, et pour avoir cru en moi et m'avoir soutenue jusqu'au bout.

A Madame Claire Thomas-Junius, Directrice du département STAPS et du laboratoire de Biologie de l'Exercice pour la Performance et la Santé de l'université d'Evry et directrice de thèse, pour son soutien, son aide et sa confiance qui m'ont permis de mener à bien mon doctorat.

A Madame Irène Margaritis et Madame Nathalie Pattyn, les rapporteurs du jury, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et à Madame Nathalie Koulmann, Monsieur Damien Léger et Monsieur Jean Slawinski, les examinateurs, pour avoir accepté de participer à ce jury.

Aux personnels de l'Ecole doctorale 566, de l'université d'Evry-Paris Saclay, et de l'INSEP ayant contribué à ma candidature et à mon inscription, me permettant de mener à bien ma thèse. A Monsieur le président de l'université d'Evry, pour avoir accepté de me laisser soutenir au sein de l'établissement.

De façon plus personnelle, je tiens à remercier :

Très chaleureusement, Madame Catherine Drogou qui œuvre depuis l'origine du projet. Je te remercie, pour ton accompagnement au quotidien au cours de cette thèse, pour ton savoir-faire et son savoir-être, son aide précieuse dans l'écriture des articles et de la thèse.

Madame Danielle Gomez-Merino. Un immense merci également pour son aide inestimable et rapide sur l'écriture des articles et de la thèse et sa transmission du savoir ainsi que sa disponibilité.

Mes amis et collègues de l'unité Fatigue et Vigilance de l'IRBA, Arnaud Rabat, Pascal Van Beers, Mathias Guillard, Michaël Quiquempoix, Marie-Claire Erkel, Aurélie Trignol, Théo Vanneau et Rodolphe Dorey pour leur contribution, leur dévouement et leur soutien pendant les expérimentations.

Mes autres collègues de l'unité Physiologie de l'exercice et des activités en conditions extrêmes (PEACE) du département Environnement Opérationnel (ENOP) qui ont contribué à ce travail et particulièrement, Benoit Lepetit, Cyprien Bourrilhon, Philippe Colin, Pierre-Emanuel Tardo-Dino, Pierre Fabries et Alexandra Malgoyre.

Toute l'équipe de la cellule Techniques d'optimisation du potentiel (TOP) du Centre national des sport de la défense (CNSD) et particulièrement à André Pisani, Laurent Rocco, Michel Genot, Marc Pernot, pour leur bonne humeur pendant les stages fatigue et leur aide précieuse dans la recherche de volontaires pour les protocoles expérimentaux.

Toute l'équipe du Centre national de recherche en génomique humaine (CNRGH) et particulièrement à Anne Boland, Bertrand Fin, Celine Derbois, Jean Francois Deleuze, Robert Olasso pour leur support technique et leur expertise.

Madame Stéphanie Bérot et Monsieur Arnaud Metlaine du service médical de l'EY de la tour First de la Défense pour leur aide dans le recrutement de participants.

Tous mes collègues doctorants de l'IRBA pour m'avoir encouragée pendant ma thèse et pour nos soirées cohésion. A mes amis et collègues de l'IRBA pour leurs encouragements, leurs conseils et leur bonne humeur.

Tous les volontaires qui ont participé à nos études avec motivation.

Mes proches, conjoint, famille et amis, que je remercie de leur patience et de leur soutien au quotidien. Une pensée à tous mes proches qui sont partis pendant cette période.

PUBLICATIONS

Articles de la thèse indexés dans des revues internationales :

Erblang, M., Drogou, C., Gomez-Merino, D., Metlaine, A., Boland, A., Deleuze, J.F., Thomas, C., Sauvet, F., and Chennaoui, M. (2019). The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association between Caffeine Consumption and Sleep. *Genes* *10*, 1021.

Erblang, M., Sauvet, F., Drogou, C., Quiquempoix, M., Van Beers, P., Guillard, M., Rabat, A., Trignol, A., Bourrilhon, C., Erkel, M-C., Léger, D., Thomas, C., Gomez-Merino, D., and Chennaoui, M. (2020). TNF- α , ADORA2A and PER3 polymorphisms and caffeine efficiency on neurobehavioral performance during sleep deprivation: a randomized, cross over study. **en révision.**

Drogou, C., Sauvet, F., **Erblang, M.**, Detemmerman, L., Derbois, C., Erkel, M-C., Boland, A., Deleuze, J-F., Gomez-Merino, D., Chennaoui, M. (2020). Genotyping on blood and buccal cells using loop-mediated isothermal amplification in healthy humans. *Biotechnology Reports* *26*, e00468.

Quiquempoix, M., **Erblang, M.**, Vergez, A., M., Van Beers, P., Guillard, M., Trignol, A., Drogou, C., Gomez-Merino, D., Léger, D., Chennaoui, Sauvet, F., Rabat, A. (2020). Time-on-task deficits during total sleep deprivation with and without caffeine. **en preparation.**

Autres articles indexés dans des revues internationales :

Sauvet, F., Arnal, P.J., Tardo-Dino, P.-E., Drogou, C., Van Beers, P., **Erblang, M.**, Guillard, M., Rabat, A., Malgoyre, A., Bourrilhon, C., Léger, D., Gomez-Merino, D., Chennaoui, M. (2020). Beneficial effects of exercise training on cognitive performances during total sleep deprivation in healthy subjects. *Sleep Medicine* *65*, 26-35.

Rabat, A., Arnal, P.J., Monnard, H., **Erblang, M.**, Van Beers, P., Bougard, C., Drogou, C., Guillard, M., Sauvet, F., Leger, D., Gomez-Merino, D., Chennaoui, M. (2019). Limited Benefits of Sleep Extension on Cognitive Deficits During Total Sleep Deprivation: Illustration With Two Executive Processes. *Frontiers in Neuroscience* *13*, 591.

Sauvet, F., **Erblang, M.**, Gomez-Merino, D., Rabat, A., Guillard, M., Dubourdieu, D., Lefloch, H., Drogou, C., Van Beers, P., Bougard, C., Bourrilhon, C., Arnal, P., Rein, W., Mouthon, F., Brunner-Ferber, F., Leger, D., Dauvilliers, Y., Chennaoui, M., Charveriat, M. (2019). Efficacy of TNH102 (a combination of modafinil and flecainide) on vigilance and cognition during 40-hour total sleep deprivation in healthy subjects: Glial connexins as a therapeutic target. *British Journal of Clinical Pharmacology* *85*, 1-11.

Debellemaniere, E., Gomez-Merino, D., **Erblang, M.**, Dorey, R., Genot, M., Perreaut-Pierre, E., Pisani, A., Rocco, L., Sauvet, F., Léger, D., Rabat, A., Chennaoui, M. (2018). Using relaxation techniques to improve sleep during naps. *Industrial Health* *56*, 220-227.

Arnal, P., Lapole, T., **Erblang, M.**, Guillard, M., Bourrilhon, C., Léger, D., Chennaoui, M., Millet, G.Y. (2016) Sleep Extension before Sleep Loss: Effects on Performance and Neuromuscular Function. *Medicine & Science in Sports and Exercise* *48*, 1595-603.

VALORISATION DES TRAVAUX DE RECHERCHES

Présentation orale en congrès/colloques internationaux :

Erblang, M., Guillard, M., Rabat, A., Gomez-Merino, D., Drogou, C., Sauvet, F., Thomas, C., Chennaoui, M. (2020). Genetic polymorphisms influence on sustained attention and sleepiness before and during total sleep deprivation in healthy subjects [communication]. 5^{ème} édition de l'international congress on soldiers' physical performance, Quebec, Canada.

Présentations en congrès/colloques nationaux :

Erblang, M., Drogou, C., Gomez-Merino, D., Rabat, A., Guillard, M., Van Beers, P., Quiquempoix, M., Deleuze, J.F., Boland, A., Olasso, R., Derbois, C., Rocco, L., Pisani, A., Thomas, C., Sauvet, F., Chennaoui, M. (2019). Influence des polymorphismes génétiques sur la somnolence et l'attention soutenue lors d'une privation totale de sommeil chez le sujet sain [affiche].

Poster présenté lors du Congrès annuel du sommeil (SFRMS), Lille, France ; Lors de la journée des doctorants à l'université de Paris, Paris, France ; Lors de la journée des doctorants à l'école doctorale 566 « science du sport, de la motricité et du mouvement humain » - Université Paris Saclay, Orsay, France.

Erblang, M. (2017-2020). Polymorphismes génétiques, sommeil et efficacité de la caféine [communication]. Journée des doctorants annuelle de l'institut de recherche biomédicale des armées (IRBA), Brétigny-sur-orge, France.

FORMATIONS EN LIEN AVEC LA RECHERCHE

Diplôme d'université (DU) « Les technologies du sommeil et de la vigilance », Université de Paris, France.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| LISTE DES ABBREVIATIONS..... | 9 |
| INTRODUCTION GENERALE..... | 10 |
| ETAT DE L'ART | 13 |
| I. Généralités sur le sommeil..... | 13 |
| I.1. Définition et structure du sommeil..... | 13 |
| I.2. Les fonctions du sommeil..... | 15 |
| I.3. Le cycle veille/sommeil..... | 19 |
| I.4. Les troubles du sommeil..... | 23 |
| I.5. La dette de sommeil | 25 |
| I.6. Les contre-mesures existantes | 32 |
| II. La caféine | 36 |
| II.1 La structure | 36 |
| II.2 La consommation de caféine..... | 36 |
| II.3 Le métabolisme de la caféine | 39 |
| II.4 Les mécanismes d'actions de la caféine | 41 |
| II.5 Les effets de la caféine | 45 |
| III. La variabilité interindividuelle de la durée et de la structure du sommeil, des réponses neurocomportementales à la dette de sommeil, et des effets de la caféine..... | 54 |
| III.1. Généralité : la génétique | 54 |
| III.2. Implication des polymorphismes génétiques dans la dette de sommeil et les effets de la caféine | 57 |
| III.3. Implication des polymorphismes génétiques dans la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la caféine..... | 65 |
| III.4. Autres variabilités interindividuelles liées à la dette de sommeil et à la caféine..... | 66 |
| III.5. Autres variabilités interindividuelles de la caféine | 68 |
| OBJECTIFS ET HYPOTHESES..... | 71 |

| | |
|--|-----|
| TRAVAIL EXPERIMENTAL | 72 |
| IV. Etude n°1 : Effets des polymorphismes génétiques sur les troubles du sommeil et la consommation de caféine | 73 |
| IV.1. Objectifs de l'étude | 73 |
| IV.2. Matériels et méthodes | 73 |
| IV.3. Résultats | 76 |
| IV.4. Discussion | 89 |
| V. Etude n°2 : Polymorphismes génétiques et efficacité de la caféine sur les performances au cours de la privation totale de sommeil, chez le sujet sain ». Etude contrôlée versus placebo, en cross over, randomisée et en double aveugle | 99 |
| V.1. Objectifs de l'étude | 99 |
| V.2. Matériels et méthodes | 99 |
| V.3 Résultats..... | 109 |
| V.4. Discussion | 133 |
| DISCUSSION GENERALE..... | 147 |
| CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES..... | 152 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 155 |
| ANNEXES..... | 178 |

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADA : adénosine désaminase

ADORA2A : gène du récepteur A2A, récepteur de l'adénosine

ATP : adénosine triphosphate

CLP : caféine à libération prolongée

EEG : électro-encéphalogramme

GH : *growth hormone* ; hormone de croissance

IL : interleukine

KSS : *karolinska sleepiness scale* ; échelle de somnolence de Karolinska

NA : noradrénaline

NREMS : *non rapid eye movement sleep* ; sommeil lent sans mouvement oculaire rapide

NSC : noyau suprachiasmatique

PTS : privation totale de sommeil

PVT : *psychomotor vigilance task* ; test de vigilance psychomotrice

REM : *rapid eye movement* ; sommeil paradoxal avec mouvement oculaire rapide

SWS : *slow wave sleep* ; ondes lentes du sommeil

SNP : *single nucleotid polymorphism* ; polymorphisme d'un seul nucléotide

TMN : *tuberomammillary nucleus* ; noyau tubéro mamillaire

TNF- α : *tumor necrosis factor* ; facteur de nécrose tumorale

COMT : catéchol-O-méthyltransférase

TST : *total sleep time* ; temps total de sommeil

UTR : *untranslated region* ; région transcrite non traduite

VLPO : noyau ventrolatéral pré optique

INTRODUCTION GENERALE

Dormir nous est indispensable. Pourtant, plus d'un tiers des français dorment mal ou pas assez, du fait de leurs habitudes de vie, de l'utilisation des écrans (téléphone, ordinateur), du travail de nuit, de la consommation de caféine... (Léger et al., 2019). Une étude récente sur 12637 participants a montré qu'en moyenne le temps total de sommeil des français était inférieur à 7 heures par nuit avec plus de 35% en dette de sommeil (Léger et al., 2019). Cette dette de sommeil est très présente dans de nombreux métiers qui imposent des activités en horaires atypiques, tels que les métiers de la défense, de la sécurité, des transports, de la santé, de la communication, de l'énergie.

En particulier, les militaires en opération sont soumis à des dettes de sommeil très importantes, associées à des contraintes climatiques, nutritionnelles, psychiques, et à des charges physiques et mentales. De plus, les environnements opérationnels du militaire sont des ennemis du sommeil (Good et al., 2020). Les militaires sont confrontés à des éveils prolongés avec des privations totales de sommeil lors d'opérations soutenues et/ou une restriction de sommeil en opérations continues, mais aussi à un sommeil diurne entraînant une altération des rythmes et enfin à une mauvaise qualité de sommeil engendrée par des conditions de sommeil inappropriées, du stress, la consommation de caféine, la lumière, du bruit... (Good et al., 2020).

Les conséquences directes de cette dette de sommeil sont dans un premier temps une dégradation des performances cognitives (Lieberman et al., 2005 ; Killgore, 2010 ; Goel et al., 2009a ; Arnal et al., 2015 ; Rabat et al., 2019) et physiques (Daaloul et al., 2018 ; Souissi et al., 2003). Les répercussions de cette dette chronique de sommeil pourraient également entraîner une augmentation du risque d'accidents et de blessures (Connor et al., 2001) et vont multiplier le risque de survenue de pathologies cardiovasculaires et métaboliques (Von Ruesten et al., 2012). Lorsqu'elles deviennent chroniques, ces dettes de sommeil vont entraîner des modifications des réponses neuro-immuno-endocriniennes, métaboliques, inflammatoires et cardiovasculaires (Marshall et al., 2002, Meerlo et al., 2008 ; Sauvet et al., 2010 ; Chennaoui et al., 2011).

Afin de limiter ces effets délétères de la dette de sommeil, l'une des contre-mesures non pharmacologiques la plus utilisée est la caféine. La caféine est la substance psychoactive la plus consommée dans le monde.

La caféine est utilisée pour prévenir la dégradation des performances cognitives dans certains secteurs professionnels en horaires atypiques (travailleurs de nuit, militaires en opération, conducteur routier, pilote de ligne, etc.) (McLellan et al., 2016).

Les français consomment environ 240 mg de caféine par jour, soit l'équivalent de 2 à 4 expressos (un expresso contenant entre 60 et 99 mg de caféine). D'après *l'International coffee organization (2015)* sa consommation doublera en 20 ans, avec une augmentation des prix et le développement de substances chimiques alternatives. La caféine peut être consommée sous plusieurs formes, la plus connue étant le café qui est la deuxième boisson la plus consommée au monde après l'eau. Elle présente de nombreux effets bénéfiques pour la santé.

Les militaires sont également de forts consommateurs de caféine en raison de sa facilité d'accès et de son effet éveillant. Son usage « stratégique » est même recommandé dans de nombreuses armées. Sous sa forme galénique à libération prolongée (Caféine LP 300 mg), elle est le seul médicament augmentant la vigilance et autorisée au sein des armées françaises¹. De plus, l'emploi de la caféine dans le milieu sportif, dont l'usage n'est plus interdit, est très populaire (Rosenbloom, 2014, Desbrow et Leveritt, 2006). Il est connu que la fatigue, induite par le manque de sommeil ou par des efforts importants, est associée à une diminution des performances physiques (Arnal et al., 2016a, Souissi et al., 2003, 2014). L'utilisation de la caféine peut permettre d'améliorer la performance en endurance, en force et de diminuer la perception de la fatigue à l'effort (Azevedo et al., 2016 ; Diaz-Lara et al., 2016, Smirmaul et al., 2017). De plus, la caféine a des effets bénéfiques sur la réponse inflammatoire, l'activité musculaire, la sensibilité à l'insuline, le risque cardiovasculaire, la prise pondérale, la neuroprotection, la douleur chronique, etc (Higdon et Frei 2006).

Cependant, sa consommation n'est pas sans risque. En effets, elle est également associée à de nombreux effets secondaires tels que l'anxiété, les troubles du sommeil... (Killgore et al., 2008 ; Chaudhary et al., 2016). D'autre part, des études montrent que la caféine est considérée comme un facteur de risque de certaines pathologies tels que des risques cardiovasculaires, de l'ostéoporose ou encore des complications durant la grossesse (Higdon et Frei 2006). Par conséquent, de nombreux auteurs recommandent de limiter son usage.

De plus, il existe une grande variabilité interindividuelle des réponses neurocomportementales à la privation de sommeil, aux troubles du sommeil, et aussi aux effets de la caféine. Cette variabilité

¹ IM n°744, instruction ministérielle relative à l'utilisation militaire de substances modifiant la vigilance

peut être liée à l'âge, au sexe, à la consommation habituelle de café, au tabagisme, mais aussi à des polymorphismes génétiques (Clark et al., 2016, Goel et al., 2017, Bodenman et al. 2012 ; Satterfield et al., 2019). En effet, de multiples polymorphismes sont associés à des modifications de la pharmacocinétique (métabolisme) ou de la pharmacodynamie (efficacité) de la caféine (Clark et Landolt, 2016) mais également à la vulnérabilité neurocomportementale à la dette de sommeil (Goel, 2017 ; Satterfield et al., 2019). Par conséquent, sa consommation doit être mieux encadrée.

La première partie de ce travail reposera sur une revue de littérature sur le rôle et la régulation du sommeil, la caféine et ses fonctions, et la variabilité interindividuelle. Puis notre travail présentera les principaux résultats expérimentaux réalisés au cours des deux études chez la personne humaine, et seront suivis d'une discussion générale. Celle-ci servira de support pour les perspectives qui peuvent être dégagées de ce travail.

I. Généralités sur le sommeil

I.1. Définition et structure du sommeil

Le sommeil, qui représente plus d'un tiers de notre vie, est essentiel au bon fonctionnement de notre organisme. En effet, la perturbation du sommeil va engendrer des conséquences sur les performances cognitives et physiques, sur l'humeur, sur les réponses métaboliques, immuno-inflammatoires et cardiovasculaires et donc sur la santé. Le sommeil est déterminant pour la croissance, la mémorisation, la maturation cérébrale, l'immunité, la réparation tissulaire, mais il est surtout indispensable à la récupération de la fatigue physique et cognitive.

Le sommeil est un état-réversible de suspension partielle et périodique des rapports sensitifs et moteurs d'un être vivant avec son environnement. Il s'oppose à l'état d'activité et se définit selon différents critères : la baisse des activités motrices, l'augmentation des seuils de réponses sensorielles, et la modification des mouvements respiratoires, du rythme cardiaque et de l'amplitude des ondes cérébrales. C'est une période de repos de l'organisme de 5 à 8 heures sur 24-h préférentiellement en nocturne. Cette période de sommeil est constituée de 4 à 6 cycles d'environ 90-120min dans lesquels on distingue différents stades : les stades 1 et 2 qui constituent le sommeil lent léger, le stade 3 correspondant au sommeil lent profond suivi du sommeil paradoxal. Ces stades 1, 2, et 3 sont aussi appelés le *non rapid eye movement sleep* (NREMS) et le sommeil paradoxal appelé le *rapid eye movement* (REM) (Colten et al., 2006).

La méthode de référence pour étudier le sommeil est la polysomnographie (PSG) qui inclut la mesure de l'activité cérébrale (enregistrement de l'EEG, électro-encéphalogramme), de l'EOG (électro-oculogramme), de l'EMG (électro-myogramme) et de l'ECG (électro-cardiogramme) par électrodes de surface (Iber et al., 2007). L'EEG étudie la sommation des potentiels post-synaptiques (exciteurs et inhibiteurs) issus d'un grand nombre de neurones situés sous la zone corticale. Au cours d'une nuit normale, un adulte passe moins de 5% sur le temps total de sommeil en stade 1, environ 45% à 55% en stade 2, 20 à 25% en stade 3 et 20 à 25% en sommeil paradoxal. Chacun de ces stades possède des caractéristiques qui lui sont propres. Ces stades sont caractérisés par différents critères (Schmitz et al., 2016) (figure 1) :

- **L'éveil**, avec yeux ouverts, est caractérisé par la présence d'activité EEG désynchronisée, rapide et de faible amplitude correspondant aux bandes de fréquence bêta (13-29,75Hz) et gamma

(>30Hz). Cependant, l'éveil calme, avec yeux fermés, va être caractérisé par une activité EEG ralentie correspondant à la bande de fréquence alpha (8-12Hz). De plus, pendant l'éveil, le tonus musculaire est élevé et les mouvements oculaires rapides.

- **Le stade 1** correspond à une activité EEG qui va ralentir par rapport à l'éveil calme (yeux fermés) en passant progressivement au rythme thêta (4-8Hz). Le tonus musculaire diminue par rapport à l'éveil calme et les mouvements oculaires sont lents. Ce stade est une transition entre l'éveil et le sommeil.

- **Le stade 2** correspond à une activité EEG toujours désynchronisée avec un ralentissement par rapport au stade 1 combiné avec des grapho-éléments : les spindles ou fuseaux (rythme fusiforme 12-14Hz d'une durée de 0,5 sec) et les complexes K (ondes biphasiques d'une durée supérieure à 0,5 sec). Le tonus musculaire diminue par rapport au stade 1 et on observe une absence de mouvement oculaire. Ce stade correspond à un sommeil léger.

- **Le stade 3** correspond à une activité EEG ralentie, synchronisée avec un tonus musculaire faible et un ECG ralenti. Les ondes sont particulièrement amples (amplitude supérieure à 75 μ V). Ce stade correspond à la bande delta (1-3Hz) et convient à un sommeil profond.

- **Le sommeil paradoxal ou rapid eyes movements (REM)** correspond à une activité EEG rapide, désynchronisée et de faible amplitude. Ce stade est particulièrement caractérisé par des mouvements oculaires rapides et une atonie musculaire. Il est présent en fin de nuit.

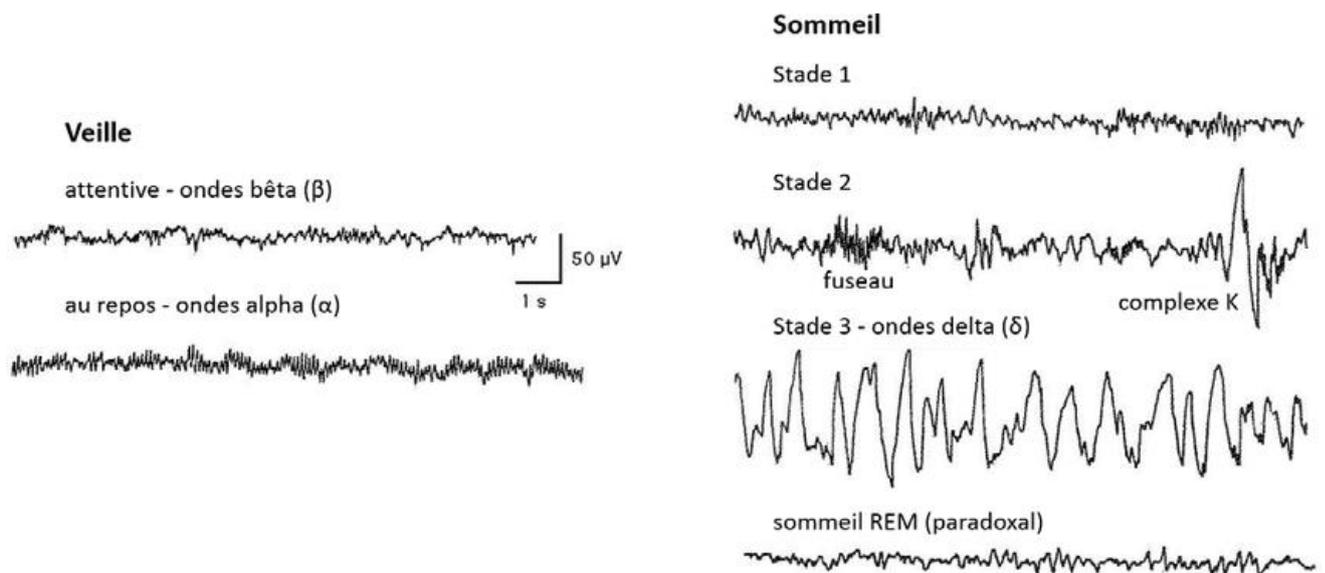


Figure 1. Les différentes ondes cérébrales observées en EEG (Schmitz et al., 2016).

Les stades de sommeil s'organisent différemment au cours d'une nuit, c'est ce qu'on appelle l'architecture du sommeil. Après le stade 1, le dormeur passe en stade 2 progressivement jusqu'au stade 3 puis en sommeil paradoxal. Ceci correspond à un cycle de sommeil qui va se renouveler jusqu'à la fin de la nuit avec des réveils brefs entre chaque cycle. Le stade 3 va prédominer généralement en première partie de nuit, dans les premiers cycles de sommeil et le sommeil paradoxal qui va, à l'inverse, prédominer plutôt dans les derniers cycles, à la fin de la nuit. Cette architecture est représentée à l'aide d'un hypnogramme (figure 2).

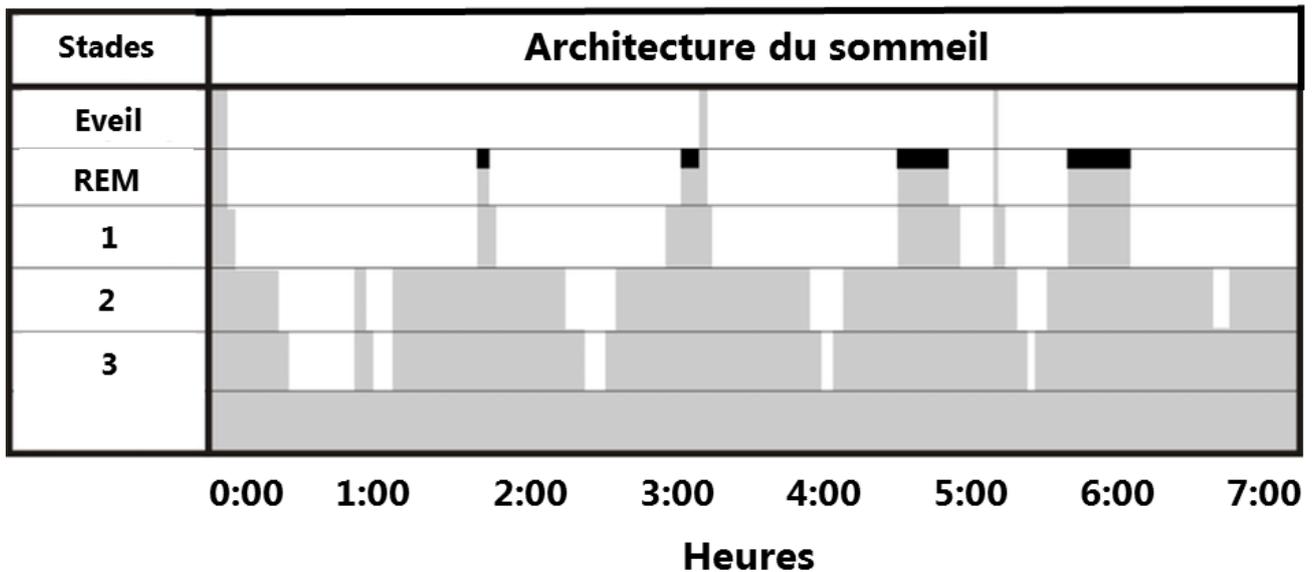


Figure 2. Architecture d'un sommeil normal d'un individu en bonne santé (adaptée de Hawkes, 2017).

1.2. Les fonctions du sommeil

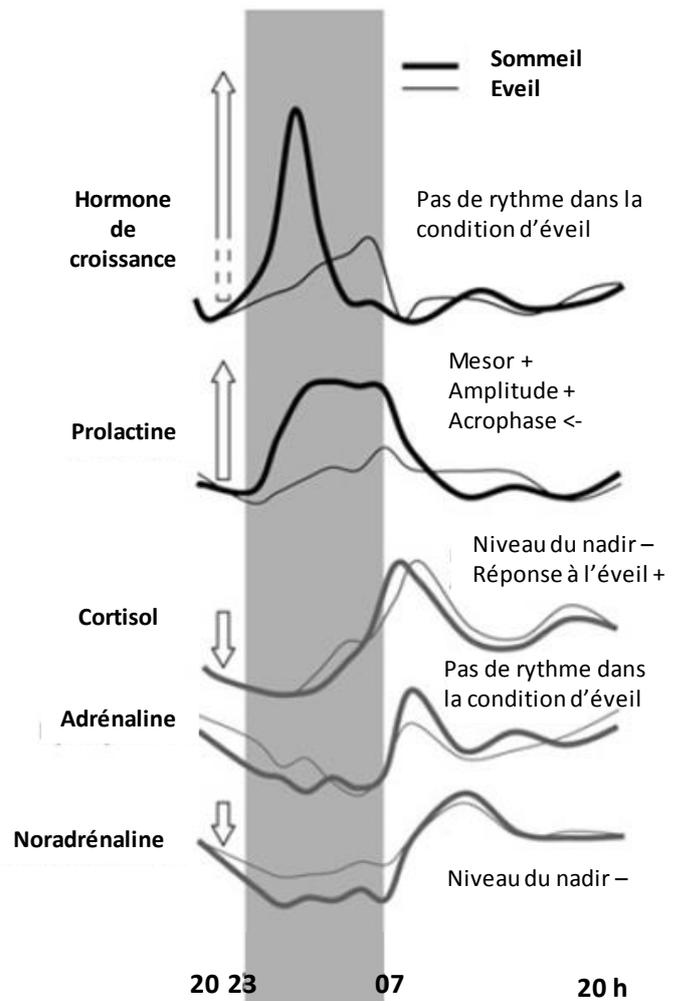
Bien que le sommeil ait été étudié pendant des décennies, la question fondamentale de savoir pourquoi nous devons dormir est encore partiellement sans réponse. Plus précisément, il existe différentes fonctions du sommeil ou de la mise au repos de l'organisme pendant le sommeil qui peuvent être regroupées en différentes catégories : endocrinienne, métabolique et énergétique, immunitaire, glymphatique et synaptique (Krueger et al. 1984, Benington et Heller., 1995, Tononi et al., 2006, Porkka-Heiskanen et al. 2013, Besedovsky et al., 2012, Irwin et Opp, 2017, Schmitz et al., 2016).

1.2.a. Fonction endocrinienne, métabolique et énergétique

L'une des hypothèses impliquerait le rôle du sommeil et particulièrement du sommeil profond, dans la libération d'hormones, comme l'hormone de croissance, la prolactine et la rénine (Morgan et Tsai, 2015). Une étude a montré que l'hormone de croissance (GH) et la prolactine atteignent leur pic de

concentration pendant la nuit alors qu'à l'inverse la libération des hormones de stress (tel que le cortisol) est supprimée durant la nuit de sommeil (Figure 3) (Lange et al 2010). La sécrétion de GH est particulièrement associée avec les ondes lentes bien que sa sécrétion se produit également en l'absence d'onde lente. La sécrétion de prolactine augmente en début de nuit jusqu'à atteindre son pic au milieu de la période de sommeil. Le cortisol, soumis au rythme circadien, atteint son pic de sécrétion tôt le matin et diminue pendant la journée (Van Couter et al., 1991). La mélatonine, qui est l'hormone du sommeil, est dépendante du cycle de lumière/obscurité et est libérée le soir avant d'atteindre son pic tôt le matin. Sa production et sa libération sont contrôlées par la glande pinéale et sa production est supprimée lors de l'exposition à la lumière du jour (Burgess et al., 2010). De plus, il existe une relation entre le sommeil, l'insuline et le contrôle du glucose. Une diminution de la tolérance au glucose est observée pendant la nuit. Bien qu'une diminution du métabolisme du glucose se produit pendant le NREMS, il a été observé une augmentation de son métabolisme également pendant l'éveil et le sommeil paradoxal (Boyle et al., 1994). Ces études démontrent le lien entre le sommeil et système endocrinien.

Figure 3. Effet du sommeil et du système circadien sur les systèmes neuroendocriniens. Concentrations de l'hormone de croissance (GH), de la prolactine, du cortisol, de l'adrénaline et de la noradrénaline chez des sujets sains pendant 24h dans une condition de sommeil normal et une condition de privation de sommeil (Lange et al 2010).



Au niveau énergétique, le sommeil a un rôle crucial dans la restauration des stocks énergétiques cérébraux modifiés par l'éveil (Benington et Heller., 1995, Petit et al., 2015). Le sommeil permet la reconstitution des réserves d'énergie sous forme de glycogène cérébral. La production d'ATP (adénosine triphosphate), issue du catabolisme du glucose, est la molécule la plus importante de l'énergétique cellulaire (Dworak et al., 2010). L'ATP est un nucléotide formé d'un nucléoside, l'adénosine, dont la

fonction alcool a été estérifiée par une chaîne comportant trois molécules d'acide phosphorique unies entre elles par deux liaisons dites pyrophosphoriques, qui vont, lors de leur hydrolyse, libérer beaucoup d'énergie. Une consommation de glucose moins élevée est observée pendant le sommeil lent profond par rapport à l'éveil. De plus, la concentration d'ATP est positivement corrélée à l'amplitude des ondes lentes résultant en une moindre consommation de la synchronisation des neurones et donc à une augmentation de la concentration d'ATP (Dworak et al., 2011).

1.2.b. Fonction immuno-inflammatoire

De nombreuses études ont montré que le cycle veille-sommeil est associé aux paramètres immunitaires tels que le nombre de leucocytes, leur fonction et leur prolifération ainsi qu'à la production de cytokines (Besedovsky et al., 2012, Irwin et Opp., 2017 ; Besedovsky et al., 2019, Lange et al., 2010, Krueger, 2008, Dimitrov et al., 2015). Le nombre de cellules T naïves indifférenciées et la production de cytokines pro-inflammatoires augmentent pendant une nuit de sommeil, alors qu'à l'éveil pendant la journée il est observé une augmentation du nombre circulant de cellules immunitaires comme les cellules NK (Natural Killer) cytotoxiques et de l'activité de cytokines anti-inflammatoires (Besedovsky et al., 2012). L'activation de la réponse immunitaire va se faire à travers une cascade de signalisation inflammatoire activant les facteurs de transcription du facteur nucléaire-kB (NF-kB) qui va conduire à la transcription des gènes de réponses immunitaires pro-inflammatoires, tels que TNF- α et IL-1 β , à la traduction et à la production de ces cytokines pro-inflammatoires (Irwin et al., 2016). La cytokine pro-inflammatoire, TNF- α , est impliquée dans le cycle veille/sommeil (Krueger, 2008). Une injection exogène d'une faible quantité de TNF- α induit le NREMS (Krueger, 2001). D'ailleurs après une nuit de sommeil normal, le taux de TNF- α diminue (Irwin et Opp., 2017, Rockstrom et al., 2018). Chez des malades, le taux de TNF- α circulant est plus élevé que chez des personnes saines, entraînant une somnolence excessive (Vgontzas et al., 1997). D'autres cytokines, IL-6 et IL-1 β sont aussi impliquées dans la régulation du sommeil (Krueger, 2008, Besedovsky et al., 2019). En effet, l'administration exogène d'IL-1 β entraîne aussi une augmentation de NREMS et à l'inverse, lorsqu'IL-1 β est inhibé cela engendre une diminution du sommeil (Krueger et al., 1998). Aussi, le taux élevé d'IL-6 a été associé avec une perturbation du sommeil et une durée plus élevée (Irwin et al., 2016). Les taux circulants d'IL-1 β , de TNF- α et d'IL-6 ont un pic dans la nuit ou tôt le matin (Lange et al., 2010). Ces multiples études renforcent bien le rôle primordial de l'inflammation dans le sommeil.

1.2.c. Fonction glymphatique

Le sommeil assure une fonction glymphatique qui va être responsable de l'élimination des déchets cellulaires dans le cerveau. En effet, le cerveau, comme tous les organes, va produire des déchets

et des toxines qui doivent être évacués, comme les métabolites issus de la dégradation de substances, par exemple le glycogène, lors de l'éveil. Xie et al (2013) émettent le fait que le sommeil permet d'évacuer ces métabolites. Chez la souris, le sommeil est associé à une augmentation de l'espace interstitiel, une augmentation des échanges avec le liquide cébrospinal et de la clairance des métabolites comme la protéine β -amyloïde (Xie et al., 2013). Chez l'homme, la présence de β -amyloïde au niveau cortical a été associée avec le sommeil (Mander et al., 2015).

1.2.d. Fonction d'homéostasie synaptique

Pendant le sommeil, les sollicitations du cerveau vont diminuer et permettre aux synapses d'organiser et de trier les souvenirs pour que l'on mémorise mieux, participant ainsi à la plasticité cérébrale. Il est connu que le sommeil, en particulier les ondes lentes, participe aux processus de consolidation en mémoire de nouvelles informations avec pour fonction la promotion de la plasticité cérébrale qui est le fondement des processus d'encodage, de restructuration, de consolidation, de stockage en mémoire des informations et donc d'apprentissages. (Tononi et al., 2006, Diekelmann et Born., 2010, Schmitz et al., 2016). Plusieurs études ont montré une amélioration de l'apprentissage et de la mémorisation après une nuit de sommeil (Diekelmann et Born., 2010) alors que la performance cognitive se dégrade au cours d'une période d'éveil prolongée (Goel et al. 2009a) et qu'elle est restaurée de façon dose-dépendante par le sommeil (Banks et al. 2010). Différentes approches multidisciplinaires existent pour expliquer la consolidation d'informations en mémoire pendant le sommeil, en particulier le modèle de l'homéostasie synaptique. Ce modèle suggère que la consolidation mnésique est la résultante d'un processus de recalibrage synaptique durant le sommeil. Lors de l'éveil, l'acquisition de nouvelles informations entraîne une augmentation de l'activité synaptique induisant une consommation d'énergie plus élevée des régions cérébrales impliquées dans l'apprentissage (Tononi et al., 2006, Tononi et al., 2014). Ces phénomènes entraînent la saturation du réseau neuronal associé et une diminution de la plasticité cérébrale induisant une augmentation, par la suite, des ondes lentes. Ces événements seraient moins importants au cours du sommeil (NREM) restaurant ainsi la plasticité cérébrale par l'activité d'onde lente. Cette activité va favoriser le processus de dépolarisation et repolarisation synaptique permettant la diminution de la force synaptique et ainsi d'éviter une saturation de la capacité d'apprentissage (Tononi et al., 2006).

1.3. Le cycle veille/sommeil

Le rythme circadien (appelé processus C) est un rythme biologique qui dure environ 24 h. Le plus connu est le cycle veille/ sommeil. (Borbély 1982). Le processus C va avoir un signal d'éveil qui va augmenter au cours de la journée puis diminuer au cours de la nuit, indépendamment du sommeil. (Beersma et al., 2007). Ce rythme veille/sommeil est déterminé de manière endogène grâce à une horloge biologique interne. Cette horloge est principalement régulée par le noyau suprachiasmatique (NSC), une zone de l'hypothalamus, qui est en relation avec les neurones promoteurs du sommeil lent du noyau ventrolatéral pré-optique (VLPO) (Saper et al., 2005). Il existe quand même des synchronisateurs qui vont moduler cette horloge biologique : l'alternance lumière/ obscurité, le bruit, la température corporelle, la prise alimentaire peuvent également jouer sur le cycle veille/sommeil. De plus, de nombreux acteurs de l'horloge moléculaire sont impliqués dans le rythme circadien tels que l'expression des gènes Périod (Per1, Per2, Per3), les Cryptochromes (Cry1 et Cry2) ainsi que deux protéines (CLOCK et BMAL) (Franken et al., 2009).

Le processus homéostatique (appelé processus S) représente le besoin de sommeil qui augmente en fonction du temps passé en éveil et diminue pendant le sommeil. Plus la personne veille, plus la pression de sommeil, c'est-à-dire le besoin irrésistible de dormir, est élevée et à l'inverse, pendant le sommeil, la pression de sommeil décroît (Beersma et al., 2007).

Un modèle considère l'alternance entre l'éveil et le sommeil qui résulte de ces deux processus S et C (Daan et al., 1984). Selon ce modèle, le processus S est régulé et contrôlé par le processus C, mais aussi par d'autres influenceurs tels que l'hygiène de vie (alimentation, travail de nuit), la qualité du lieu de sommeil (lumière, bruit, confort, température) et l'état de santé (prise de médicament, stress, douleur). La pression des processus S et C s'accumule au nadir du rythme circadien (Figure 4).

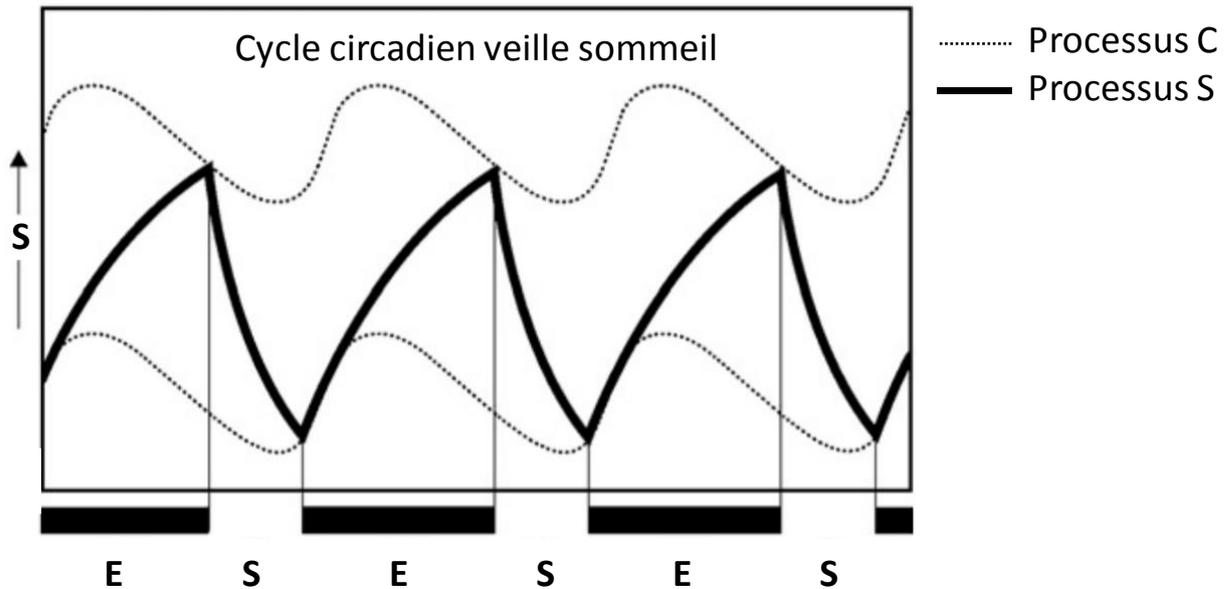


Figure 4. *Modèle des deux processus de régulation du cycle veille/sommeil. Le processus S représente le besoin de sommeil qui augmente au cours de l'éveil (E) et diminue pendant le sommeil (S). Sa variation est limitée par le processus circadien C (ligne pointillée) qui varie en fonction de l'heure de la journée. (Adaptée de Beersma et al., 2007)*

L'équilibre entre les systèmes du sommeil et de l'éveil est principalement régulé par l'adénosine (Porkka-Heiskanen, 2000), ainsi que par les cytokines pro-inflammatoires TNF- α et l'interleukine-1 (Krueger et al. 2008). L'adénosine, issue de la dégradation de l'ATP, et plus particulièrement ses récepteurs (A1, A2A, A2B, A3) vont avoir un rôle crucial dans la régulation du cycle veille/sommeil, avec une augmentation de sa concentration au cours de l'éveil prolongé (Huang et al., 2011). Ces quatre récepteurs sont couplés à la protéine G, et plus spécifiquement, les récepteurs A1 et A3 sont couplés à la famille Gi alors que les récepteurs A2A et A2b sont couplés aux Gs (Fredholm et al., 1988, 2005). Des études ont montré l'implication plus particulière des récepteurs A1 et A2A dans l'induction du sommeil par l'adénosine (Huang et al., 2011, Fredholm et al., 2005). Les récepteurs A1 sont fortement exprimés dans le cortex, l'hippocampe et le cervelet. Chez l'homme, un éveil prolongé va entraîner une up-régulation du récepteur A1 (Elmenhorst et al., 2007). Pour le récepteur A2A, une forte concentration dans le striatum, le noyau accumbens et le bulbe olfactif a été démontrée (Fredholm et al., 2005). Chez l'animal, l'administration d'agoniste aux récepteurs A2A induit une augmentation du sommeil NREM (Satoh et al., 1996). Chez l'homme, le polymorphisme du gène du récepteur A2A est impliqué dans la variabilité interindividuelle des réponses du sommeil et de la caféine (Rétey et al., 2007, Bodenmann et al., 2012). L'activation des récepteurs A2A dans les cellules leptoméninges ou dans le noyau accumbens augmente l'activité du VLPO permettant l'induction du sommeil par inhibition des structures de l'éveil (Scammell et al., 2001). Le taux d'adénosine est diminué en partie par l'enzyme adénosine désaminase

(ADA) qui est particulièrement présente lorsqu'il y a un niveau élevé d'adénosine (Figure 5). Le récepteur A_{2A} est colocalisé avec les récepteurs à la dopamine DRD2 (Missale et al., 1998) qui est impliqué, à l'inverse, dans le maintien d'éveil (Qu et al., 2010). L'implication des récepteurs A_{2A} et D2 est importante dans la régulation du cycle veille/sommeil, de manière différente.

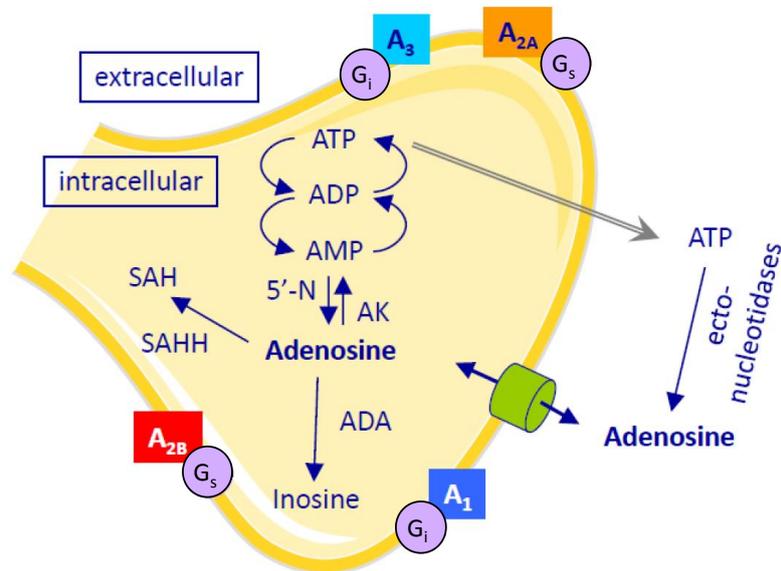


Figure 5. Représentation de la formation, du métabolisme et du transport de l'adénosine au niveau neuronal (Urry et Landolt, 2015)

Il est également connu que la régulation du cycle veille/sommeil est régulée par les structures du tronc cérébral et de l'hypothalamus. Selon le modèle « flip-flop » (Figure 6), les neurones du VLPO inhibent les neurones de la veille pendant le sommeil et les neurones de la veille inhibent ceux du noyau ventrolatéral pré optique pendant la veille (Saper et al., 2005). Ce modèle est basé sur une inhibition réciproque entre le système du sommeil, représenté par le VLPO, et le système d'éveil, représenté par le noyau tubéro-mamillaire (TMN), le noyau locus coeruleus (LC) et le noyau raphé dorsal (RD).

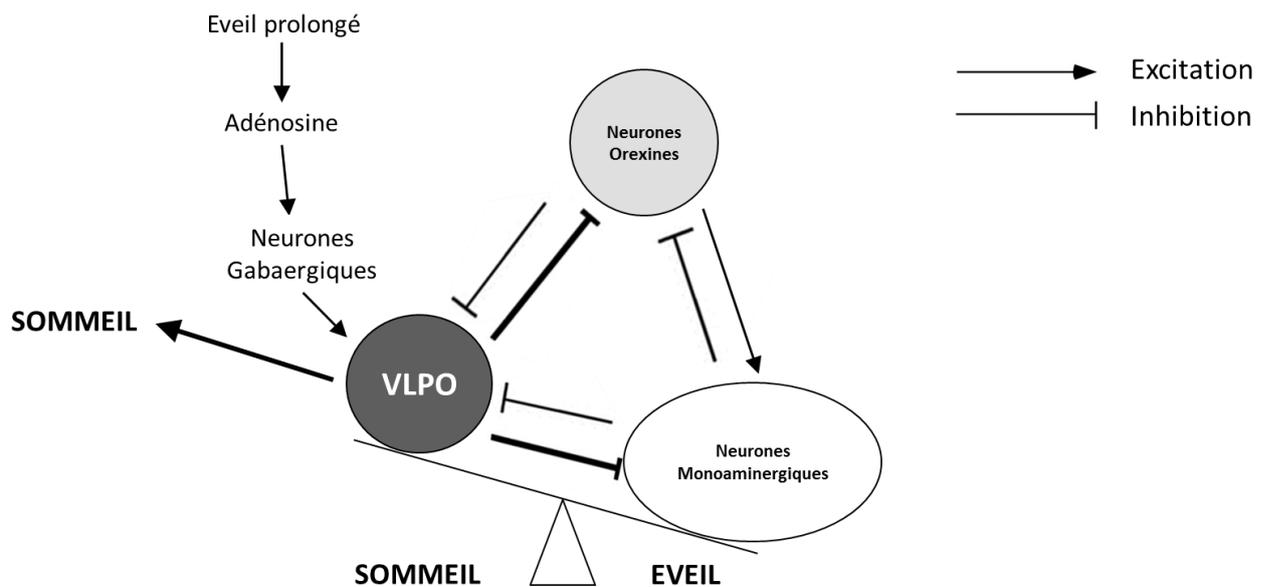


Figure 6. Modèle flip-flop (adaptée de Saper et al., 2005). Pendant le sommeil, grâce au GABA (neurotransmetteur inhibiteur), les neurones du VLPO sont actifs et inhibent les neurones d'éveil, monoaminergiques. De la même manière, pendant l'éveil, ces derniers inhibent les neurones du VLPO. Les neurones à orexine jouent un rôle modulateur : ils sont actifs pendant l'éveil et renforcent le tonus monoaminergique.

Le système d'éveil ascendant envoie des projections à travers tout le cerveau antérieur via le tronc cérébral et l'hypothalamus postérieur. Ce système d'éveil comprend deux branches principales : la première branche, ayant deux structures cholinergiques du tronc cérébral et du cerveau antérieur basal, est à l'origine de projection vers le noyau thalamique (LDT, PPT) qui active les neurones relais et les noyaux réticulaires essentiels à la transmission thalamo-corticale régulant ainsi l'activité corticale. La deuxième branche extra thalamique a pour origine les neurones des noyaux aminergiques, à savoir les neurones du noyau tuberomammillaire (TMN) à histamine (HIST), les neurones du raphé à sérotonine (5HT), les neurones du locus coeruleus (LC) à noradrénaline (NA), qui projettent de manière diffuse à travers le cerveau antérieur en régulant l'activité corticale et hypothalamique. Les neurones cholinergiques, les cellules monoaminergiques et les noyaux orexine/hypocrétine de l'hypothalamus latéral situé le long des deux branches du système d'éveil ascendant se déchargent pour favoriser l'excitation corticale contribuant à maintenir l'éveil. Parce que les neurones VLPO n'ont pas de récepteurs orexine, les neurones orexines servent principalement à renforcer le ton monoaminergique, plutôt qu'à inhiber directement le VLPO (Saper et al., 2005).

Le sommeil comprend le système d'éveil gabaergique (GABA) du noyau VLPO et se projette sur le système d'éveil. Les neurones du VLPO (ventrolatéral pré optique) vont avoir un rôle important dans

le processus d'induction et de maintien du sommeil (Saper et al., 2005). En effet, une lésion du cluster VLPO et du VLPO entraîne une diminution du sommeil NREM et REM chez l'animal (Lu et al., 2000). Les neurones du VLPO sont spécifiquement activés pendant le sommeil et innervent les systèmes monoaminergiques de l'hypothalamus et du tronc cérébral qui participent à la modulation de l'excitation corticale (système d'éveil).

I.4. Les troubles du sommeil

D'après Léger et al. 2019, la durée physiologique de sommeil serait en moyenne chez le jeune adulte (25 à 45 ans) de 7h14. On peut qualifier une durée physiologique de sommeil celle qui permet de se sentir reposé à l'éveil sans somnolence diurne rencontrée dans la journée. Pourtant, la moyenne de sommeil est de 6h45 (Bulletin épidémiologique hebdomadaire de Santé Publique France ; BEH, 2019). D'après l'étude de Hirshkowitz et al (2015), il est recommandé d'avoir un temps total de sommeil compris entre 7-h et 9-h chez l'adulte normal. A l'inverse, il est fortement déconseillé de dormir moins de 6-h ou plus de 10-h (Hirshkowitz et al., 2015).

De plus, les troubles du sommeil touchent plus d'un tiers des français. Une étude récente a démontré que 35,1% de la population était en dette de sommeil (>60min) et 24,2% était en dette sévère de sommeil (>90min). De plus, 26,2% de la population déclarent des symptômes suggérant une insomnie chronique, qui touchent particulièrement les travailleurs de nuit (Pepin et al., 2018). Dans cette étude, au total 12,4% se plaignent de somnolence diurne modérée avec 29,6% des sujets indiquant un risque d'apnée du sommeil. Ces troubles du sommeil peuvent être de diverses origines et avoir de nombreux impacts sur la santé.

1.4.a. Les différents types de troubles du sommeil

La récente publication de la troisième édition de la classification internationale des troubles du sommeil (Sateia, 2014) a différencié sept types de troubles du sommeil : l'insomnie, les troubles respiratoires du sommeil (tels que les apnées centrales et/ou obstructives), les troubles centraux d'hypersomnolence (tels que l'hypersomnie ou la narcolepsie), les troubles du rythme circadien (décalage horaire, retard ou avancé de la phase veille-sommeil, travail posté), les troubles moteurs (syndrome des jambes sans repos, bruxisme), les parasomnies (paralysie du sommeil, somnambulisme, trouble de l'alimentation) ou encore d'autres troubles du sommeil. Les troubles du sommeil les plus fréquents sont l'insomnie et les apnées du sommeil.

L'insomnie est une plainte de mauvais sommeil, trop court, non récupérateur et un retentissement sur la qualité de l'éveil du lendemain. Elle est aiguë ou chronique (symptômes inférieurs ou supérieurs à 3 mois). Elle se définit par la présence de différents critères comme une plainte de la quantité ou de la qualité du sommeil (difficulté à s'endormir, réveils fréquents et/ou précoces), une détérioration au niveau de l'entourage (sociales, professionnelles, comportementales etc), d'une difficulté à s'endormir (> 2 nuits par semaine) depuis plus de trois mois malgré les bonnes conditions d'endormissement, sans autres troubles du sommeil ou mentaux et sans l'utilisation de substance. (Pavlova et al., 2019 ; Léger et al., 2012).

Le syndrome d'apnée du sommeil est caractérisé par un arrêt du flux aérien d'une durée supérieure ou égale à 10 secondes, par une somnolence diurne excessive souvent observé chez des personnes en surpoids ou obèse. La respiration est reprise lors d'un bref réveil ou d'un allègement du sommeil. L'arrêt respiratoire se définit par un index d'apnée par heure (IA) ou un index d'apnée – hypopnée (IAH). Il existe trois types d'apnée : les apnées obstructives, centrales ou mixtes.

L'hypersomnie est caractérisée par une somnolence diurne excessive avec des accès de sommeil incontrôlables et un allongement du temps total de sommeil supérieur à 10-h par jour, avec un réveil difficile et des siestes longues n'ont récupératrices.

Plusieurs études ont ainsi montré une prévalence de l'hypersomnolence majeure et une prévalence élevée de troubles du sommeil chez des militaires (Pierres et al., 2016). Plus particulièrement, de nombreux militaires et civils sont atteints du syndrome de stress post-traumatique (PTSD) entraînant ainsi une difficulté de maintien du sommeil. Les personnels atteints de ce syndrome présentent une diminution du temps total de sommeil et de son efficacité associée à une augmentation du nombre d'éveils nocturnes et une modification anormale de la structure du sommeil (Zhang et al., 2019). Cela majore la survenue de dettes de sommeil.

1.4.b. Les bilans des troubles du sommeil :

Les bilans des troubles du sommeil se font à travers différents outils d'exploration (Léger et al., 2012) : les auto-questionnaires, l'actimétrie ou encore des examens plus spécialisés.

Pour *les auto-questionnaires*, des questionnaires principaux peuvent être utilisés comme : l'agenda du sommeil qui permet d'évaluer ses horaires de coucher et lever, le temps d'endormissement,

le nombre et la durée des éveils nocturnes et également la qualité de sommeil subjective. L'index *de qualité du sommeil de Pittsburgh (PSQI)*, qui est une auto évaluation de la qualité du sommeil et des troubles du sommeil (Buysse et al., 1989). Le *questionnaire du sommeil du centre du sommeil de l'Hôtel Dieu* qui permet d'évaluer qualitativement et quantitativement le sommeil et identifier les différentes pathologies (Léger et al., 2011). *L'échelle de sévérité de l'insomnie (ISI)* qui évalue les différents critères de l'insomnie. *L'échelle de somnolence Karolinska (KSS)* qui permet d'évaluer la somnolence immédiate (Åkerstedt et Guillberg, 1990). *Le questionnaire Epworth* qui permet d'évaluer la somnolence diurne excessive et qui se compose de huit questions (Johns, 1991). Le *questionnaire d'Horne et Ostberg* qui permet une auto-évaluation pour déterminer le chronotype d'un individu (Horne et Ostberg, 1976). Et également *l'échelle d'évaluation de la sévérité de l'anxiété et de la dépression (HAD)* qui permet de dépister ces troubles.

L'actimétrie vient compléter les renseignements donnés par l'agenda du sommeil. C'est un accéléromètre qui se porte comme une montre au poignet non dominant (jour et nuit) sur une période de trois semaines. L'appareil donne des informations sur le rythme activité-repos et veille-sommeil. Les résultats obtenus sont sur les horaires de lever-coucher, le temps passé au lit, le nombre et durée des éveils et le chronotype de l'individu.

Les examens spécialisés comme la polysomnographie ou polygraphie ventilatoire, peuvent être réalisés en cas de sommeil conservé mais non réparateur, somnolence diurne excessive sans explication (sans dépression, trouble du rythme, insomnie complexe, dette de sommeil) ou encore suspicion de syndrome d'apnée du sommeil (SAS)

1.5. La dette de sommeil

Pour la population générale, l'athlète ou le militaire en milieu opérationnel, la privation de sommeil totale ou chronique, souvent associée à d'autres contraintes, peut générer un état de fatigue qui pourrait être délétère à court et moyen terme pour sa santé, voir ses performances ou sa capacité opérationnelle (Figure 7).

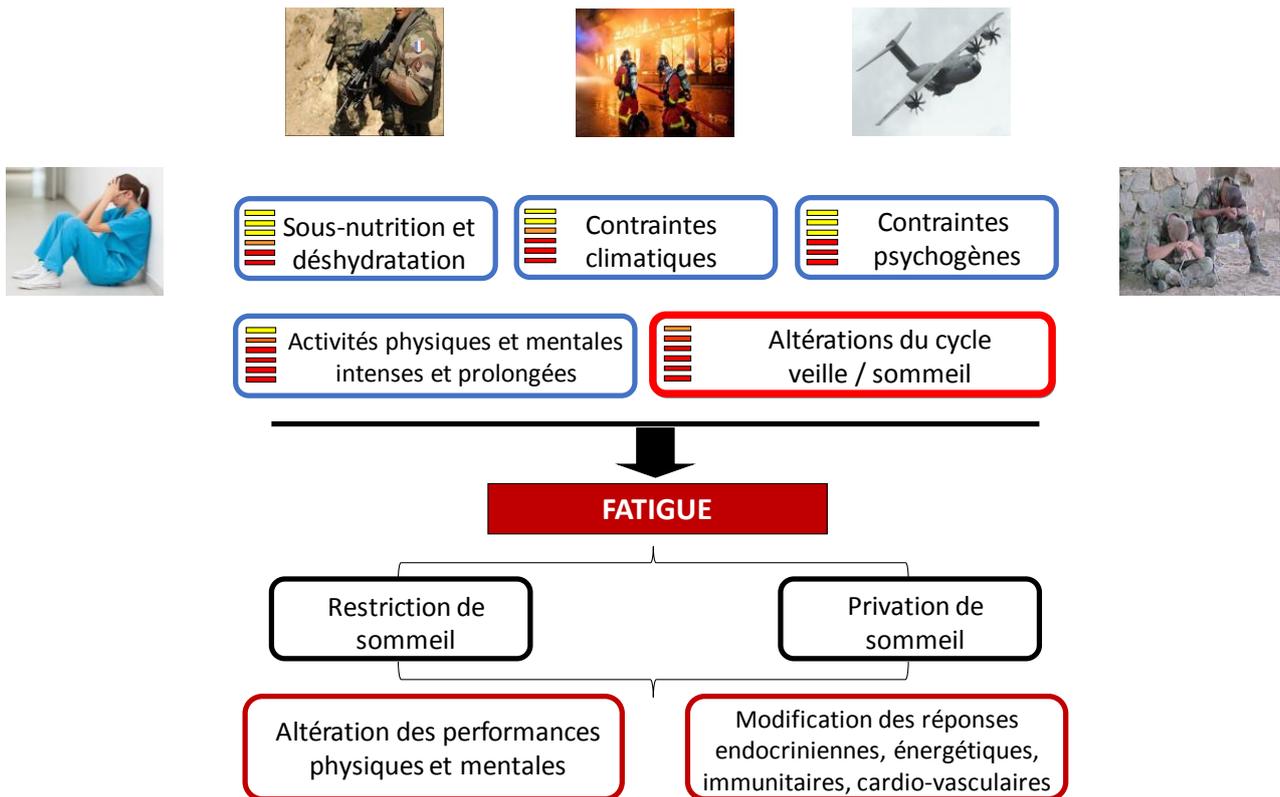


Figure 7. La fatigue opérationnelle du militaire induite par des contraintes multifactorielles.

1.5.a. Les conséquences sur l'humeur

Lorsqu'on est privé de sommeil, on a tendance à beaucoup somnoler la journée. Seulement, l'augmentation de l'état de somnolence n'est pas le seul critère dégradé par la privation totale de sommeil. En effet, de nombreuses études ont observé la relation entre la privation de sommeil, l'humeur (anxiété, etc...) et les performances cognitives, à commencer par une dégradation de l'attention soutenue puis des processus exécutifs (l'inhibition, la mémoire, la prise de décision etc...) (Goel et al., 2009a ; Killgore, 2010).

Après une privation de sommeil, une augmentation de la somnolence, évaluée subjectivement par une échelle de somnolence (KSS) ou encore du nombre de micro sommeil est observée (Arnal et al., 2015, Sauvet et al., 2020), ainsi qu'un changement de l'humeur (Vardar et al., 2007 ; Saadat et al., 2016). En effet, la privation de sommeil augmente le risque de « mauvaise humeur » avec une augmentation de l'irritabilité, de la colère, de la fatigue, de la confusion, de se sentir tendu, et de l'anxiété accompagnées par une diminution de la vigueur, de l'énergie et de la confiance (Vardar et al., 2007 ; Saadat et al., 2016).

1.5.b. Les conséquences sur les performances cognitives

Pour une bonne réactivité face aux situations de la vie de tous les jours, il est important d'avoir une fonction optimale de l'activité neuronale dans les régions cérébrales impliquant la mémoire (cortex frontal et hippocampe), l'émotion (amygdale) et la régulation du cycle veille sommeil (hypothalamus antérieur et le noyau supraoptique) (Nowrangi et al., 2014). Cependant, la dette de sommeil va perturber ces multiples capacités cognitives.

Dans un premier temps, l'attention soutenue est l'une des tâches cognitives très dégradée par la privation de sommeil, et a été largement étudiée par le test de vigilance psychomotrice (PVT). Elle est caractérisée par une augmentation du temps de réponse, du nombre de lapses et une diminution de la vitesse de réponse (Lim et Dinges, 2008 ; Van Dongen et al., 2003 ; Basner et Dinges, 2011, Sauvet et al., 2020 ; Arnal et al., 2015 ; Whitney et al., 2015). Dans l'étude de Whitney (2015), on observe une forte dégradation de l'attention soutenue illustrée par l'augmentation du nombre de lapses pendant une période de 62 heures d'éveil continu (Figure 8).

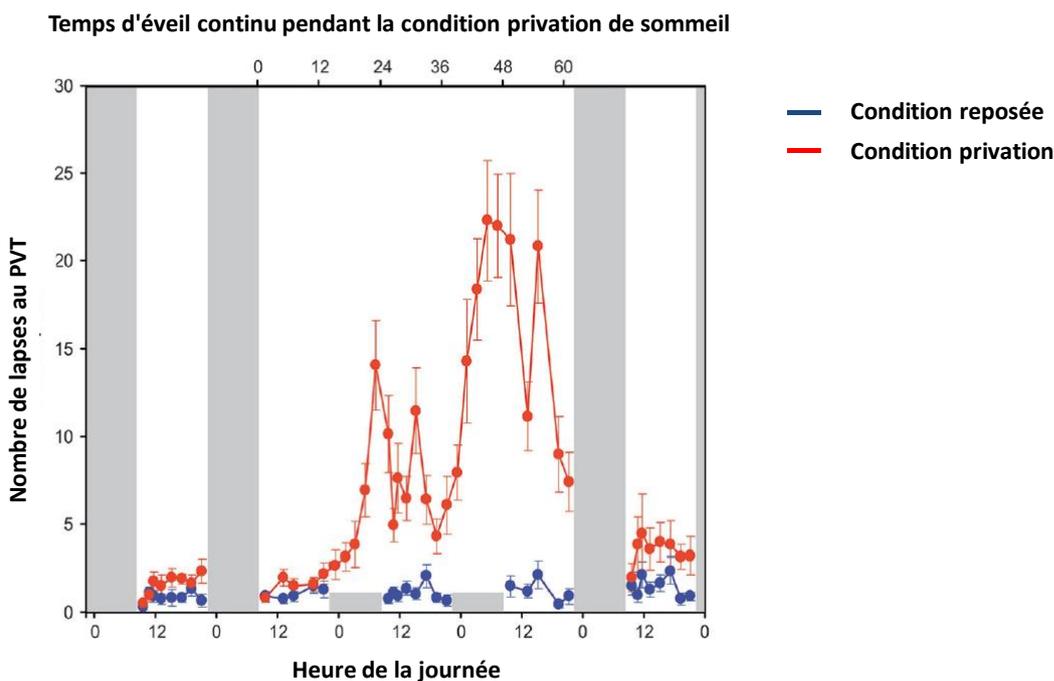


Figure 8. Effet de la privation totale de sommeil sur le nombre de lapses au test de vigilance psychomotrice. (adaptée de Hudson et al., 2019 et de Whitney et al., 2015).

Cependant, la privation de sommeil n'affecte pas seulement l'attention soutenue mais également les fonctions exécutives ainsi que des tâches cognitives plus complexes. De précédentes études ont montré l'effet de la privation de sommeil sur les capacités exécutives, telles que l'inhibition, la mémoire, et la prise de décision (Killgore 2010 ; Rabat et al., 2019 ; Sauvet et al., 2020). L'habilité à s'inhiber est cruciale dans l'adaptation, pourtant, une nuit de privation de sommeil entraîne une

dégradation des performances sur la capacité d'inhibition illustrées par une augmentation du nombre d'erreurs et une augmentation du temps de réaction sur les réponses correctes (Rabat et al., 2019 ; Sauvet et al., 2020).

De même, la privation de sommeil va entraîner une dégradation des performances de mémoire (Killgore et al., 2010). Thomas et ses collaborateurs ont observé une diminution de la consommation d'énergie métabolique pendant une privation de sommeil dans le cortex préfrontal dorsolatéral qui est une des régions impliquées dans la mémoire de travail (Thomas et al., 2000). De plus, une dégradation de la mémoire de travail a été observée pendant une privation de sommeil illustrée par une diminution du taux de bonnes réponses au 2back associée à une augmentation du temps de réponse pour les réponses correctes (Sauvet et al., 2020 ; Rabat et al., 2019). Enfin, sur les capacités de prise de décision, investiguées par l'utilisation de la tâche de l'Iowa Gambling Task (IGT) (Bechara et al., 1994), une prise de risque plus élevée, tendant vers un gain court et rapide mais devenant une perte à long terme, est observée pendant une privation de sommeil (Killgore et al., 2006 ; Killgore et al., 2007).

La dette de sommeil va également dégrader les performances sur simulateur de conduite illustrée par l'augmentation du nombre de franchissements inappropriés latéral de ligne et l'augmentation de la déviation standard de la position (Matthews et al., 2012 ; Sagaspe et al., 2008).

Cette dégradation des performances cognitives semble être modulée par l'implication de mécanismes neurobiologiques qui régulent le cycle veille/sommeil tels que l'adénosine et les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β) (Krueger, 2008 ; Krueger et al., 2008 ; Krueger et al., 2010 ; Chennaoui et al 2014., Chennaoui et al., 2011). En effet, l'augmentation de la demande d'énergie pendant l'éveil entraîne une augmentation de la dégradation de l'ATP, augmentant les concentrations d'adénosine intracellulaire et extracellulaire. Une augmentation de la concentration d'adénosine extracellulaire est observée particulièrement dans le prosencéphale basal (Porkka-Heiskanen et al., 2000). De plus, l'ATP dérivé des astrocytes (glyotransmission) va activer les récepteurs purinergiques (P2X7) induisant une libération des cytokines pro-inflammatoires TNF- α et IL-1 β dans le milieu extracellulaire (Krueger et al., 2008, Krueger et al., 2010). Cette libération de cytokines pro-inflammatoires en retour va activer le facteur de transcription NF- κ B induisant des changements d'activité du récepteur adénosinergique A1 donc de réponse à l'adénosine, et d'un des récepteurs glutamatergique (AMPA) donc de réponse au neurotransmetteur glutamate (Figure 9).

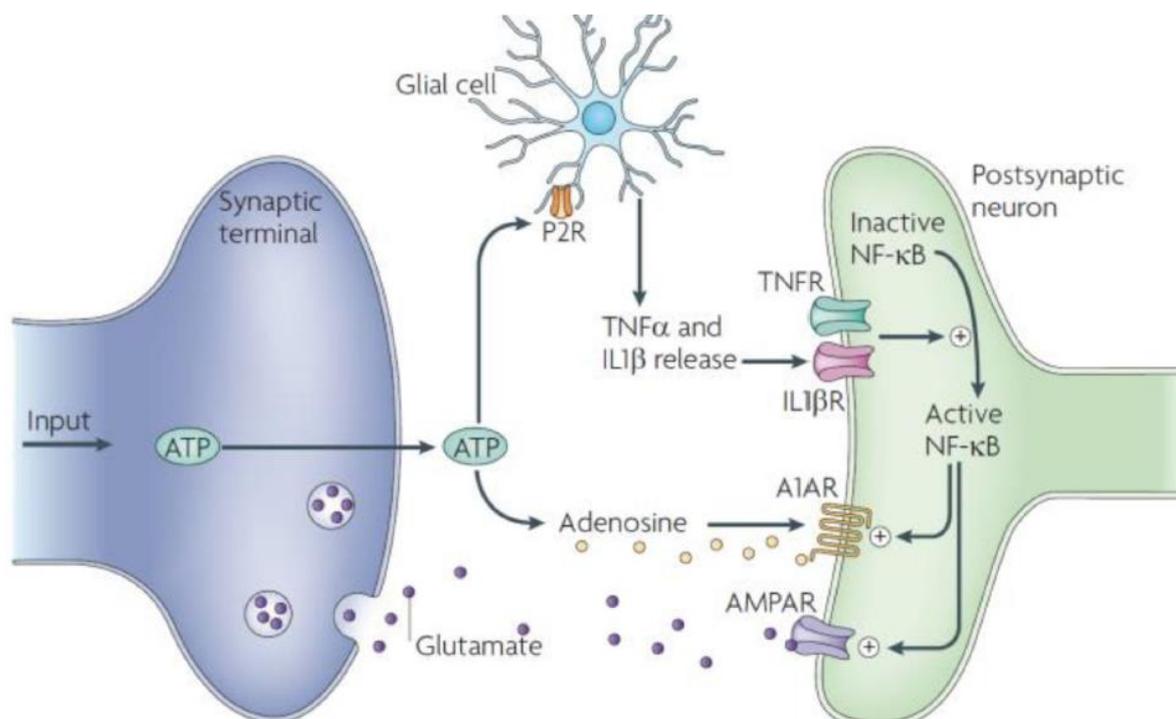


Figure 9. Régulation biochimique du sommeil (Krueger et al., 2016).

1.5.c. Les conséquences sur les performances physiques

La dette de sommeil est fortement présente dans la population d'athlètes (Mah et al., 2018). Aujourd'hui, on sait que la privation totale de sommeil a des effets néfastes sur les performances physiques, malgré des résultats variables dans la littérature (Fullagar et al., 2015). En effet, la privation totale de sommeil diminue les performances aérobies (Cullen et al., 2019). Le temps passé à la tâche jusqu'à épuisement diminue significativement pendant une privation totale de sommeil, associé avec une augmentation de la perception à l'effort (Temesi et al., 2013 ; Cullen et al., 2019). Dans de nombreuses études, une diminution de ce temps jusqu'à épuisement a été observée après une privation de sommeil (Martin, 1981 ; Temesi et al., 2013 ; Daaloul et al., 2018). Cependant toutes les études ne montrent pas forcément de différence ce qui peut être expliqué par la différence de protocole sur l'intensité de l'exercice, la durée de l'exercice, la durée d'éveil continu mais également par le créneau horaire de la journée pendant lequel est effectué l'effort (Vaara et al., 2018).

Egalement, la privation va avoir des effets sur la performance anaérobie (Fullagar et al., 2015). Soussi et ses collaborateurs montrent un effet significatif sur les performances au test de Wingate avec une diminution du pic de puissance et de la puissance moyenne après 36-h de privation totale de sommeil (Souissi et al., 2003). Cette équipe a également observé, sur l'évaluation Force-Vitesse, une diminution de la puissance maximale et de la vitesse V_0 après 36-h d'éveil sans dégradation de la Force

F₀ (Souissi et al., 2003). La performance de détente verticale (counter movement jump, CMJ) est significativement diminuée après une privation partielle de sommeil (Daaloul et al., 2018, Cullen et al. 2019). Skein et al. (2011) ont observé une augmentation du temps de sprint ainsi qu'une distance parcourue plus faible sur 10 min. La concentration du glycogène musculaire, avant exercice, était plus faible après une privation totale de sommeil ce qui pourrait être une des raisons de la diminution des performances (Skein et al., 2011).

Enfin, une altération des performances au tir est observée, lors d'une privation totale de sommeil, avec une diminution du nombre de cibles touchées et une augmentation de l'écart entre le tir et le centre de la cible (Lieberman et al., 2002 ; Tharion et al., 2003). La privation de sommeil entraîne une diminution de 37,5% du nombre de cibles touchées et une augmentation de 38% entre le centre de la cible et le tir (Tharion et al., 2003).

1.5.d. Les conséquences sur les réponses endocriniennes, inflammatoires et métaboliques.

Il a été montré que la privation totale de sommeil diminue les concentrations de l'hormone anabolisante testostérone chez l'homme (Arnal et al., 2016b). La privation de sommeil diminue également la concentration de prolactine et de cortisol (Dimitrov et al., 2015, Arnal et al., 2016b). La diminution des concentrations circulantes de la prolactine après une privation de sommeil pourrait être expliquée par l'augmentation de l'activité dopaminergique qui est son inhibiteur principal (Volkow et al., 2008). Enfin, la privation de sommeil diminue les concentrations du facteur de croissance IGF-1 au niveau circulant chez l'homme (Chennaoui et al., 2014).

La privation totale ou encore la restriction de sommeil augmente les réponses immuno-inflammatoires (Chennaoui et al., 2011, Sauvet et al., 2015). Chez l'homme, une augmentation significative du taux plasmatique de TNF- α est observée après 34 à 37 heures d'éveil continu (Chennaoui et al., 2011), avec une augmentation des ARN messagers codant TLR4, TNF- α et le récepteur soluble R1 à TNF- α (Chennaoui et al., 2014). L'élévation des concentrations circulantes et des ARN messagers codant TNF- α et IL-1 β a été observée pendant la restriction de sommeil (Sauvet et al., 2015). L'augmentation des cytokines serait également liée à l'activation du système nerveux sympathique associé à une libération de noradrénaline lors de la privation de sommeil (Irwin et Cole 2011). Aussi, une modification des paramètres cardiovasculaires est observée lors d'une privation de sommeil de 48-h d'éveil continu, illustré par l'augmentation de la composante haute fréquence du spectre de puissance de la variabilité cardiaque (HRV) (Crooks et al., 2019). Par ailleurs, la noradrénaline est impliquée dans la régulation glucidique, ce qui peut expliquer que les métabolismes de l'insuline et du glucose sont

également affectés par la restriction de sommeil illustrés par une réduction de la tolérance au glucose (Spiegel et al., 1999) et l'augmentation de la résistance à l'insuline (Buxton et al., 2010).

1.5.e. Les conséquences sur la santé

La dette de sommeil est associée à une diminution de la réponse vaccinale (Prather et al., 2012), une augmentation du risque de maladies infectieuses (Cohen et al., 2009), une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires et de risque de cancer (Von Ruesten et al., 2012), une prise pondérale (Bayon et al., 2014), de diabète (Lin et al., 2018), de stress, d'anxiété et de dépression (Slavich et Irwin 2014). Egalement, la dette de sommeil entraîne une dysfonction endothéliale avec modification de la vasodilatation induite par l'administration de MCh induisant une vasodilatation et augmentant le risque cardiovasculaire (Sauvet et al., 2015). Elle est aussi associée à une diminution de la tolérance au froid, ce qui pourrait être particulièrement pénalisant pour le sportif ou le militaire parfois contraints à des entraînements en ambiance thermique froide (Sauvet et al., 2015).

Egalement, certains secteurs professionnels sont exposés à des horaires atypiques, comme le travail de nuit, qui peuvent entraîner de multiples conséquences sur la santé : des risques de troubles du sommeil avec une augmentation de la somnolence et une diminution de la qualité et de la quantité de sommeil, des troubles métaboliques (obésité, diabètes de type 2), cardiovasculaires, psychiques et des effets potentiellement cancérigènes².

Il est important de prendre en compte l'existence d'une grande variabilité interindividuelle des réponses à la dette totale de sommeil (Satterfield et al., 2015, 2017, 2018 ; Bachmann et al., 2012a ; Bodenmann et al., 2012). Très peu d'études ont observé l'influence de cette variabilité interindividuelle, particulièrement le polymorphisme génétique, sur les performances cognitives complexes, sur les performances physiques, de tir ou encore la performance en conduite.

² Avis N° 2011-SA-0088 (2016) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

I.6. Les contre-mesures existantes

Afin de lutter contre les effets de l'altération du cycle veille/sommeil induits par les opérations continues ou soutenues, des méthodes préventives, immédiates et à posteriori, peuvent être utilisées. Il existe différents types de contre-mesures (Arnal et al., 2015 ; Sauvet et al., 2019 ; Kubo et al., 2007 ; Magill et al., 2003 ; Killgore et al., 2008 ; Sauvet et al., 2019 ; Wesensten et al., 2001 ; Faraut et al., 2020).

Dans un premier temps, il existe des contre-mesures comportementales comme la pratique de sieste, d'extension de sommeil, d'exercices physiques, la nutrition, ou encore de luminothérapie. La sieste peut être modulée par sa durée et son créneau horaire et elle va permettre de limiter la dégradation des performances cognitives pendant une dette de sommeil (Kubo et al., 2007). L'extension de sommeil, qui représente l'allongement du temps de sommeil habituel, peut être modulé par son temps de sommeil total, par la période de sommeil augmentée (début ou fin de nuit) mais aussi par le nombre de nuits d'extension de sommeil (sur quelques jours ou sur plusieurs semaines). Cette stratégie va être utilisée dans un but préventif, et va permettre de limiter la dégradation de certaines performances cognitives et physiques induite par la privation totale de sommeil (Arnal et al., 2015 ; Mah et al., 2011 ; Rabat et al., 2019 ; Rupp et al., 2009). L'activité physique (programmes d'entraînement intense sur plusieurs semaines) peut avoir des vertus pour lutter contre la dégradation des performances attentionnelles (Sauvet et al., 2020). En effet, Sauvet et al. (2020) ont montré l'effet bénéfique de sept semaines d'activités physiques sur les performances de l'attention soutenue pendant une privation totale de sommeil. L'exposition à la lumière est également un des principaux synchronisateurs utilisés chez les personnes ayant des troubles du rythme circadien ou encore chez les travailleurs de nuit (Léger et al., 2018). Lors d'une dette de sommeil, l'exposition à la lumière bleue a entraîné une amélioration des performances cognitives (Faraut et al., 2020).

Dans un second temps, il existe les contre-mesures nutritionnelles comme certains apports en acides aminés. En effet, la tyrosine va entraîner une amélioration des performances d'attention durant un éveil continu (Magill et al., 2003). Cependant, la contre mesure nutritionnelle la plus connue pour son effet éveillant est la caféine. Elle va être un des principaux éléments composant cette thèse. Elle peut être trouvée sous forme alimentaire mais également sous sa forme galénique, la caféine à libération prolongée.

I.6.a. Les contre-mesures pharmacologiques

Il existe plusieurs substances pharmacologiques prescrites dans l'armée française. Plus particulièrement, deux médicaments peuvent être utilisés et sont hautement encadrés : La caféine à libération prolongée (CLP) et le modafinil.

La **caféine à libération prolongée** (CLP) est un médicament sous forme galénique de la caféine qui est utilisée pour son effet éveillant. Elle est donnée en quantités de 300mg renouvelées toutes les 12 heures. Sa fabrication est uniquement développée par la Pharmacie Centrale des Armées. La CLP permet le maintien d'un taux plasmatique de caféine pendant 6 heures en évitant les effets secondaires de la caféine connue sous sa forme de café (Figure 10). Lors de protocoles de privation totale de sommeil, l'ingestion de CLP limite la dégradation de la vigilance et des performances cognitives (Lagarde et al., 2000 ; Beaumont et al., 2001). De même, la dégradation des performances de conduite, induite par la privation partielle de sommeil, est diminuée grâce à l'absorption de CLP (De Valck et al., 2001). La caféine à libération prolongée semble n'avoir aucun effet indésirable sur la récupération après une longue période de privation de sommeil (Beaumont et al., 2005).

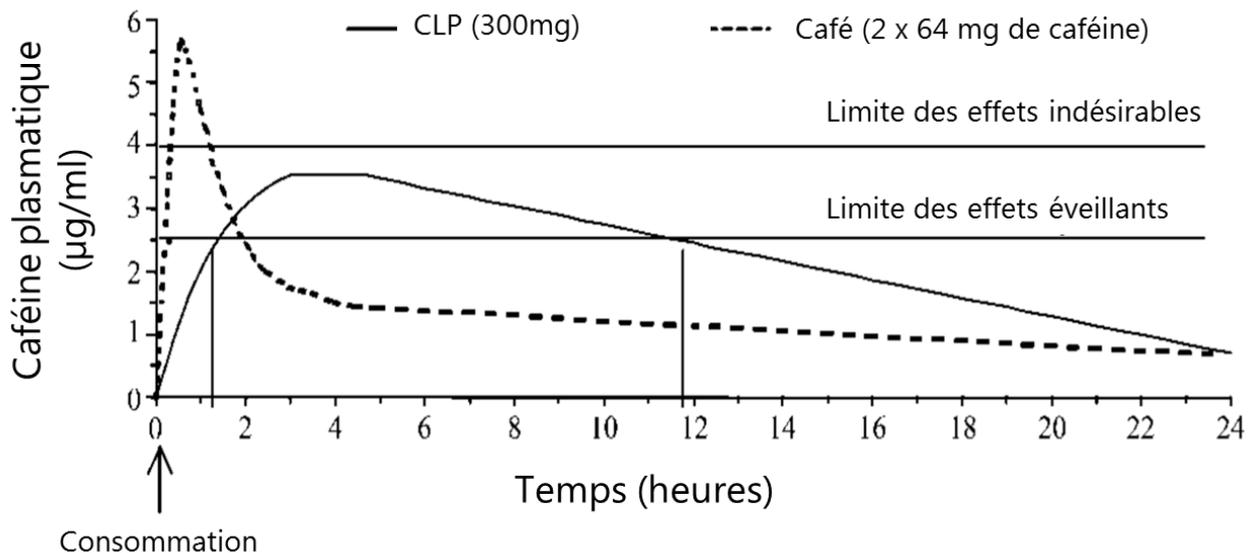


Figure 10. Pharmacodynamie de la caféine (128 mg) et de la caféine à libération prolongée (Caféine LP 300mg SSA) (Beaumont et al., 2004).

Le **modafinil** est un composé non amphétaminique favorisant l'éveil. Il est utilisé généralement pour traiter la somnolence diurne excessive chez des patients atteints de narcolepsie, d'apnée obstructive, ou encore d'hypersomnie. Lors d'un protocole de privation totale de sommeil, plusieurs études ont montré l'efficacité du modafinil à limiter la dégradation des performances sur la vigilance,

l'attention, les processus exécutifs et la mémoire (Wesensten et al., 2001, Wesensten et al., 2005 ; Killgore et al., 2008 ; Sauvet et al., 2019) (Figure 11).

Dans l'armée française, l'utilisation du modafinil et de la caféine à libération prolongée est réglementée³. La posologie recommandée, dans le contexte d'une situation opérationnelle exceptionnelle, est un comprimé de 100mg jusqu'à 200mg maximum avec un traitement renouvelé toutes les huit heures.

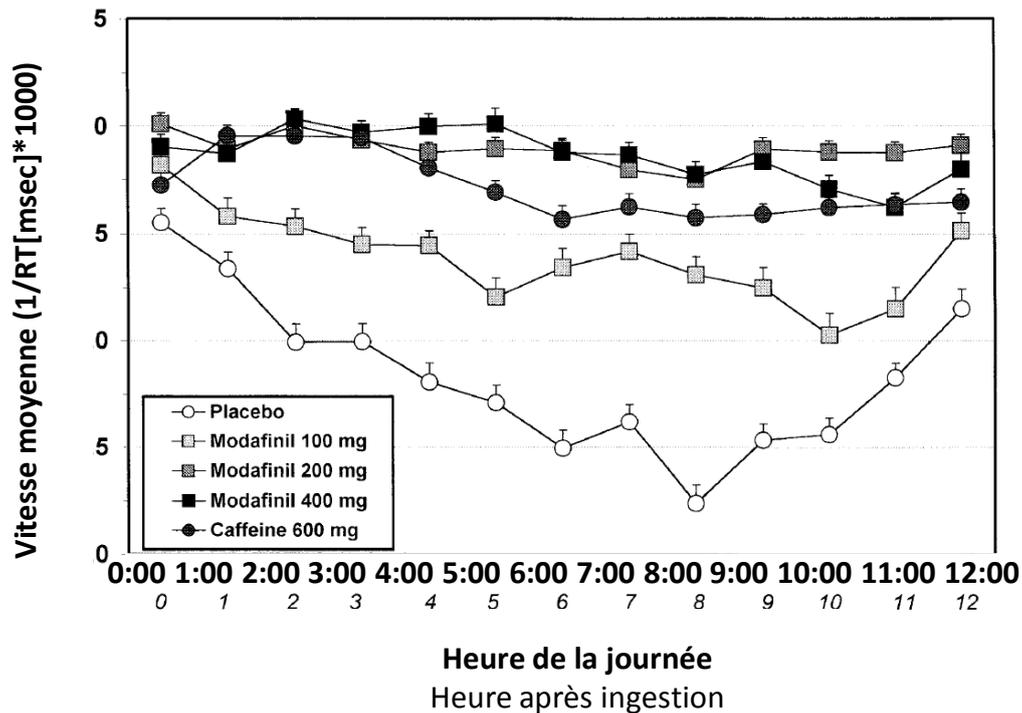


Figure 11. Vitesse moyenne au PVT en fonction des cinq conditions pharmacologiques pendant une privation totale de sommeil. (Wesensten et al., 2001)

Afin de limiter au maximum la dégradation des performances suite à une dette de sommeil, il est possible de combiner différentes contre-mesures. La plus connue est la combinaison d'une sieste avec la prise de caféine qui permet de maintenir les performances cognitives et l'attention soutenue à un niveau proche de la condition contrôle, pendant une privation de sommeil (Bonnet et al., 1994).

³ IM n°744 relative sur l'utilisation militaire de substances modifiant la vigilance

Les amphétamines sont également utilisées comme contre-mesure pendant des privations de sommeil. En effet, Wesensten et al. (2005) ont montré que la dextroamphétamine améliore, pendant une privation totale de sommeil, la vitesse au PVT, diminue la somnolence, et augmente le temps de latence en stade 2 (Wesensten et al., 2005). Cependant, cette contre-mesure, utilisée au Etats-Unis, est interdite en France.

En résumé :

- Le sommeil est indispensable pour maintenir l'homéostasie de l'organisme.
- Les différentes fonctions du sommeil sont les fonctions endocriniennes, métaboliques et énergétiques, immunitaires, lymphatiques et synaptiques.
- Le cycle veille/sommeil est régulé par une inhibition réciproque entre le système du sommeil (VLPO) et le système d'éveil (noyau tubéro-mamillaire, locus coeruleus et raphé dorsal).
- Les différents troubles du sommeil, tels que l'insomnie, touchent plus d'un tiers de la population française et pouvant entraîner des dettes de sommeil.
- La dette de sommeil (privation et/ou restriction) va entraîner une dégradation des performances cognitives et physiques ainsi qu'une modification des réponses immuno-inflammatoires, endocriniennes, métaboliques et cardio-vasculaires.
- Pour limiter ces altérations, il existe de multiples stratégies comportementales, nutritionnelles ou pharmacologiques qui peuvent être utilisées en prévention, dans l'immédiat ou à posteriori.

Après avoir évoqué les généralités sur le sommeil et les dégradations liées à la dette de sommeil, nous appréhenderons dans le chapitre suivant la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la caféine, l'une des contre mesures les plus utilisées pour limiter les effets de la dette de sommeil.

II. La caféine

II.1 La structure

D'après l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA), le 1,3,7-triméthyl-1H-purine-2,6-dione ou encore la caféine est un pseudo-alcaloïde, c'est-à-dire une substance chimique organique d'origine végétale à bases azotées mais non dérivée d'un acide aminé (Figure 12). Elle se forme lorsque trois groupes méthyle (CH_3) sont substitués sur le composé parent xanthine. La caféine appartient donc à la famille des méthylxanthines et sa formule chimique brute est $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$. La caféine, sous sa forme pure, se présente sous la forme d'une poudre blanche ayant un goût extrêmement amer.

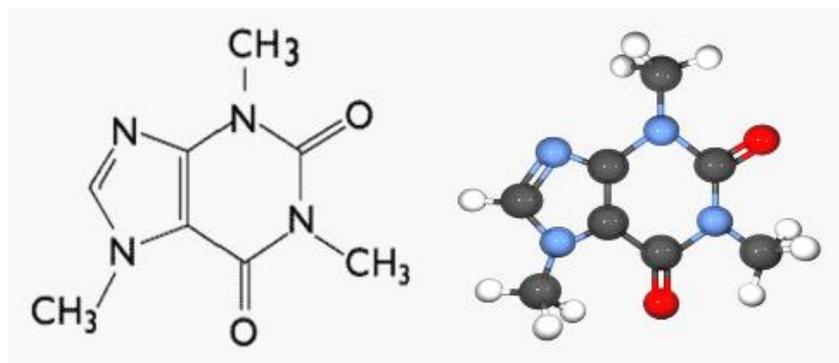


Figure 12. Molécule chimique de la caféine

II.2 La consommation de caféine

II.2.a. Produits à base de caféine

La source alimentaire de caféine la plus courante dans le monde est le café. Cependant, la caféine peut également provenir de différents aliments tel que le thé, le chocolat, le cola, les boissons énergisantes, les médicaments ou encore les suppléments pour sportifs (Rochat et al., 2018, McLellan, 2016).

Aujourd'hui, un nombre élevé de boissons dites « énergisantes » contiennent des quantités de caféine allant de 50 mg à une dose très élevée de 500 mg par bouteille. De plus, la quantité de caféine contenue dans une tasse de café peut varier en fonction de sa provenance (arabica, robusta...), de la température de l'eau, de la pression, du temps d'infusion mais aussi de la torréfaction (tableau 1). Selon la source, les données varient sur la teneur exacte en caféine des différentes boissons, de l'aliment ou du médicament (Tableau 1) (Cappelletti et al., 2015).

Tableau 1. Quantités de caféine dans les boissons, aliments ou suppléments (adapté de McLellan, 2016 et Cappelletti et al., 2015).

| Aliments | | Caféine (mg/100ml) | Quantité servie (ml) | Caféine (mg/quantité servie) |
|-----------------------|------------------|--------------------|----------------------|------------------------------|
| Café | Filtre | 60-100 | 150 | 90-150 |
| | Expresso | 100-165 | 60 | 60-99 |
| | Instantané | 27-72 | 150 | 40-108 |
| | Décaféiné | 1-3 | 150 | 2-5 |
| Thé | Infusé 1 min | 6-22 | 150 | 9-33 |
| | Infusé 5 min | 13-33 | 150 | 20-50 |
| | Thé glacé | 6-10 | 350 | 22-36 |
| | Vert | 18-21 | 180 | 33-37 |
| | Noir | 36-41 | 180 | 68-72 |
| Produits chocolatés | Chocolat chaud | 1-5 | 175 | 2-8 |
| | Chocolat au lait | 1-3 | 235 | 2-7 |
| | Lait au chocolat | 3-50 | 30 | 1-15 |
| | Chocolat noir | 115 | 30 | 35 |
| Boissons au cola | Coca cola ® | 10 | 350 | 35 |
| | Coca light ® | 13 | 350 | 47 |
| Boissons énergisantes | Covaine ® | 120 | 235 | 280 |
| | Monster ® | 34 | 235 | 80 |
| | Redbull ® | 34 | 235 | 80 |

II.2.b. Consommation de la population

En France, la consommation moyenne de caféine est d'environ 243 mg/jour par adulte. Dans notre étude, elle a été évaluée à environ 3,5mg/kg/jour dans une population de 1024 participants âgés entre 18-60 ans (Erblang et al., 2020). D'après les perspectives de l'Organisation internationale du café (ICO) en 2015, la consommation mondiale de café devrait continuer sa progression.

Cependant, des effets secondaires (insomnie, tachycardie, etc) sont observés lors d'une consommation excessive de caféine (>600mg). La dépendance à la caféine peut survenir à partir de 130-600mg/j. Cette dépendance est observée par une envie incontrôlable de consommer de la caféine lors d'une période d'abstinence. Un surdosage à la caféine peut être observé à partir de 1g/j. Sa consommation peut être également létale si elle dépasse 10 g (Reissig et al., 2009).

Le sevrage à la caféine va entraîner plusieurs symptômes : le principal symptôme étant les maux de tête. D'autres symptômes comme la somnolence, l'humeur (diminution du bien-être, irritabilité, dépression), la difficulté à se concentrer, des nausées apparaissent après un arrêt de consommation de caféine (Juliano et Griffiths, 2004).

La toxicité à la caféine se définit par des symptômes spécifiques qui résultent de sa consommation : l'anxiété, l'agitation psychomotrice, l'insomnie, les troubles gastro-intestinaux, des tremblements, une tachycardie, voir même un décès (Reissig et al., 2009, Rudolph et Knudsen., 2010).

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) a observé que 30% des adultes dépassaient le seuil considéré comme générateur d'anxiété et que 18% des enfants/adolescents dépassaient le seuil de développement d'une tolérance à la caféine. Pour éviter les effets indésirables, l'addiction, le surdosage ou encore la toxicité liée à la caféine, des recommandations ont été formulées par cette agence et plus particulièrement pour certaines populations à risque comme les enfants, les adolescents, les femmes enceintes et allaitantes ou encore les individus présentant certaines pathologies ou une forte sensibilité à la caféine⁴.

II.2.c. Consommation en milieu militaire

Les militaires sont considérés comme de forts consommateurs de caféine. Dans l'armée américaine, 82 % de la population militaire étudiée consommaient un produit contenant de la caféine au moins une fois par jour avec une moyenne de 285 ± 13 mg/j, et de 347 ± 15 mg/j pour les consommateurs réguliers (Lieberman et al., 2012). Chez une population de soldats déployés en Afghanistan, la moyenne journalière de la consommation de caféine était de 404 ± 18 mg. Cependant, la moyenne de consommation était plus élevée chez des soldats au combat (483 ± 100 mg) que chez des personnels de soutien (235 ± 23 mg) (McLellan et al., 2019). La caféine était consommée particulièrement sous forme de café, de sodas mais aussi de boissons énergisantes. Cependant, la consommation de caféine dans les armées françaises est peu documentée. Dans notre étude sur les 1023 participants, la population de militaires consommait en moyenne 273 ± 13 mg de caféine par jour (données non publiées). Une autre étude du laboratoire (Coroenne et al., 2013) a montré que parmi les militaires de la base aéro-navale de Lann-Bihoué, 45,2 % consommait plus de 400 mg/j de caféine (Figure 13). Il est important de prendre en compte que même au sein de l'armée, en fonction du poste, la consommation reste très variable mais tout de même supérieure à celle de la population générale.

⁴ Avis N° 2004-SA-0135 (2004) de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

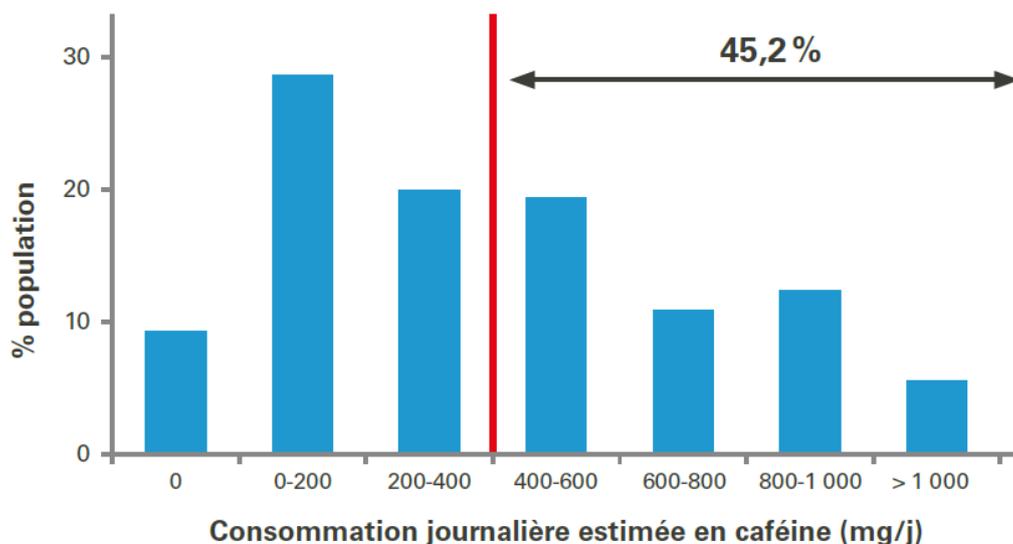


Figure 13. Consommation habituelle de caféine chez des militaires de la base Aéro-Navale de Lann Bihoué (Coroenne et al., 2013).

II.3 Le métabolisme de la caféine

Le métabolisme de la caféine va se différencier par sa pharmacocinétique et sa pharmacodynamie. La pharmacocinétique représente le taux d'absorption, de métabolisme et d'élimination de la caféine. La pharmacodynamie représente les effets de la caféine sur le corps.

L'ingestion de la caféine se fait rapidement par le système digestif (Arnaud, 2011). Grâce à sa nature lipophile, la caféine est absorbée immédiatement par la muqueuse buccale mais également par le tractus gastro-intestinal après dissolution dans la salive et la déglutition (Morris et al., 2019). La concentration plasmatique maximale sanguine de la caféine est atteinte en moyenne à environ 30 à 60 minutes après absorption. Cependant ce temps peut varier entre 15 à 120 min en raison de nombreuses différences interindividuelles. En effet, la pharmacocinétique de la caféine va dépendre de nombreux paramètres, à commencer par la forme d'absorption de la caféine (Kamimori et al., 2002). Elle peut être également retardée si la caféine est ingérée pendant une prise alimentaire, ou de médicament (Figure 14).

La caféine pénètre rapidement dans tous les tissus (Arnaud, 2010) avec un métabolisme pré-systémique qui a lieu dans le foie. La principale enzyme responsable de la dégradation de la caféine (par élimination) dans le foie est le cytochrome P450 1A2 (CYP1A2). Les cytochromes P450 sont une famille d'enzymes qui métabolisent une grande partie des substances au niveau hépatique. Le processus de

métabolisation passe par trois principales étapes : l'oxydation, la dé-méthylation et enfin l'acétylation. Une faible quantité de la caféine ingérée est évacuée dans les urines (Birkett et Miners 1991), grâce à sa déméthylation et son oxydation par les cytochromes P450.

Le pic de concentration plasmatique de la caféine est d'environ 45 minutes à 1 heure après absorption. Sa demi-vie est généralement comprise entre 4h et 6h. Cependant des demi-vies de 1h30 à 12h peuvent être observées chez les adultes (Benowitz, 1990). Cette variation est due à l'existence de variabilité interindividuelle du métabolisme de la caféine (Arnaud, 2010 ; Clark et landolt, 2016 ; Guest et al., 2018 ; Childs et al., 2008 ; Rogers et al., 2010 ; The Coffee and Caffeine Genetics Consortium et al., 2015 ; Alsene et al., 2003). En résumé, il existe de grandes différences interindividuelles dans la métabolisation, la clairance (temps d'élimination) et l'élimination de la caféine. Ces différences peuvent être liées à l'âge, à la consommation d'alcool, de tabac, à l'apport alimentaire, la grossesse, les maladies hépatique ou encore l'utilisation de médicaments et à la génétique.

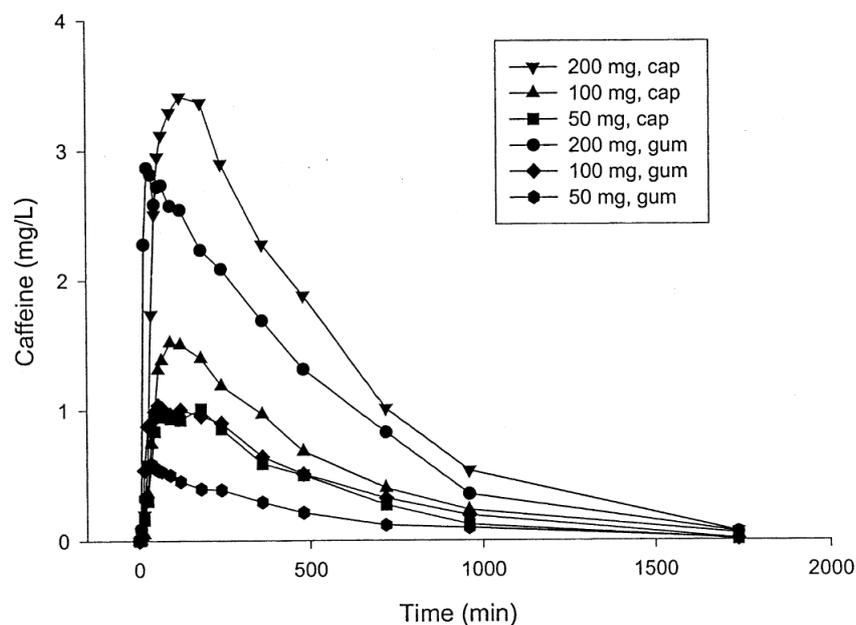


Figure 14. Concentration plasmatique moyenne de la caféine après l'absorption de 50, 100 et 200 mg de caféine sous forme de capsule (cap) ou de chewing-gum (gum). (Kamimori et al., 2002).

II.4 Les mécanismes d'actions de la caféine

L'effet de la caféine peut être expliqué par trois principaux mécanismes d'action : antagoniste des récepteurs à l'adénosine, mobilisation du stockage intracellulaire du calcium et inhibition des phosphodiésterases (Figure 15).

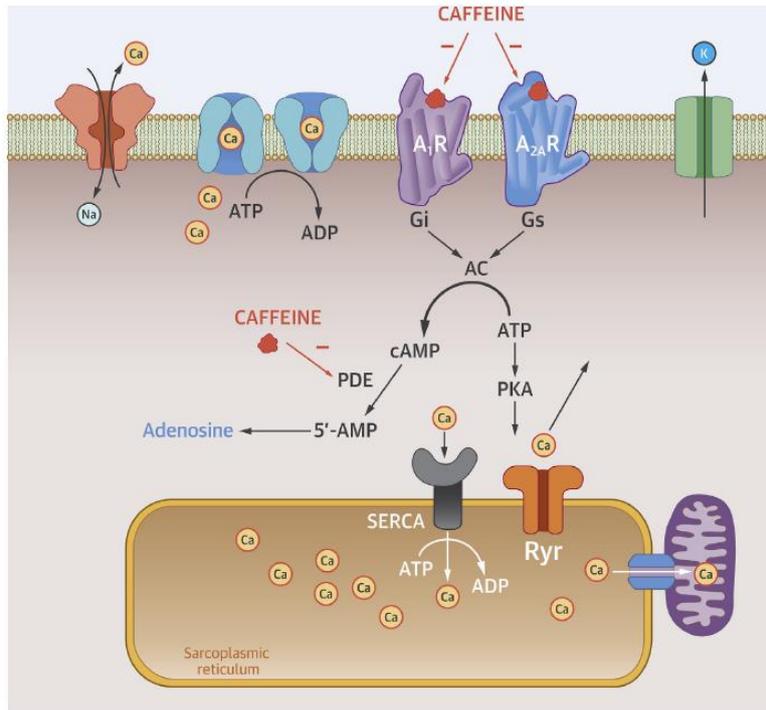


Figure 15. Illustration des effets de la caféine au niveau cellulaire. (Voskoboinik et al., 2018)

Le mécanisme d'action le plus important de la caféine est son action sur les récepteurs à l'adénosine. En effet, la caféine est un inhibiteur non sélectif des récepteurs à l'adénosine, capable de bloquer les effets de l'adénosine sur les récepteurs A₁ et A_{2A} dès la première consommation d'une tasse de café. Alors que pour inhiber la dégradation des nucléotides cycliques via l'inhibition de la phosphodiésterase et pour mobiliser les dépôts de calcium intracellulaires, des concentrations extrêmement élevées sont nécessaires (Figure 16) (Fredholm et al., 1999). L'affinité de la caféine est cependant plus grande pour les récepteurs A_{2A} que A₁ avec un effet observé pour des concentrations plus faibles de caféine.

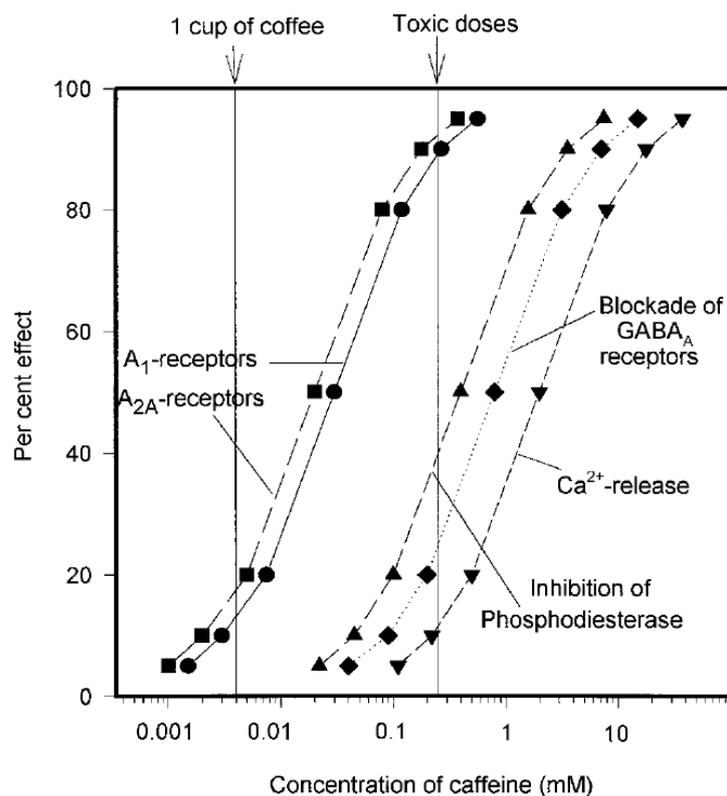


Figure 16. Actions de la caféine sur les différents mécanismes biochimiques (Fredholm et al., 1999)

II.4.a. Les récepteurs à l'adénosine :

Le mécanisme d'action le plus important est l'action de la caféine en tant qu'antagoniste compétitif non sélecteur des récepteurs à l'adénosine. Pour rappel, l'adénosine s'accumule dans le cerveau après un certain temps d'éveil mais elle est aussi présente dans toutes les cellules de l'organisme. Elle va se fixer sur ses récepteurs (A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃) induisant ainsi un ralentissement de l'activité nerveuse ce qui facilite le sommeil (Fredholm et al., 1999). La caféine va se fixer sur ces mêmes récepteurs, empêchant ainsi l'induction du sommeil (Ribeiro et Sebastiao, 2010). Elle va, au contraire, induire une stimulation du système nerveux central. Plus particulièrement, la caféine a une grande affinité avec les récepteurs A₁ et A_{2A} car ils sont activés par de faibles concentrations basales d'adénosine et va ainsi les prendre pour cibles principales (figure 20). Ces deux récepteurs, colocalisés dans le cerveau, sont couplés aux protéines G. La caféine, en se fixant aux récepteurs, va moduler le système GABAergique et induire la libération de dopamine, de noradrénaline et de glutamate (Fredholm et al., 2005).

Les récepteurs A₁ sont présents dans quasiment toutes les régions du cerveau, avec la présence de récepteurs présynaptiques d'adénosine A₁ modulant la libération de l'émetteur sur presque tous les types de neurones (Fredholm et al., 1988). Plus particulièrement, il est émis l'hypothèse que ces

récepteurs sont en grande concentration au niveau de l'hippocampe, du cortex cérébral et cortex cérébelleux ainsi que dans le noyau thalamique (Fastbom et Palacios., 1987). Ils sont colocalisés avec les récepteurs à la dopamine D1. Un agoniste des récepteurs à l'adénosine A1 va affecter négativement l'affinité de la dopamine a ses récepteurs D1 (Ferré et al., 1998). L'activation des récepteurs A1 va provoquer l'inhibition de l'adénylate cyclase par l'activation des protéines Gi ce qui va activer plusieurs canaux K⁺ et inactiver les canaux Ca²⁺ tel que les canaux N, P et Q (Fredholm et al., 2005). A l'inverse les récepteurs à la dopamine D1 vont être couplés positivement à l'enzyme adénylate cyclase (Ferré et al., 1998). La prise de caféine va alors bloquer l'activation des récepteurs A1 ce qui va entraîner, à l'inverse, une activation de l'enzyme, l'adénylate cyclase, qui va cataboliser l'ATP et va produire l'adénosine 3'5'-monophosphate cyclique (AMPc) ce qui formera par la suite l'adénosine. Cette augmentation de la signalisation de l'AMPc va augmenter le taux d'AMPc intracellulaire et également celui de la protéine kinase A (PKA). Cette protéine va phosphoryler GAT-1, qui est un transporteur du GABA. Ce changement va entraîner une diminution de l'absorption de GABA et augmenter la libération de GABA causé par la modification des transporteurs GAT-1 (Figure 17). La prise de caféine entrainerait une diminution de l'absorption de GABA et une augmentation du taux AMPc et de protéine GAT-1 (Borges-Martins et al., 2019).

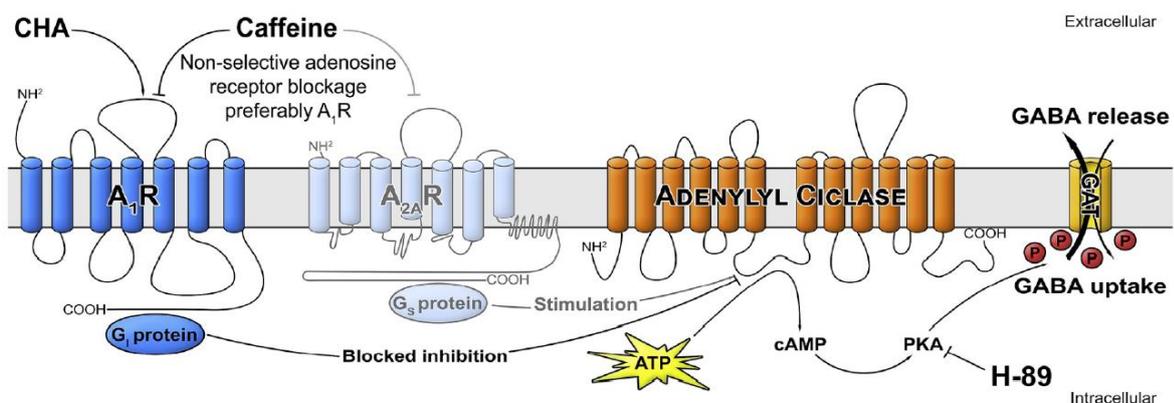


Figure 17. Interaction de la caféine avec les récepteurs A1 et A2A, et le système de neurotransmission Gabaergique (figure adaptée de Borges-Martins et al., 2019)

Cependant, Huang et al. (2005) ont montré le rôle prédominant de la caféine sur les récepteurs A2A et non des récepteurs A1. La caféine augmente l'éveil chez des souris Wild-type et knockout pour les récepteurs A1 mais pas chez des souris knockout pour les récepteurs A2A (Huang et al., 2005).

Les récepteurs A2A sont très présents dans le striatum bien qu'ils soient aussi trouvés dans les aires extra-striatales tels que le septum latéral, le cortex cérébelleux et l'hippocampe. Les récepteurs A2A sont aussi localisés dans les régions où est concentré la dopamine, plus particulièrement le récepteur à la dopamine D₂ et sont tous deux en interaction (A2AR-D2) (Ferré, 2008) La stimulation de ces récepteurs

A2A via l'adénosine entraîne une diminution de l'affinité de la dopamine pour ses récepteurs D2 (DRD2) (Ferré et al., 2008). Les récepteurs A2A vont avoir des actions partiellement opposées à celles des récepteurs A1. En effet, l'activation des récepteurs A2A va provoquer l'activation de l'adénylate cyclase via l'activation des protéines Gs, avec l'activation de la voie de signalisation AMPc-PKA induisant la formation de phosphate d'inositol et activera la protéine kinase C ainsi que la phosphorylation de la dopamine (Fredholm et al., 2005).

A l'inverse, la stimulation de DRD2 va contrecarrer l'activation de l'adénylate cyclase et induire une suppression des courants CA^{2+} des canaux calciques par la voie de signalisation dépendante de l'AMPc de la protéine kinase A et de la phospholipase C (Ferré et al., 2008). La caféine va bloquer l'action de ces récepteurs ce qui pourrait entraîner une amélioration de la signalisation de la dopamine résultant des récepteurs à la dopamine. Dans une étude de Volkow et ses collaborateurs, la prise de 300mg de caféine entraîne une amélioration de la signalisation striatal de la dopamine en augmentant la disponibilité des récepteurs à la dopamine D2 et D3 dans le striatum (Volkow et al., 2015). En effet, la caféine va produire des effets moteurs et renforçateurs en relâchant les freins pré et post-synaptiques imposés par l'adénosine à la neurotransmission dopaminergique.

La caféine peut également se lier aux récepteurs A2b et A3. L'activation du récepteur A2b demande une concentration élevée d'adénosine. Il a été démontré le récepteur A3 chez l'humain est particulièrement sensible à la xanthine, substance dérivée de la purine et présente dans la caféine mais reste tout de même peu efficace face aux effets de la caféine. Cependant ces récepteurs sont encore peu étudiés, particulièrement sur les actions de la caféine (Ribeiro et al., 2010).

II.4.b. Inhibition de la phosphodiesterase et mobilisation du stockage du calcium

La caféine agit comme un inhibiteur non sélectif de la phosphodiesterase. L'une des principales enzymes inhibées par la caféine est la phosphodiesterase 3'-5'. Ces enzymes hydrolysent le lien phosphodiesterase des molécules comme le cycle monophosphate de l'adénosine, c'est-à-dire qu'elles dégradent l'AMPc. En inhibant la phosphodiesterase, la caféine va favoriser la formation d'AMPc par l'enzyme adénylyl cyclase, et augmenter ainsi sa production (Sutherland et Rall, 1958). L'accroissement du taux d'AMPc intracellulaire va favoriser la lipolyse par l'activation des lipases hormonosensibles et la libération d'acides gras libres et de glycérol. Ceci va permettre de favoriser l'utilisation des lipides et donc d'épargner le glycogène musculaire. De plus, l'augmentation du taux d'AMPc pourrait entraîner une augmentation des concentrations des catécholamines circulantes. Ce qui pourrait expliquer la

stimulation cardiaque et l'effet antiasthmatique avec un effet relaxant bronchiolaire de la caféine (Echeverri et al., 2010). L'augmentation d'AMPc va entraîner également une vasoconstriction des vaisseaux cérébraux, un relâchement des fibres musculaires lisses, un effet inotrope et chronotrope sur le muscle cardiaque, un effet diurétique et une stimulation des muscles striés. Cependant pour arriver à ses résultats, une forte dose de caféine est recommandée (voir figure 18).

La caféine est utilisée en tant qu'agoniste des récepteurs de la ryanodine (RyR), des canaux calciques présents notamment dans différents muscles, dont le muscle cardiaque, et qui permettent la libération des ions CA^{2+} de la lumière du réticulum vers le cytoplasme (Meissner, 2017). Ceci explique ses effets potentiellement bénéfiques à doses modérées sur le système cardiovasculaire.

II.5 Les effets de la caféine

La caféine est généralement utilisée comme contre-mesure lorsqu'on a eu un sommeil insuffisant. En effet, la caféine peut être utilisée afin de lutter contre la somnolence, pour rétablir les performances cognitives mais également les performances physiques (Institute of medicine (US) committee on military nutrition research, 2001). Pour cela, de nombreux individus consomment de la caféine lorsqu'ils se sentent fatigués. Une question encore sans réponse peut être posée : Les individus sont-ils fatigués à cause de troubles ou manque de sommeil induisant une consommation de caféine, ou parce qu'après une consommation de caféine, leur sommeil est impacté, les faisant en consommer à nouveau le lendemain et induisant alors une boucle de consommation de caféine sans fin ?

II.5.a. Sur le sommeil :

La consommation de caféine est associée à des troubles du sommeil et particulièrement à l'insomnie. En effet, elle est associée à un sommeil non réparateur. Plus la consommation de caféine est élevée plus la durée de sommeil est faible et donc plus la probabilité d'avoir un sommeil non restaurateur est élevé (figure 18) (Chaudhary et al., 2016).

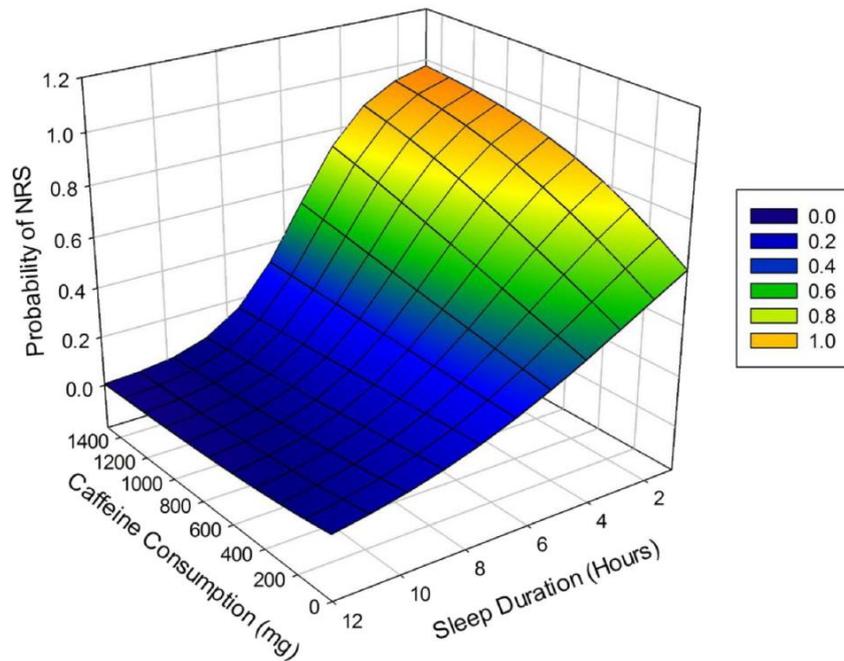


Figure 18. Représentation de l'interaction entre la consommation de caféine, la durée du sommeil et la prédiction d'un sommeil non restaurateur (Chaudhary et al., 2016).

Dans une étude de Drake et al., (2013) des participants ont consommé de la caféine (400mg) ou placebo, 6 h, 3 h ou 0 h avant le coucher. La consommation de caféine 3 h avant ou au moment du coucher a eu l'effet de diminuer considérablement le temps total de sommeil lorsque la caféine est consommée. L'effet de la caféine va diminuer le temps total de sommeil, va prolonger la latence d'endormissement, et va augmenter la durée d'éveil pendant le sommeil. L'architecture du sommeil est également impactée par la caféine en réduisant le temps passé en stade 1, 2 et 3 sans aucun effet sur le sommeil REM (Drake et al., 2013). Lors d'une privation de sommeil, la prise de caféine (0.3mg/kg/h) 2 h avant une sieste entraîne une augmentation de la latence d'endormissement, une diminution du temps passé en REM et une diminution du NREM (Van Dongen et al., 2001). Même la consommation de 100mg de caféine avant le coucher induit une augmentation de la latence d'endormissement et une diminution de l'efficacité du sommeil, et du temps passé en stade 3 en NREM avec une réduction de la densité de la puissance spectrale des ondes lentes (Landolt et al., 1995).

La caféine (200mg et 300mg) réduit la somnolence évaluée par des échelles subjectives et le nombre d'épisodes de sommeil diurne (Hansen et al., 2018). En résumé, la consommation de caféine, dès sa première dose, et même plusieurs heures avant d'aller se coucher va avoir un effet sur la latence, le temps total de sommeil, sur la structure du sommeil mais également sur le maintien de la vigilance et la diminution de la somnolence.

II.5.b. Sur l'humeur

La caféine va avoir un effet sur l'humeur et plus particulièrement sur l'anxiété et la dépression. Dans la population générale, la caféine semble avoir des effets anxiolytiques. Mais plus spécifiquement, il existe des variations génétiques du gène de ADORA2A associées à l'anxiété : les sujets porteurs du génotype T/T comparé au génotype C/C ont une susceptibilité plus élevée à l'anxiété induite par la caféine (Rogers et al., 2010, Childs et al., 2008 ; Alsene et al., 2003).

De plus, lors d'une privation totale de sommeil, l'inertie de la fatigue et la confusion était moins élevée après une prise de 600mg de caféine (Wesensten et al., 2001).

II.5.c. Sur les performances cognitives

Il a été observé un effet significatif de la caféine sur la somnolence, l'humeur, mais également sur la vigilance, les fonctions exécutives et la prise de décision (McLellan et al., 2016).

En effet, Wesensten et ses collaborateurs (2005) ont montré un effet de 600mg de caféine sur la vitesse au test de vigilance psychomotrice (Wesensten et al., 2001 ; Wesensten et al., 2005). Ceci a été montré sur de plus faibles doses dans l'étude de Hansen et ses collaborateurs (2018) où lors d'une privation de sommeil, la prise de 200mg ou 300mg de caféine permettaient d'atténuer l'augmentation du nombre de lapses au PVT par rapport au placebo, particulièrement prononcée pendant la nuit (Hansen et al., 2018). Également, une prise de caféine à faible dose répétée (0,3mg/kg/h) limite la dégradation du nombre de lapses causée par la privation de sommeil (Figure 19) (Dinges et al., non publié ; Spaeth et al., 2014). La caféine est connue pour son action éveillante sur les lapses et le temps de réaction lors d'un protocole de privation totale de sommeil (Wyatt et al., 2004) mais qu'en est-il des autres tâches cognitives plus complexes ?

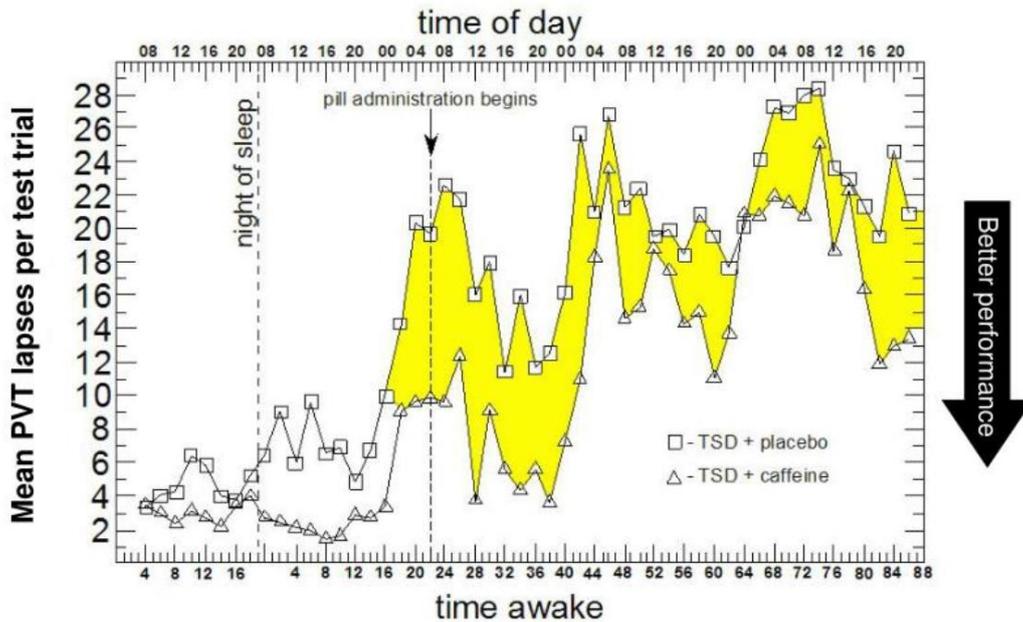


Figure 19. Performance au test de vigilance psychomotrice pendant 88-h d'éveil continu avec consommation de caféine (0.3mg/kg/1h). Publication Dinges et al., non publié.

Sur les autres performances cognitives, la caféine va avoir un effet éveillant, cependant, les résultats semblent controversés dans la littérature. La caféine semble avoir un effet limité sur l'inhibition (Barry et al., 2007) et la prise de décision (Killgore et al., 2007) mais semble efficace sur la mémoire (Mahoney et al., 2012 ; Hogervorst et al., 1999).

De plus, la caféine va également avoir des effets sur les performances au simulateur de conduite ou en conduite réelle. Il est connu que les conducteurs routiers, et particulièrement de nuit, consomment de la caféine pendant leur pause avant de reprendre la route. Il a été observé qu'une prise de 150mg de caféine diminue le nombre de franchissements de ligne et diminue la somnolence. De plus, la modification de l'EEG dans la bande alpha et thêta suite à la consommation de caféine était améliorée jusqu'à 1 heure après la consommation (Horne et Reyner., 1996). Lors d'une dette de sommeil, une diminution du nombre de franchissements de ligne, et une meilleure perception de leur performance au simulateur est observée (Biggs et al., 2007).

Finalement, la caféine consommée en dose modérée va améliorer la vigilance, la mémoire et l'humeur cependant elle n'est pas une contre mesure efficace lors de la réalisation de tâches cognitives plus complexes. Cela peut être expliqué par la dose de caféine donnée, le moment de l'ingestion (Lieberman et al., 2002), la source de la caféine (Kamimori et al., 2002) et les habitudes de consommation (Dager et al., 1999). L'effet de la caféine est plus important si le test est effectué lors de la production du

pic de concentration plasmatique de la caféine, c'est-à-dire 45 min à 1-h après consommation. Cela peut être également expliqué par l'évaluation de performances chez des sujets reposés ou en dette de sommeil. De plus, quelques études ont été réalisées sur l'influence de la variabilité interindividuelle, en particulier la génétique (Satterfield et al., 2015, 2015 ; Bodenmann et al., 2012) mais peu d'études ont pris en compte cette variabilité inter-individuelle sur les tâches cognitives complexes.

II.5.d. Sur les performances physiques

Bien que la caféine ne soit plus sur la liste de l'Agence Mondiale Anti-Dopage depuis 2005, cette substance éveillante reste fortement encadrée. Elle est très populaire dans le monde du sport, avec 89% des participants à l'Ironman de 2005 qui prévoyaient d'utiliser des substances caféinées avant ou pendant le triathlon (Desbrow et Leveritt., 2006). Cependant, les effets de la caféine pour améliorer les performances physiques restent encore controversés.

Sur les performances aérobies, la prise entre 3 et 6 mg/kg de caféine semble avoir un effet bénéfique sur des exercices modérés d'endurance (Ganio et al., 2009). Graham et al. (2000) montre que le métabolisme des glucides et celui des graisses sont restés inchangés après la consommation de caféine lors d'un exercice à 70% pendant 60 min. Ce résultat montrerait que la caféine n'agit pas sur les sources d'énergie mais probablement sur le système nerveux central en bloquant les récepteurs à l'adénosine A2A et A1 ce qui va stimuler les récepteurs dopaminergiques (D2) et favoriser ainsi l'augmentation de l'activité motrice. Cependant toutes les études n'observent pas d'effet de la caféine sur la performance aérobie (Desbrow et al., 2009).

De leur côté, Tallis et al. (2015) expliquent que la consommation de caféine augmente la contractilité et la libération systolique de Ca^{2+} dans des fibres musculaires squelettiques sur le muscle isolé. Par ailleurs, la caféine augmenterait la force, la puissance en activant les unités motrices ce qui améliorerait l'endurance musculaire pendant l'exercice mais également les performances anaérobies (Warren et al., 2010).

Pour un effet de la caféine sur les performances anaérobies ou sur des activités motrices spécifiques, la caféine aurait un effet bénéfique sur l'amélioration des performances (Souissi et al., 2014 ; Lara et al., 2014). Lors d'un test de cyclisme de 12 sprints intermittents, la puissance moyenne, le travail total et le pic de puissance étaient plus élevés après consommation de caféine par rapport à la condition placebo (Lee et al., 2012). Cette amélioration serait expliquée par la vitesse de conduction des fibres musculaires et à l'augmentation de l'activation d'unité motrice (Bazzucchi et al., 2011). Sur un test de Wingate, le groupe caféine a un pic de puissance et une puissance moyenne supérieurs au groupe

placebo pendant une privation de sommeil (Souissi et al., 2014). L'index de fatigue est augmenté par la privation totale de sommeil et va être diminué par la consommation de caféine. De plus, le squat jump, également dégradé par la privation, va être amélioré par la prise de caféine (Souissi et al., 2014).

Ces améliorations de la performance physique aérobie ou anaérobie pourraient être expliquées par l'action positive de la caféine sur la perception de l'effort et sur la motivation. La perception de l'effort après ingestion de caféine va se maintenir ou être réduite jusqu'à 6% et représenterait jusqu'à 30% de la variance sur des tests d'exercice jusqu'à épuisement (Doherty et al., 2005). Ce qui peut également jouer sur l'amélioration des performances après ingestion de la caféine et la sur motivation avant l'effort. De plus, la motivation après ingestion de caféine est significativement plus élevée qu'en placebo, ce qui peut jouer sur l'amélioration des performances (Cesareo et al., 2019).

La caféine a également été testée pour évaluer des performances au tir (Torres et al., 2019). Après une privation de sommeil, le temps de réaction au tir était plus rapide dans la condition caféine que placebo (Tharion et al., 2003). Cependant, toutes les études n'observent pas d'effet de la caféine sur les performances (Lieberman et al., 2002). La caféine semble améliorer le temps de réaction de tir mais pas forcément la précision au tir (Torres et al., 2019).

De même que pour les performances cognitives, la réponse ergogène à la caféine pendant des exercices physiques (aérobie ou anaérobie) peut être modifiée par différents facteurs comme la dose de caféine ingérée, le moment de l'ingestion, la source de la caféine, l'habitude de consommation de caféine mais également par la pratique sportive de l'individu en plus des différences interindividuelles en réponse à la caféine. En plus de ses différentes variations interindividuelles, la génétique joue aussi sur cette variabilité des effets de la caféine (variation de la pharmacodynamie de la caféine). Cependant, peu d'études ont évalué l'influence de polymorphismes génétiques sur les performances physiques (Carswell et al., 2020 ; Grgic et al., 2020).

En résumé, une revue de questions récente a documenté quelles étaient les différentes doses de caféine associées aux performances cognitives et physiques chez des sujets reposés ou privés de sommeil (Tableau 2 (McLellan et al., 2016)).

Tableau 2. Doses de caféine (mg/kg) associées à des effets cognitifs et physiques chez des sujets reposés et privés de sommeil (McLellan et al., 2016).

| Cognitive/Physical Domain | Caffeine Dose for Effect (mg kg ⁻¹) | |
|---------------------------|--|---|
| | Rested | Sleep Deprived |
| Reaction Time | 0.3–4.0 [1 h before testing] | 3.0–8.5 [1 h before testing] |
| Vigilance | 0.5–4.0 [1 h before testing] | 3.0–8.5 [1 h before testing with smaller dose repeated during period of wakefulness] |
| Attention | 0.3–5.5 [1 h before testing] | 2.5–8.0 [1 h before testing] |
| Acute Memory | 1.0–4.0 [equivocal findings] | Unknown |
| Chronic Effects on Memory | Positive relationship between habitual use (0–10) and performance | Unknown |
| Executive Function | 0.7–5.5 [higher dose required for habitual user] | 10.7 [2.7 repeated every 2 h for total 10.7/night for 3 nights] |
| Judgement/Risk Taking | Unknown | 8.0–10.7 [equivocal findings, higher doses represent cumulative total from redosing during overnight] |
| Endurance Exercise | 3.0–9.0 [1 h before, higher dose for users, effects last longer for non-users] | 8.0 [divided unequally over 7 h to restore to control] |
| | 1.5–2.5 [during or following prior exercise] | 8.0 [divided equally over 6 h to improve over control] |
| Muscle Strength/Power | 3.0–6.0 [1 h before] | 10.7 [2.7 repeated every 2 h for total 10.7/night for 3 nights] |
| High-Intensity/Sprint | 3.0–10.0 [1 h before to immediately prior to exercise] | 10.7 [2.7 repeated every 2 h for total 10.7/night for 3 nights] |
| Muscle Pain | 3.0–10.0 [1 h prior to exercise with smaller dose repeated during exercise, independent of habitual use] | Unknown |

II.5.e. Sur les réponses immuno-inflammatoires, endocriniennes et métaboliques

La caféine joue un rôle dans l'inflammation (Horrigan et al., 2004). En effet la caféine va avoir des effets antioxydants et des propriétés anti-inflammatoires et pourrait être associée à une réduction du risque de maladies qui ont un faible niveau d'inflammation ou de stress oxydatif comme certaines maladies cardiovasculaires, certains cancers et le diabète de type 2 (Paiva et al., 2019).

Chez des rats privés de 48h de sommeil, la prise de 60mg/kg/jour de caféine ou de 100 mg/kg/jour de modafinil a diminué significativement les cytokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-1 β , et IL-6 et a augmenté les cytokines anti-inflammatoires IL-4 et IL-10 dans l'hippocampe par rapport au placebo (Wadhwa et al., 2018). La caféine ou le modafinil restaurent les cytokines anti-inflammatoires pendant une privation de sommeil. De plus, la consommation de caféine a réduit l'expression d'ARNm du TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6, et a régulé l'expression de l'ARNm d'IL-4 et IL-10 en l'augmentant, lors d'une privation de sommeil (Wadhwa et al., 2018). Cependant, chez l'homme, lors d'un protocole de 4 jours (88-h) de privation de sommeil avec possibilité de 2 heures de siestes, la consommation de caféine (0,3mg/kg/h) n'a montré aucun effet sur IL-6, IL-10, TNF- α , les récepteurs solubles d'IL-2, TNF- α RI et sTNF- α RII (Shearer et al., 2001). Cela peut être expliqué par la dose faible de caféine consommée bien que répétée, à la différence de la dose donnée dans l'étude animale.

Sur les paramètres cardiovasculaires, la caféine va également jouer un rôle. Avant la privation de sommeil, la fréquence cardiaque était plus faible chez ceux qui ont consommé 200 mg de caféine par rapport aux placebos et à 300 mg de caféine. Une augmentation de la composante haute fréquence du

spectre de puissance de la variabilité cardiaque (HRV) a été observé chez les groupes caféine (Crooks et al., 2019). Les mêmes observations ont été faites après 48-h d'éveil continu.

De plus, la prise de caféine augmente la température corporelle que ce soit pour des fortes concentrations de caféine (600mg) ou encore après de faibles doses répétées (0,3m/k/h) (Spaeth et al., 2014 ; Wesensten et al., 2001). L'augmentation de la température corporelle est également observée avec l'augmentation du taux de noradrénaline plasmatique. (Speath et al., 2014). La caféine à forte dose (8,6mg/kg) a augmenté le taux d'adrénaline pendant 49h d'éveil continu, bien que ce résultat ne soit pas observé sur la noradrénaline (Kamimori et al., 2000).

II.5.f. Les effets secondaires indésirables

La caféine est également associée à de nombreux effets secondaires indésirables souvent à forte consommation, tels que l'augmentation de la nervosité, de l'excitation et de la joie, ainsi que des palpitations, des tremblements, des douleurs abdominales et des nausées (Wesensten et al., 2001 ; Wesensten et al., 2005 ; Killgore et al., 2008). Chez des forts consommateurs, vingt-quatre heures d'abstinence de caféine entraînent une augmentation des maux de tête associée à une augmentation de l'irritabilité (Juliano et al., 2004). L'effet secondaire indésirable le plus important est l'insomnie induit par la consommation de caféine. La prise de caféine va atténuer l'EEG lors d'une nuit de récupération, après une dette de sommeil, en diminuant le taux de NREM et l'efficacité du sommeil en comparaison à du placebo. De plus, la caféine va influencer également l'activité EEG en diminuant les faibles fréquences (delta) et en augmentant l'activité de la fréquence alpha (Rétey et al., 2006).

Egalement, il est important de prendre en compte la présence de caféine dans les boissons dites « énergisantes » qui sont de plus en plus consommées par la population et qui sont généralement associées à des modes de consommation (mêlé à l'alcool, pendant une performance physique, etc) qui peuvent entraîner des risques cardiovasculaires, psycho-comportementaux ou neurologiques⁵.

En fonction de la dose, de la forme, de la condition (reposée ou en dette de sommeil) mais aussi de l'habitude de consommation de caféine de l'individu, les effets indésirables de la caféine ne sont pas

⁵ Avis N° 2012-SA-0212 (2013) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

forcément présents. Une consommation maximale de 400 mg de caféine par jour est donc recommandée.

En conclusion, il est important de prendre en compte l'importance de la variabilité interindividuelle face au sommeil, aux effets neurocomportementaux liés à la dette de sommeil, et aux effets de la caféine afin d'adapter interindividuellement les conseils de consommation à la population générale, aux athlètes et aux militaires (Nehlig, 2018).

En résumé :

- La caféine est présente dans de nombreux aliments. La forme la plus courante est le café
- La consommation moyenne de caféine en France est de 243 mg/j/adulte. Cette consommation est plus élevée dans la population militaire.
- Les effets de la caféine se caractérisent par la pharmacocinétique (métabolisation de la caféine) et la pharmacodynamie (effet de la caféine). Le pic plasmatique de caféine est atteint environ 45 ± 15 min après absorption à jeun.
- Ses principaux mécanismes d'action sont l'antagonisme des récepteurs à l'adénosine, la mobilisation du stockage intracellulaire du calcium et l'inhibition des phosphodiesterases.
- Des effets bénéfiques de la caféine sont observés à la fois sur les performances cognitives et physiques. La caféine induit également des modifications des réponses immuno-inflammatoires, endocriniennes, métaboliques et cardio-vasculaires.
- Des effets indésirables de la caféine sont fréquemment observés, en particulier sur le sommeil.
- La variabilité des réponses à la caféine peut être liée à la quantité, la forme, la durée après absorption et les habitudes de consommation de caféine.

Après avoir évoqué les généralités sur la caféine et ses effets, nous étudierons dans le chapitre suivant l'existence d'une variabilité interindividuelle, induite notamment par des polymorphismes génétiques.

III. La variabilité interindividuelle de la durée et de la structure du sommeil, des réponses neurocomportementales à la dette de sommeil, et des effets de la caféine

De multiples facteurs vont influencer la durée du sommeil, les réponses neurocomportementales à la dette de sommeil, et les effets de la caféine. Les différences interindividuelles peuvent être liées à l'âge, au sexe, aux habitudes de vie (l'activité physique, le stress, l'environnement, la santé, l'habitude de consommation de caféine...), mais également aux polymorphismes génétiques.

III.1. Généralité : la génétique

De nombreuses études montrent que de nombreux aspects du sommeil et de la régulation des états de veille et de sommeil, ou encore les réponses neurocomportementales à une privation de sommeil, et les effets de la caféine présentent des différences interindividuelles reflétant des traits phénotypiques. Chacun de ces aspects est probablement sous un contrôle polygénique.

III.1.a. L'information génétique et l'acide désoxyribonucléique

L'ADN présent dans les noyaux des cellules somatiques eucaryotes contient toute l'information génétique appelé le génome. L'ensemble du génome humain comporte environ 25 000 gènes répartis dans 23 paires de chromosomes. Chaque gène contient l'information génétique particulière pour coder une protéine (Figure 20).

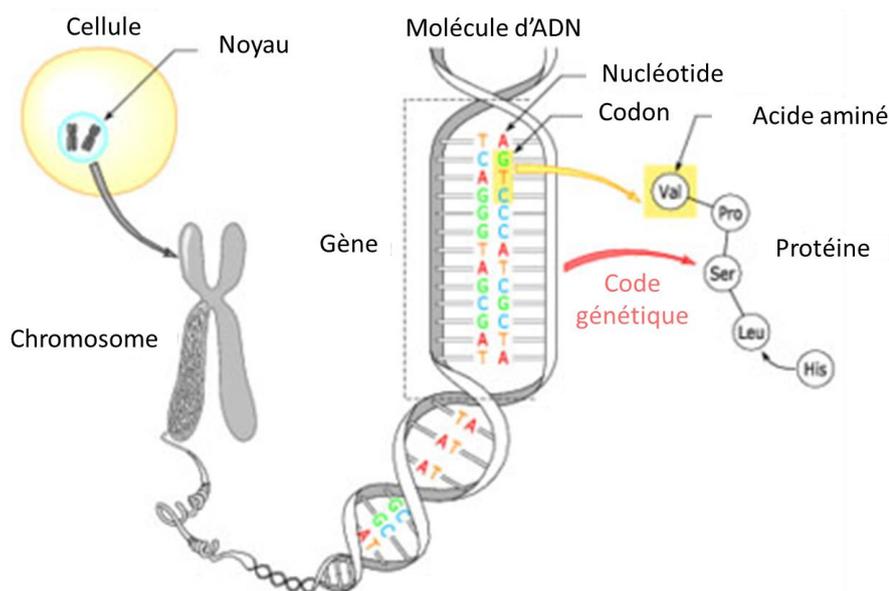


Figure 20. De la cellule à la protéine (© rue des écoles / Rémi PICARD)

Un gène est constitué de plusieurs centaines de bases et comporte des zones codantes, appelées exons et des zones non-codantes incluant les introns, les régions 5' et 3' non traduites et les séquences impliquées dans la régulation de l'expression du gène. L'enchaînement des bases constitue le code génétique et chaque protéine est codée par une séquence spécifique.

La synthèse protéique comporte trois étapes principales : la transcription, l'épissage et la traduction. La transcription se déroule dans le noyau. L'ARN pré messager issu de la transcription va devenir un ARN messager mature (ARNm) par épissage alternatif. L'ARNm est constitué d'une succession de codons. Chaque codon, composé d'un triplet de bases, codent pour un acide aminé précis mais il existe plusieurs codons pour un même acide aminé. Le code génétique comprend également des codons initiateurs et des codons stop qui définissent le cadre de lecture de l'ARNm par les ribosomes. La lecture des ARNm au sein des ribosomes cytoplasmiques induit la synthèse des protéines sous leur forme primaire.

Toute variation dans la séquence de bases est susceptible d'engendrer des conséquences sur la synthèse protéique. Il existe plusieurs types de polymorphismes génétiques : les délétions et les insertions de grande taille, les répétitions variables de petites séquences (VNTR) et l'insertion, la délétion ou la substitution mono-nucléotidique (SNP) (Frazer et al. 2009). Les polymorphismes mono-nucléotidiques sont la forme de variation la plus répandue dans le génome. Le génome humain est entièrement séquencé. L'emplacement de chaque gène (locus) est connu et a été référencé dans des bases de données génétiques. Un allèle correspond aux divers nucléotides pouvant occuper une même position dans un gène et sont également répertoriés dans ces bases de données. Un groupe d'allèles situé sur un locus transmis ensemble constitue un haplotype lors de la méiose (Gabriel, 2002).

III.1.b. Le polymorphisme mono-nucléotidique

Les polymorphismes mono-nucléotidiques couramment appelés SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) sont très abondants dans le génome humain. Ils représentent plus de 90% des variations de séquences dans le génome humain et ils sont présents tous les 300 à 1 000 paires de bases chez l'Homme (Brookes 1999). Il existe plus de dix millions de SNPs découverts, référencés dans des bases de données telles que la base de données « Ensemble GRCh38 » [<http://www.ensembl.org/>] (Cunningham et al., 2015) ou encore la base de données « 1000 génomes » [<http://www.1000genomes.org/>] (Auton et Salcedo., 2015). Ces SNPs sont classifiés par des numéros de référence séquence, les rs. Par exemple un SNP connu d'ADORA2A est le rs5751876. Chaque SNP se définit par la fréquence de deux allèles dans une population observée. La fréquence de l'allèle mineur, le plus rare, s'appelle le « minor allele frequency » (MAF) et doit être présent dans au moins 1% de la population étudiée pour être considéré

dans les bases de données. Les SNPs sont des variations bi-alléliques entraînant la modification d'un seul nucléotide sur un locus spécifique ou sur un seul ou les deux chromosomes (Figure 21). Un individu porteur de la modification d'un seul allèle est considéré comme hétérozygote, ceux porteurs de deux allèles sont qualifiés d'homozygotes ancestral ou muté. Ces mutations génétiques sont présentes dans les régions codantes, exoniques mais également dans les régions non-codantes du génome. Les équipes de recherche ont longtemps privilégié les mutations qui modifient les séquences de protéines : les mutations faux-sens et non-sens. Les mutations faux-sens engendrent l'incorporation d'un acide aminé différent et modifient donc la synthèse protéique. Les mutations non-sens provoquent l'arrêt prématuré de la traduction et abrègent la synthèse de la protéine.

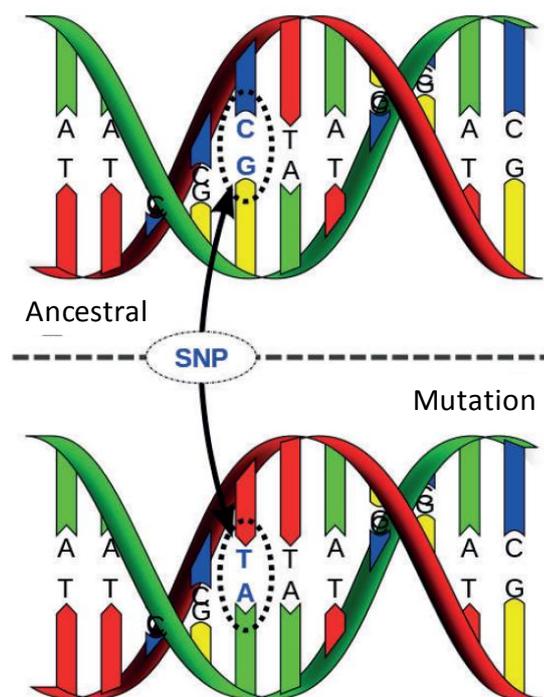


Figure 21. Polymorphisme mono nucléotidique (Ayday et al., 2013)

Des travaux récents montrent l'importance des mutations dites silencieuses (Hunt et al., 2014). Ces mutations regroupent les variations dans les régions non-codantes et les mutations synonymes dans les régions codantes. L'existence des mutations synonymes est liée à la redondance du code génétique, la substitution d'un codon par un autre codon peut engendrer le même acide aminé. L'ensemble des mutations silencieuses peuvent modifier la régulation de l'expression d'un gène, l'épissage, la stabilité et la structure de l'ARNm, ainsi que l'abondance et la structure tertiaire de la protéine (Hunt et al., 2014).

III.2. Implication des polymorphismes génétiques dans la dette de sommeil et les effets de la caféine

Récemment des variations interindividuelles au sommeil et en réponse à la privation de sommeil ont été confirmées. Des profils de grande vulnérabilité ou de grande résistance ont été observés pendant des protocoles de dette de sommeil. La génétique semble être un des facteurs influençant les réponses à la dette de sommeil, mais plus particulièrement certains polymorphismes génétiques (Goel, 2011, 2017 ; Clark et Landolt., 2016 ; Tkatchenko et al., 2018). Les différents polymorphismes génétiques décrits ci-dessous sont répertoriés dans l'Annexe 1 précisant leur référence séquence, leur allèle, leur position, le nombre d'exons, la position du SNP et le type de mutation.

III.2.a. Le système adénoenergique

Le système adénoenergique est important dans la régulation du cycle veille /sommeil. Les polymorphismes d'ADORA2A et d'ADA semblent influencer sur les caractéristiques du sommeil, les réponses neurocomportementales à la dette de sommeil, et les effets de la caféine.

Le polymorphisme du récepteur à l'adénosine A2A le plus étudié est le rs5751876, potentiellement associé à la modification de l'expression des récepteurs A2A mais surtout aux effets de la caféine (Rétey et al., 2007). Pour ce polymorphisme, on observe une substitution de la cytosine (C) en thymine (T). L'architecture du sommeil n'est pas modulée par les génotypes C/C et T/T du polymorphisme d'ADORA2A, cependant les porteurs de l'allèle C/C ont montré une plus grande puissance spectrale dans les bandes de fréquence thêta haute fréquence et l'alpha basse fréquence dans le NREM, le REM et l'éveil en comparaison des porteurs de l'allèle T/T (Rétey et al., 2005). Ces résultats suggèrent que les porteurs de l'allèle C/C ont une amélioration de manière non spécifique de l'état de vigilance et de sommeil. De plus, sans prendre en compte la consommation de caféine, Bodenmann et al. (2012) ont montré une différence entre les haplotypes issus de 8 SNPs d'ADORA2A. L'haplotype appelé « HT4 » dans son étude, qui incluait l'allèle C pour le rs2236624 et l'allèle T pour le rs5751876, présentait une plus grande résistance à la privation de sommeil, avec une rapidité au PVT plus grande que les autres haplotypes non-HT4.

Lors d'un protocole de restriction de sommeil, Rupp et al. (2013) ont observé chez les porteurs du génotype C/T une plus grande résistance à la dette de sommeil car ils faisaient moins de lapses et étaient plus rapides que les porteurs du génotype T/T. Cependant, Satterfield et al., (2015) n'ont pas observé d'influence du polymorphisme ADORA2A sur les réponses à la privation totale de sommeil. Le rs5751876 a été associé à des troubles de panique et à une personnalité anxieuse, particulièrement pour

le génotype T/T (Hohoff et al., 2010). De même, les rs5751862, rs2298383 et rs3761422 sont associés à une personnalité anxieuse avec respectivement les porteurs de l'allèle G, C et T montrant un score plus élevé que les allèles A, T et C (Hohoff et al., 2010). Les porteurs du génotype T/T du rs229838, ont été associés à une diminution du risque de dépression, de troubles du sommeil et une plus grande facilité de concentration et prise de décision en comparaison aux porteurs de l'allèle C (Oliveira et al., 2019).

Le polymorphisme du gène de l'adénosine désaminase (ADA) (rs73598374), substitution de la cytosine (C) en thymine (T), joue un rôle dans l'homéostasie de la régulation du sommeil. Ce polymorphisme est souvent présenté dans les études en tant que transcrite sous la forme d'une substitution de guanine (G) en adénine (A). Cette enzyme, ADA, participe par catalyse, à la dégradation de l'adénosine en inosine régulant ainsi le taux d'adénosine extracellulaire. Son polymorphisme le plus étudié est le rs73598374 et a été associé avec la pression homéostatique du sommeil pendant un sommeil normal ou en privation totale de sommeil. En effet, les porteurs de la mutation G/A ont montré une plus grande prévalence et amplitude des ondes lentes par rapport au G/G, modulant ainsi la durée et l'intensité du sommeil lent (Reitey et al., 2005 ; Bachmann et al., 2012a). Plus spécifiquement, les porteurs du génotype G/A ont une puissance spectrale plus grande en stade 1 dans les bandes de fréquence delta, thêta et bêta, ainsi qu'en stade 2 et REM dans la bande de fréquence thêta, et en stade 3 dans la bande delta (Mazzotti et al., 2012). De plus, les G/A sont plus somnolents en journée montrant une pression de sommeil plus élevée que les G/G, avec une activité thêta et alpha plus grande (Bachmann et al., 2012a). Le polymorphisme d'ADA module également les réponses sur l'attention soutenue avec les porteurs du génotype G/A qui semblent moins performant, illustré par une vitesse plus lente et plus de lapses, que les porteurs du génotype G/G (Bachmann et al., 2012a).

Lors d'un protocole de 40-h d'éveil continu avec possibilité de sieste, les génotypes d'ADA modulent la puissance spectrale en fonction du cycle circadien (Reichert et al., 2014). Les porteurs du génotype G/A passent moins de temps en stade 1, reste plus éveillés tard le soir et dorment moins en comparaison des G/G, à la sieste du soir. Alors qu'à l'inverse, la sieste du matin montre une plus grande durée passée en NREM et surtout avec des ondes lentes plus importantes chez les porteurs du génotype G/A. De plus, leur puissance delta est plus importante que les porteurs du génotype G/G alors que ces derniers ont une diminution de la puissance EEG en delta la journée qui ré-augmente après la nuit biologique. Enfin, une association positive entre la mémoire, la durée de sommeil en REM est observée pour les porteurs du génotype G/A (Reichert et al., 2014).

En résumé, des polymorphismes d'ADORA2A et d'ADA modulent les réponses à la privation de sommeil (Figure 22). Les porteurs de l'haplotype HT4 sont plus rapides pendant une privation de sommeil,

montrant une plus grande résistance à la dette de sommeil (Bodenmann et al., 2012). Les porteurs de l'allèle G/A de ADA subissent une plus grande pression du sommeil et sont moins rapides que les G/G, montrant ainsi un rôle du polymorphisme d'ADA dans la modulation à la réponse à la privation de sommeil et à l'homéostasie du sommeil.

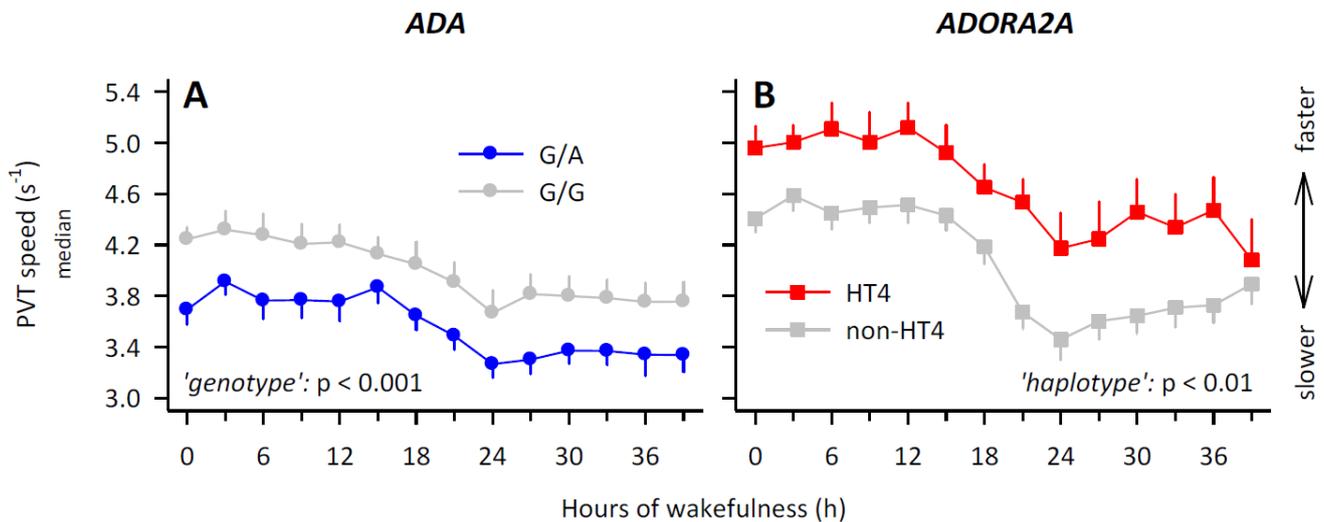


Figure 22. Réponse à la vitesse au PVT pendant une dette de sommeil chez des porteurs des polymorphismes d'ADA et d'ADORA2A (Urry et Landolt, 2014)

Les polymorphismes d'ADORA2A sont aussi associés à la consommation de caféine (Cornelis et al., 2007), à une sensibilité aux effets de la caféine (Byrne et al., 2012 ; Retey et al., 2007) mais également à l'induction de l'anxiété par la caféine (Alsene et al., 2003 ; Childs et al., 2008 ; Rogers et al., 2010). Le polymorphisme d'ADORA2A (rs5751876) a été associé à l'insomnie et à l'anxiété induites par la caféine (Retey et al., 2007, Rogers et al., 2010). Les porteurs du génotype ancestral C/C semblent plus sensibles à la caféine que les porteurs du génotype T/T induisant une insomnie après consommation de 200mg. Les porteurs du génotype T/T ont une augmentation de l'anxiété après une prise de 100mg ou 150mg de caféine qui n'est pas retrouvée chez les porteurs des génotypes C/C et C/T (Rogers et al., 2010, Alsene et al., 2003, Childs et al., 2008). Cet effet a été observé particulièrement chez les porteurs du génotype T/T qui consommaient de faibles doses de caféine et non chez les forts consommateurs. De même, le rs5751876, le rs2298383 et le rs4822492 sont également associés à l'anxiété induite par la caféine (Childs et al., 2008). Les porteurs du génotype C/C (respectivement) ont rapporté une plus grande anxiété après une prise de 150 mg de caféine que les porteurs des génotypes T/T (rs2298383) et G/G (rs4822492). Il a été également montré que plusieurs polymorphismes du gène d'ADORA2A (rs5751876, rs5751862, 2298383 et rs3761422) sont associés à une personnalité anxieuse (Hohoff et al., 2010).

La consommation de caféine varie également en fonction des polymorphismes génétiques d'ADORA2A. Comme les porteurs du génotype T/T du rs5751876 ont une forte anxiété liée à la caféine, ils semblent plus susceptibles de limiter leur consommation de caféine (Cornelis et al., 2007). Pour le rs3761422, une plus grande consommation de caféine a été observée chez les porteurs du génotype T/T par rapport aux porteurs de l'allèle C (Rogers et al., 2010). Rupp et al. (2013) ont montré que les porteurs du génotype C/T ont une plus grande résistance à la dette de sommeil illustrée par moins de lapses et une vitesse de réponse plus rapide comparé aux porteurs du génotype T/T, lors d'une restriction de sommeil (un seul porteur C/C non inclus). Seul Bodenmann et al. (2012) ont observé l'influence d'haplotypes de 8 SNPs d'ADORA2A sur la caféine pendant une privation totale de sommeil (Bodenmann et al., 2012). Les porteurs de l'haplotype « HT4 » montrant une résistance plus élevée illustrée par une vitesse plus grande au PVT par rapport aux haplotypes HT1, HT2, HT3 et HT5 (non-HT4). La prise de 2 x 200mg de caféine pendant la privation de sommeil montre une amélioration des performances au PVT chez les non-HT4 mais pas chez les HT4. Ces auteurs ont suggéré que l'haplotype HT4 qui incluait l'allèle C pour le rs2236624 et l'allèle T pour le rs5751876 semblait contribuer à une résilience à la privation de sommeil et aux effets de la caféine (Bodenmann et al., 2012).

Pour le polymorphisme d'ADA (rs73598374), les génotypes sont associés au sommeil et à la consommation de caféine. En effet, les porteurs de l'allèle A ont un pourcentage d'efficacité de sommeil plus élevée que les porteurs du génotype G/G (Mazzotti et al., 2011). Chez les consommateurs de caféine, les porteurs de l'allèle A montrent une latence d'endormissement plus courte, une efficacité de sommeil plus élevée, un temps d'éveil intra-nocturne plus faible et un pourcentage de temps passé en REM plus élevée que les porteurs de l'allèle ancestrale G/G (Mazzotti et al., 2011). Chez les non-consommateurs de caféine, aucune différence n'a été observé entre les génotypes.

III.2.b. Les cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines pro-inflammatoires tels que TNF- α , IL-1 β et IL-6 sont impliquées dans la régulation du cycle veille/sommeil (Jewett et al., 2012). Pour cette raison, leurs polymorphismes sembleraient avoir un rôle dans la réponse à la dette de sommeil.

Le polymorphisme du gène de TNF- α présente une substitution de la guanine (G) en adénine (A) à la position 308 (TNF- α G308A). Satterfield et al. (2015) ont montré l'existence de l'influence de ce polymorphisme dans la réponse à la privation de sommeil sur l'attention soutenue. Pendant un temps de 38-h d'éveil continu, les sujets ont effectué un test de PVT toutes les 6-h. Ceux porteurs de l'allèle A étaient plus performants (moins de lapses) que les porteurs du génotype G/G, montrant une plus grande résistance à la privation de sommeil (Satterfield et al., 2015) (Figure 23). En basal avant privation de

sommeil, les porteurs de l'allèle A produisent un temps de réaction cumulé plus rapide que les porteurs du génotype G/G, et ceci est accentué après par la privation de sommeil (Satterfield et al., 2017).

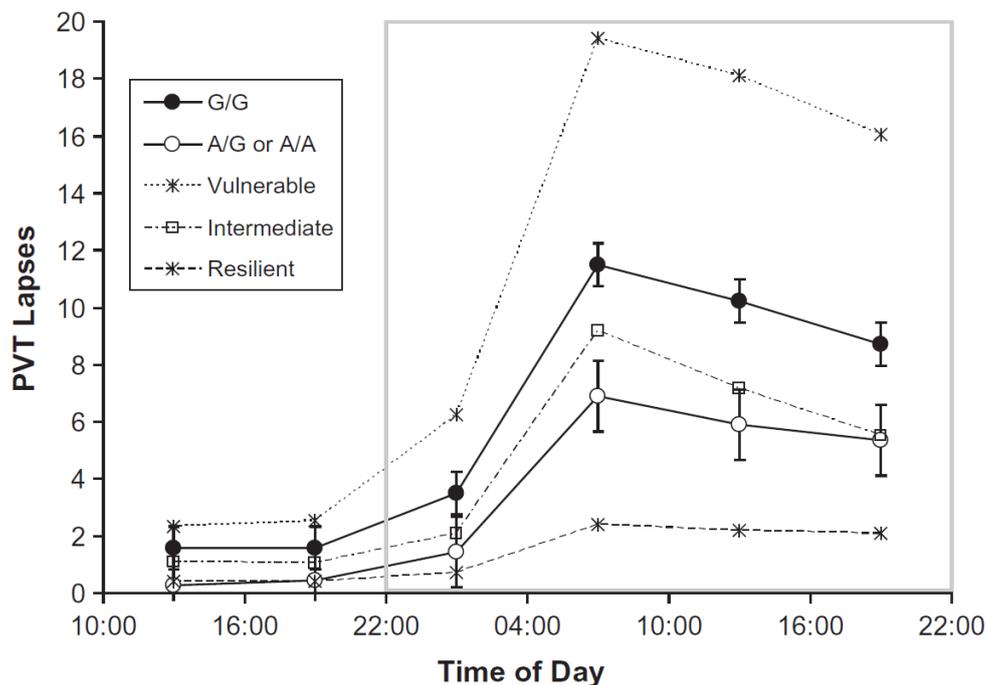


Figure 23. Moyenne du nombre de lapses au PVT en cinétique toutes les 6-h pendant une privation totale de sommeil chez des porteurs du génotype ancestral G/G vs les porteurs de l'allèle muté A (G/A-A/A) (Satterfield et al., 2015).

Pour les autres cytokines, les polymorphismes d'IL-1 β et IL-6 sont associés aux troubles du sommeil chez des patients malades. Pour le polymorphisme d'IL-1 β (rs1143627) une substitution de la guanine (G) se fait en adénine (A). Ce polymorphisme a été étudié chez des malades d'Alzheimer, montrant que les porteurs de la mutation avaient plus de troubles du sommeil avec une somnolence plus excessive en journée que les porteurs de l'allèle ancestral. Cependant ceci n'a pas été observé chez des sujets sains (Yin et al., 2016). Pour le polymorphisme d'IL-6, qui montre une substitution de l'adénine (A) en thymine (T), chez des patients malades, ceux porteurs de l'allèle A/A ont montré une plus grande fatigue le matin et le soir avec plus de troubles du sommeil (Miaskowski et al., 2010). Ces polymorphismes de gène d'IL-1 β et d'IL-6 sont particulièrement associés aux risques de développer certaines maladies ou une fatigue accrue chez des patients malades. Des études complémentaires seraient nécessaires pour évaluer de façon plus précises leur implication dans le sommeil chez le sujet sain.

III.2.c. Les systèmes catécholaminergique et dopaminergique

Le système monoaminergique est l'une des voies ascendantes du système favorisant l'éveil (Dauvilliers et al., 2014). Plusieurs études ont montré l'implication des polymorphismes du gène COMT (catéchol-O-méthyltransférase), l'enzyme dégradant les catécholamines, mais également de DRD2 et DAT1, qui sont respectivement un récepteur et un transporteur dopaminergiques, dans la vulnérabilité neurocomportementale à la privation de sommeil (Satterfield et al., 2017 ; Satterfield et al., 2018 ; Holst et al., 2017 ; Bodenmann et al., 2010 ; Dauvilliers et al., 2014 ; Goel et al., 2011).

Le polymorphisme de COMT rs4680 implique la substitution de guanine (G) en adénine (A) correspondant à la valine (Val) et à la méthionine (Met) respectivement à la position 158 (COMT Val158Met). Ce polymorphisme semble impliqué particulièrement dans la modulation des réponses neurophysiologiques et neurocomportementales lors d'une dette de sommeil. Plus particulièrement, ce polymorphisme prédit une différence interindividuelle dans la physiologie et l'homéostasie du sommeil (Goel et al., 2011). Les sujets porteurs du génotype Val montraient une faible augmentation dans le sommeil lent, une faible diminution du temps passé stade 2, plus de temps passé en stade 1 et une latence en REM plus courte lors d'un protocole de restriction de sommeil, indiquant une baisse du sommeil homéostatique (Goel et al., 2011). De plus, les porteurs du génotype Val/Val montrent une puissance dans la bande de fréquence supérieur d'alpha plus faible que les porteurs du génotype Met lors de l'éveil, et du sommeil (Bodenmann et al., 2009a).

Le polymorphisme de COMT semble également jouer sur les réponses aux performances cognitives lors d'une dette de sommeil. Sur une tâche de GonoGo reverse (évaluant l'inhibition et l'adaptation), les porteurs du génotype Val ont montré une faible performance lors d'une privation de sommeil en comparaison aux porteurs du génotype Met/Met (Satterfield et al., 2018). Ces résultats montrent une vulnérabilité importante à la privation de sommeil pour les porteurs du génotype Val, plus particulièrement prononcée chez les homozygotes Val/Val sur cette tâche (Satterfield et al., 2018). De plus, les résultats observés au PVT montrent que les porteurs du génotype Val/Val produisaient plus fréquemment des temps de réaction plus rapides en particulier au repos et que cette différence était accentuée lors de la privation totale de sommeil (Satterfield et al., 2017) (Figure 24). Cependant toutes les études n'observent pas d'effet du polymorphisme de COMT sur le PVT ou la somnolence subjective (Goel et al., 2011). Le polymorphisme de COMT semble influencer les réponses neurocognitives et neurophysiologiques lors d'une dette de sommeil ou au repos. Cependant, les polymorphismes de DAT1 et de DRD2 semblent aussi fortement impliqués dans cette variabilité.

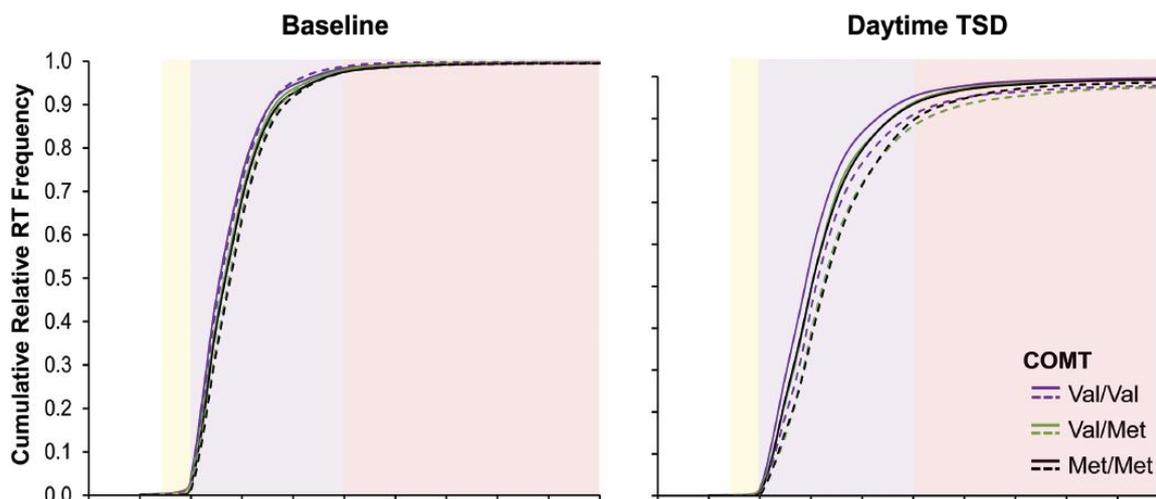


Figure 24. Fréquence du temps de réaction cumulé sur les lapses au test de vigilance psychomotrice en fonction du polymorphisme de COMT au repos (baseline) et après privation de sommeil (Daytime TSD) (lignes pleines : les 5 première minutes du test ; lignes pointillées : 5 dernière minutes du test) (Satterfield et al., 2017).

Le polymorphisme de COMT est également associé à la caféine. En effet, dans une population d'hommes d'âge moyen, le polymorphisme Val158Met de COMT est associé à un risque plus élevé d'un infarctus du myocarde chez les forts consommateurs de caféine particulièrement chez les porteurs du génotype muté Met/Met (Happonen et al., 2006). Mais aucune autre étude n'a montré l'influence du polymorphisme de COMT sur les effets de la caféine sur les performances mentales. D'autres études ont montré l'influence du polymorphisme de COMT sur les effets du modafinil pendant une dette de sommeil (Bodenmann et al., 2009a, 2009b) mais d'autres investigations sur l'influence de la caféine semblent nécessaires. L'ensemble de ces études montre l'implication possible du système monoaminergique dans la variabilité de la réponse à la prise de caféine, particulièrement pour les transporteurs et récepteurs à la dopamine.

III.2.d. Le gène circadien PERIOD (PER3)

De nombreuses études ont étudié le rôle des polymorphismes de PER3 sur le rythme circadien et le sommeil (Maire et al., 2014 ; Rupp et al., 2013 ; Goel et al., 2009b ; Lo et al., 2012 ; Viola et al., 2007 ; Hida et al., 2014 ; Turco et al., 2017 ; Liberman et al., 2018). Concernant les polymorphismes de PER3, le plus étudié est le VNTR (rs57875989). Ce polymorphisme est associé aux effets de la dette de sommeil sur l'attention soutenue et la mémoire. La séquence nucléotidique du gène PER3 va être répétée 4 fois PER3^{4/4} ou 5 fois PER3^{5/5}. Plusieurs études montrent que les porteurs PER3^{4/4} ont un profil plus résistant à la dette de sommeil, illustré par moins de lapses que les PER3^{5/5} (Maire et al., 2014) et sont plus rapide que les PER3^{4/5} (Rupp et al., 2013). De plus, sur le test N-back évaluant la mémoire de travail, les PER3^{4/4}

étaient moins affectés par la privation de sommeil que les PER3^{4/5} et les PER3^{5/5} (Lo et al., 2012). Cependant, certaines études n'ont pas trouvé de lien entre le polymorphisme de PER3 et les effets de la privation de sommeil sur l'attention soutenue ou la somnolence subjective (Satterfield et al., 2015 ; Goel et al., 2009b ; Vandewalle et al., 2009). Sur les paramètres du sommeil, Viola et al. (2007) ont montré que les PER3^{5/5} s'endormaient plus rapidement, avaient une plus grande proportion de sommeil et un temps total passé en sommeil lent plus élevé que les PER3^{4/4}. De plus, dans la bande de fréquence thêta, l'activité EEG était plus élevée chez les PER3^{5/5} en même temps que le temps d'éveil continu augmente comparé aux PER3^{4/4}, ce qui montre que ces sujets subissaient plus de pression de sommeil.

Un autre polymorphisme de PER3 a été également étudié plus particulièrement sur le rythme circadien, le rs228697, qui présente une substitution de la cytosine (C) en guanine (G) (Hida et al., 2014 ; Anderson et al., 2018 ; Turco et al., 2017 ; Liberman et al., 2018). Cependant dans certaines études, des résultats contradictoires sont observés et pourraient potentiellement être expliqués par la différence de populations étudiées. En effet, dans deux études, les porteurs de l'allèle C étaient plus fréquemment présents dans le chronotype du matin que les porteurs de l'allèle G qui étaient plus du chronotype du soir (Hida et al., 2014 ; Anderson et al., 2018). D'ailleurs, chez des nageurs, ceux du chronotype du soir montraient une diminution de leur vitesse de nage sur 200m de 6% lors d'une performance matinale, par rapport à la performance du soir (Anderson et al., 2018). Cependant Turco et al. (2017) ont observé l'inverse avec, dans une population italienne, les porteurs de l'allèle G qui étaient associés au chronotype du matin et les porteurs de l'allèle C associés au chronotype du soir. L'implication des polymorphismes de PER3 est bien observée dans la variabilité des réponses à la dette de sommeil et dans la modulation de l'influence circadienne et homéostatique.

Concernant la relation avec la caféine, il n'existe pas ou peu de données. Gamble et al. (2011) montrent que trois polymorphismes de PER3 sont associés à une augmentation de la consommation de caféine et à une diminution de la probabilité de somnolence chez des infirmières travaillant de nuit.

III.2.e. Le facteur neurotrophique cérébral BDNF

Le facteur neurotrophique BDNF, exprimé particulièrement dans le cortex préfrontal et l'hippocampe, joue un rôle dans l'homéostasie du sommeil et son polymorphisme semble entraîner une variabilité des réponses à la régulation du cycle veille/sommeil. Plus particulièrement, BDNF module l'activité de la sérotonine, de la dopamine et du glutamate qui sont des neurotransmetteurs impliqués dans les émotions, la mémoire et l'apprentissage (Numakawa et al., 2010). Le rs6265 est le plus étudié et présente une substitution de la valine (Val) par la méthionine (Met) ce qui correspond à une substitution de la cytosine (C) en thymine (T). Egan et al. (2003) ont montré que les porteurs du génotype Met/Met

montrent une moins bonne performance dans des tâches de mémoire et jouent un rôle dans l'activité de BDNF.

Plusieurs études ont montré aussi son influence dans les réponses à la privation totale de sommeil. Bachmann et al. (2012b) ont montré pendant une privation totale de sommeil que les porteurs du génotype Val/Val montrent une meilleure performance sur la mémoire de travail au N-back que les porteurs du génotype Val/Met. De plus, la puissance dans la bande de fréquence alpha double pendant l'éveil chez les Val/Val ainsi que dans le REM dans la bande de fréquence alpha, thêta et sigma en comparaison aux porteurs du génotype Met. Lors de nuits normales, les porteurs du génotype Val/Val passaient plus de temps en stade 3 que le génotype Val/Met (Bachmann et al., 2012b). Ces résultats montrent bien l'implication du polymorphisme génétique de BDNF dans la modulation de l'activité EEG lors d'une privation de sommeil ou lors d'une nuit normale. De plus, le polymorphisme de BDNF semble influencer les réponses cognitives lors d'une privation totale de sommeil (Grant et al., 2018). Sur la tâche de Stroop, les porteurs du génotype Val/Met ont fait plus d'erreurs et étaient plus lents à répondre que les Val/Val, montrant un plus grand coût pour s'inhiber (Grant et al., 2018). En résumé, le polymorphisme de BDNF semble impliquer dans la variabilité aux réponses à la privation de sommeil sur l'activité EEG mais également dans les performances neurocomportementales.

Pour son implication dans la consommation de caféine, il a été émis l'hypothèse que le BDNF, aussi impliqué dans la régulation de la sérotonine, dopamine et du glutamate, pourrait être en corrélation positive avec le ré-enforcement des propriétés du café (The Coffee and Caffeine Genetics Consortium et al., 2015).

III.3. Implication des polymorphismes génétiques dans la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la caféine

III.3.a. les polymorphismes des cytochromes P450

Les polymorphismes des CYP1A2 semblent impliqués dans la variabilité interindividuelle du métabolisme de la caféine (The Coffee and Caffeine Genetics Consortium et al., 2015, Fulton et al., 2018). En effet, l'enzyme CYP1A2 est particulièrement impliqué dans le métabolisme de la caféine. Le polymorphisme rs2472297 de CYP1A2 est associé à la consommation de caféine avec les porteurs de l'allèle T corrélés à une plus grande consommation de caféine et à un taux plasmatique de caféine plus faible (Sulem et al., 2011). Les résultats de cette étude ont été renforcés avec des résultats similaires de Josse et ses collaborateurs (2012). Pour le rs2472297 de la région de CYP1A1-CYP1A2, les porteurs du

génotype T/T étaient plus à même de consommer plus de 400mg par jour de caféine que les porteurs de l'allèle C (Josse et al., 2012). Le polymorphisme de CYP1A2 (rs762551) est corrélé à l'augmentation enzymatique de CYP1A2 particulièrement chez une population de fumeurs avec les porteurs du génotype A/A métabolisant plus rapidement la caféine que les porteurs de l'allèle C (Sachse et al., 1999). De plus, pour le rs762551 du polymorphisme de CYP1A2, la supplémentation en caféine a eu un effet bénéfique sur les performances physiques sur ergocycle (Womack et al., 2012, Guest et al., 2018). Après l'ingestion de caféine, les porteurs du génotype A/A ont réduit leur temps de performance sur plusieurs kilomètres, comparé aux porteurs de l'allèle C, montrant une meilleure performance après consommation de caféine (Womack et al., 2012, Guest et al., 2018). De plus, la consommation de 3 mg/kg de caféine améliore les performances au PVT pendant un test d'effort physique pour le polymorphisme de CYP1A2, avec une meilleure performance chez les « métaboliseurs rapides » par rapport aux « métaboliseurs lents », sans différence de génotype pour le polymorphisme d'ADORA2A (Carswell et al., 2020).

III.4. Autres variabilités interindividuelles liées à la dette de sommeil et à la caféine

De nombreux autres facteurs influencent la variabilité (âge, sexe, environnement) aux réponses à la privation de sommeil et au sommeil mais aussi aux effets de la caféine. En effet, notre environnement va influencer sur notre génome par des variations appelées « épigénétiques ». Parmi ces facteurs environnementaux, on peut rencontrer l'âge, le genre, le poids, la consommation de caféine, de tabac, d'alcool, de médicaments, ou encore le stress, l'hygiène de vie (alimentation, activité physique), le chronotype qui vont modifier de manière réversible l'activité des gènes sans en modifier la séquence d'ADN.

III.4.a. L'âge

Il existe une influence de l'âge sur les réponses à la dette de sommeil. En effet, Rabat et al. (2016) expliquent le fait que l'âge influe sur sa capacité à rester éveillé, pendant une restriction de sommeil. Les sujets les plus vulnérables à la dette de sommeil, observé par l'évaluation de l'attention soutenue, étaient les sujets les plus jeunes qui produisaient plus de lapses au PVT et se sentaient plus fatigués que les sujets plus âgés (Rabat et al., 2016 ; Adam et al., 2006).

L'âge représente aussi un élément important de la variabilité interindividuelle aux effets de la caféine (Clark et Landolt, 2016). La consommation de caféine chez des bébé, des enfants, des adolescents ou des adultes va varier. Chez les adolescents, la consommation de caféine se fait principalement à

travers la consommation de boissons énergisantes. Chez les adultes, la demi vie de la caféine ne semble pas être affectée par l'âge, qu'on ait 20 ou 60 ans (Blanchard et Sawers, 1983). L'effet de la caféine sur le sommeil semble similaire chez l'adulte à tout âge, bien que chez les personnes plus âgées soit observées une augmentation des fréquences alpha et bêta et une diminution des fréquence delta dans des régions cérébrales précises (Drapeau et al., 2006).

III.4.b Le sexe

Chez des sujets avec une BMI de 30kg/m², les hommes dormaient moins que les femmes (Vorona et al., 2005). Il existe également une différence entre les sexes face aux effets de la privation totale de sommeil. En effet, le signal EEG à l'éveil diffère en fonction du sexe, mais il y a également une modulation sur le temps de réaction. Celui-ci était plus long chez les femmes au PVT que les hommes (Blatter et al., 2006). La privation de sommeil entraîne aussi une diminution de la prise de risque chez les femmes alors qu'une augmentation a été observée chez les hommes (Ferrara et al., 2015). De plus, une privation de sommeil induit une plus forte anxiété chez les femmes que chez les hommes (Goldstein-Piekarski et al., 2018).

Le genre n'a aucun effet sur la pharmacocinétique de la caféine. Cependant, la prise de contraceptifs chez la femme et la grossesse engendrent un allongement de la demi-vie de la caféine pouvant aller jusqu'à 20-h.

III.4.c. Le poids

Une corrélation négative a été observée chez les hommes et les femmes entre le temps de sommeil et le score d'indice de masse corporelle (IMC) (Bonanno et al., 2019). Le temps total de sommeil diminue pendant que l'IMC augmente. Les patients obèses dorment moins que les patients en surpoids, et ses deux populations ont un temps total de sommeil plus court que chez la population à IMC normal (Vorona et al., 2005). L'excès de poids peut entraîner une augmentation de la somnolence diurne causé par le temps de sommeil total plus faible ou encore par des troubles respiratoires (syndrome d'apnée du sommeil) par rapport à une population normale et donc peut modifier les réponses face à la privation totale de sommeil.

III.4.d. La consommation de tabac, de caféine et de médicaments

Le tabagisme est associé à plus de risques d'avoir des troubles du sommeil avec des difficultés à s'endormir et une somnolence diurne plus élevée (Jaehne et al., 2009). Le tabac semble avoir un aspect éveillant lié à la nicotine cependant, l'abstinence de cigarette chez les fumeurs entraîne une dégradation

de la mémoire de travail (Mendrek et al., 2006). Comme vu précédemment la prise de caféine a un effet stimulant et va limiter la dégradation des performances induite par la privation de sommeil. De même, la prise de médicaments stimulants ou hypnotiques peut jouer sur la vigilance ou la somnolence pendant une privation totale de sommeil.

III.4.e L'activité physique habituelle

Sauvet et al. (2020) ont montré qu'une activité physique modérée à élevée pendant sept semaines entraîne une diminution de la pression de sommeil avant la privation de sommeil et limite la dégradation des performances au PVT liée à la privation de sommeil. Cependant, l'activité physique n'a pas influé sur la dégradation des autres tâches cognitives pendant la privation totale de sommeil.

III.4.f. Le chronotype

La variation circadienne va moduler les effets de la privation totale de sommeil (Goel et al., 2009a). Par exemple, le profil circadien de la température corporelle est l'un des marqueurs biologiques qui va démontrer une bonne ou mauvaise performance. Le chronotype d'une personne peut être du matin, intermédiaire ou du soir, et va jouer sur la variation interindividuelle des réponses neurocomportementales face à la privation de sommeil (Taillard et al., 2011). Les sujets qui sont du chronotype du soir ont montré une plus grande somnolence le matin que ceux qui sont du chronotype du matin (Taillard et al., 2011). De plus, pendant la nuit de privation, ceux qui sont du chronotype du soir avait une vigilance plus optimale que ceux du matin (Taillard et al., 2011). Il est également connu que la caféine va modifier le rythme circadien (Temple et al., 2017)

III.5. Autres variabilités interindividuelles de la caféine

Précédemment, nous avons expliqué que de nombreux facteurs génétiques modifiaient la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la caféine. Mais d'autres facteurs doivent être pris en compte tels que la consommation habituelle de caféine et les habitudes de vie (Nehlig 2018).

III.5.a. La consommation habituelle de caféine

Des réponses différentes aux effets de la caféine sont observées entre les non-consommateurs et les consommateurs habituels de caféine. Les consommateurs habituels de caféine (environ 235mg/jour) montrent une détérioration sous placebo plus élevée que les non-consommateurs (<50mg/jour) mais l'effet de la caféine est similaire chez les deux groupes (Rogers et al., 2013). En

général, la différence entre les non consommateurs et les consommateurs habituels de caféine est observée particulièrement chez les consommateurs habituels avec une vigilance plus faible et une somnolence plus accrue en condition placebo. Une augmentation de la pression diastolique et de la pression systolique est observée après une prise aiguë de caféine (250mg) seulement chez les non-consommateurs.

Il a été observé une différence de réponse métabolique du cerveau humain par imagerie spectroscopique écho-planaire entre des consommateurs habituels de caféine et des non consommateurs, avec augmentation de lactate cérébral chez les non consommateurs dans l'heure qui suit une prise de 10mg/kg de poids de corps de caféine (Dager et al., 1999). Après 1 à 2 mois d'abstinence de caféine chez des consommateurs habituels, et après réexposition à la caféine, une augmentation du lactate cérébral est observée comme chez les non consommateurs. Beaumont et al. (2016) ont évalué la prise aiguë et chronique de caféine pendant 4 semaines. La consommation chronique de caféine (3mg/kg) entraîne une tolérance à l'effet ergogénique de la dose aiguë de la caféine. La prise de caféine aiguë semble plus bénéfique chez les non consommateurs que les consommateurs habituels (217mg/j). La performance psychomotrice est dégradée (illustrée par une vitesse plus lente) lorsque la caféine a été retirée chez les consommateurs habituels de caféine (James, 1998). De plus, les forts consommateurs de caféine, après 24 heures d'abstinence, ressentent des maux de tête associés à une irritabilité, ce qui peut expliquer la dégradation élevée des performances lors de la condition placebo (Juliano et Griffiths, 2004).

Il a été émis l'hypothèse que la consommation chronique de caféine entrainerait des modifications épigénétiques sur les récepteurs ADORA2A. Cette consommation de caféine pourrait induire une modification du niveau des récepteurs A2A via l'augmentation des enzymes de méthylation de l'ADN (ADN-méthyltransférase 1, DNMT1) conduisant à une hyper-méthylation du gène ADORA2A et entraînant une diminution de la transcription et donc une augmentation de la synthèse des récepteurs (Marques et al., 2011).

Généralement, la prise aiguë de caféine va être plus bénéfique sur les performances chez les non consommateurs que chez les consommateurs habituels. Cependant, cela peut dépendre de la quantité habituelle de consommation de caféine, de l'heure de consommation, de la dose de consommation aiguë et des tests évalués. En plus de ces variabilités, la consommation habituelle de caféine semble différer en fonction d'autres variabilités interindividuelles.

III.5.b. Les habitudes de vie

Certaines habitudes de vie vont augmenter ou à l'inverse diminuer la demi-vie de la caféine. L'exercice physique et le tabagisme vont la diminuer (Arnaud, 2010). La cigarette stimule la clairance de la caféine en doublant le taux de métabolisme de la caféine via l'augmentation de l'activité enzymatique du foie. Après l'arrêt du tabagisme, la clairance initiale diminue de 36,1% avec une baisse de l'activité enzymatique de 38,6% augmentant ainsi la demi-vie de la caféine (Arnaud, 2010).

A l'inverse, la consommation de la caféine à jeun ou associée à une consommation alimentaire va modifier l'absorption de la caféine. La consommation d'une boisson sucrée associée à la caféine augmente la demi-vie et diminue sa clairance (Fuhr et al., 1993). Également, l'alcool associé à de la caféine va augmenter considérablement sa demi vie et diminuer sa clairance car l'alcool va avoir un effet inhibiteur sur l'activité enzymatique des cytochromes (Ferre et al., 2011). De plus, certaines maladies du foie ou encore l'obésité vont aussi augmenter la demi-vie de la caféine avec une diminution de la clairance (Nehlig, 2018). Certains médicaments, comme vu précédemment pour la contraception orale, vont jouer sur la pharmacocinétique de la caféine et sur son efficacité (Nehlig, 2018).

En résumé :

- Des mutations génétiques peuvent modifier la régulation de l'expression d'un gène, l'épissage, la stabilité et la structure de l'ARNm, ainsi que l'abondance et la structure tertiaire de la protéine.
- Les polymorphismes d'ADORA2A et d'ADA modulent les réponses neurophysiologiques et neurocomportementales à la dette de sommeil mais également les effets et la consommation de la caféine.
- Le polymorphisme de COMT semble impliqué dans la modulation des réponses neurophysiologiques et neurocomportementales lors d'une dette de sommeil.
- Le polymorphisme de PER3 est plus particulièrement impliqué dans la préférence diurne, et semble être impliqué dans la consommation de caféine.
- Le polymorphisme de BDNF semble impliqué dans la variabilité aux réponses à la dette de sommeil sur l'activité EEG mais également dans les performances neurocomportementales.
- Les polymorphismes de CYP1A2 semblent être fortement impliqués dans la pharmacocinétique de la caféine.
- Il existe d'autres variabilités interindividuelles pouvant influencer les réponses à la dette de sommeil ou à la caféine comme l'âge, le genre, la consommation habituelle de caféine, de drogue, activité physique, le poids ou encore d'autres habitudes de vie.

OBJECTIFS ET HYPOTHESES

Dans le cadre de certaines activités professionnelles, en particulier dans les armées, la sécurité ou la santé, les personnels sont amenés à travailler la nuit et à rester éveillés pendant une période prolongée, créant une dette de sommeil, tout en maintenant un haut niveau de performance cognitive et physique.

Nous avons vu que la caféine était fréquemment utilisée comme stratégie pour lutter contre la dégradation des performances induite par la dette de sommeil. Cependant, il a été rapporté qu'il existait une grande variabilité interindividuelle dans les réponses cognitives et physiques à la privation de sommeil et dans les effets de la caféine. Enfin, nous avons mis en exergue que les polymorphismes génétiques pourraient être à l'origine d'une partie de cette variabilité.

A partir de ce travail bibliographique, nous avons pu sélectionner quinze polymorphismes génétiques (cytokines pro-inflammatoires, systèmes adrénergiques et dopaminergiques, gène de l'horloge circadienne ou cytochromes P450 1A₂) qui seraient impliqués dans la variabilité interindividuelle à la privation et aux troubles du sommeil ou aux effets de la caféine.

Aussi, ce travail de thèse a eu pour objectif de déterminer l'influence de polymorphismes génétiques associés à la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la caféine sur la durée de sommeil, les troubles du sommeil et la dégradation des performances au cours d'une privation totale de sommeil.

Dans un premier temps, dans une large population de travailleurs français, nous avons observé l'influence de polymorphismes génétiques associés et à la pharmacodynamie et pharmacocinétique de la caféine, sur le temps total de sommeil et les troubles du sommeil, évalués par un questionnaire adapté.

Puis dans un second temps, nous avons évalué l'influence des polymorphismes génétiques sur les l'efficacité de la caféine au regard des performances cognitives et des performances physiques, lors d'une privation totale de sommeil en laboratoire.

TRAVAIL EXPERIMENTAL

Dans le cadre de ce travail de thèse, deux études chez l'homme ont été effectuées et ont donné lieu à un article publié et un article en cours de publication.

Etude n°1 : « Effet des polymorphismes génétiques sur les troubles du sommeil et la consommation de caféine ». Cette étude avait pour objectif de déterminer si des polymorphismes génétiques (seuls ou en association) liés à la pharmacocinétique ou à la pharmacodynamie de la caféine sont des facteurs de risque indépendants des troubles du sommeil.

Article associé (Annexe 2) :

- **Erblang, M.**, Drogou, C., Gomez-Merino, D., Metlaine, A., Boland, A., Deleuze, J.F., Thomas, C., Sauvet, F., and Chennaoui, M. (2019). The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association between Caffeine Consumption and Sleep. *Genes* *10*, 1021.

Etude n°2 : « Polymorphismes et efficacité de la caféine sur les performances au cours de la privation totale de sommeil, chez le sujet sain ». Une étude multicentrique, caféine versus placebo, randomisée, en cross over et en double aveugle avait pour objectif d'évaluer l'influence de cinq polymorphismes génétiques (ADORA2A, TNF- α , ADA, COMT et PER3) sur l'efficacité de la caféine pour prévenir la dégradation des performances au cours d'une privation totale de sommeil. Les performances évaluées sont les performances cognitives (attention soutenue), physiques (tests de saut, test charge-vitesse), ou psychomotrices (test de simulateur de conduite et de tir à la carabine laser).

Article associé (Annexe 3, 4 et 5) :

- **Erblang, M.**, Sauvet, F., Drogou, C., Quiquempoix, M., Van Beers, P., Guillard, M., Rabat, A., Trignol, A., Bourrilhon, C., Erkel, M-C., Léger, D., Thomas, C., Gomez-Merino, D., and Chennaoui, M. (2020). TNF- α , ADORA2A and PER3 polymorphisms and caffeine efficiency on neurobehavioral performance during sleep deprivation: a randomized, cross over study. En révision septembre 2020.

- Drogou, C., Sauvet, F., **Erblang, M.**, Detemmerman, L., Derbois, C., Erkel, M-C., Boland, A., Deleuze, J-F., Gomez-Merino, D., Chennaoui, M. (2020). Genotyping on blood and buccal cells using loop-mediated isothermal amplification in healthy humans. *Biotechnology Reports* *26*, e00468.

- Quiquempoix, M., **Erblang, M.**, Vergez, A., M., Van Beers, P., Guillard, M., Trignol, A., Drogou, C., Gomez-Merino, D., Léger, D., Chennaoui, M., Sauvet, F., Rabat, A. (2020). Time-on-task deficits during total sleep deprivation with and without caffeine. **en préparation.**

IV. Etude n°1 : Effets des polymorphismes génétiques sur les troubles du sommeil et la consommation de caféine

IV.1. Objectifs de l'étude

L'objectif global de cette première étude était d'évaluer l'influence de quinze polymorphismes génétiques sur les troubles du sommeil et la consommation de caféine dans une large population de personnes en activité professionnelle. Plus précisément, l'objectif était de déterminer les fréquences de ces polymorphismes génétiques et d'évaluer leurs liens avec les troubles du sommeil, le temps total de sommeil et la consommation de caféine. L'article associé (annexe 2) présente les résultats uniquement des six SNPs d'ADORA2A. D'autres articles sont en préparation.

IV.2. Matériels et méthodes

IV.2.a. Les participants

Il s'agit d'une étude multicentrique sur une population active française. L'échantillon était composé d'hommes et femmes, en bonne santé, âgés entre 18 et 60 ans et en activité professionnelle. Les participants ont été recrutés au sein du service médical d'Ernst Young (tour First à la défense), de l'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA) et du Centre national du sport de la défense (CNSD). Les participants ont été inclus dans l'étude au centre du sommeil et de la vigilance de l'hôpital l'Hôtel-Dieu (APHP) et ont donné leur consentement écrit. L'étude a reçu l'avis favorable du Comité de protection des personnes de Cochin (CPP d'Ile de France IV, Paris) et l'autorisation de recherche de l'Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM, 2017-A00234_49). Elle a été menée selon les principes exprimés dans la Déclaration d'Helsinki de 1975, révisée en 2001. Cette étude a été enregistrée dans la base de données publiques ClinicalTrials.gov (NCT : NCT03855774). Les critères d'exclusion étaient les personnes inactives (chômage, retraite, maladie longue), les mineurs, les femmes enceintes et l'absence de couverture sociale.

IV.2.b. Protocole expérimental

Les participants ont rempli un questionnaire concernant leurs habitudes de vie, leur sommeil et leur consommation de caféine puis ont donné un échantillon de salive, dans des conditions précises, pour l'analyse génétique.

Le questionnaire a été conçu avec le logiciel d'enquête et d'analyse statistique Sphinx IQ (Le Sphinx, Parc Altais, Chavanod, 74650, France) en français. Il évaluait différents critères : la biométrie (sexe, âge, poids, taille), les origines ethniques, les habitudes et troubles du sommeil, les habitudes de consommation de caféine et ses effets, ainsi que les antécédents d'accidents du travail et de circulation. Ce questionnaire comportait différents types de réponses, ouvertes, fermées, et à choix multiples.

Pour l'évaluation du sommeil et des troubles du sommeil, nous avons utilisé le questionnaire en version française validé par l'hôtel-Dieu (Léger et al., 2011). Ce questionnaire est basé sur le *Stanford sleep questionnaire and evaluation of wakefulness* (SQAW) qui couvre les habitudes de sommeil ainsi que les troubles. La définition des troubles du sommeil est basée sur la classification internationale des troubles du sommeil (ICSD, 3^{ème} édition) ainsi que sur le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-IV) (Frances et al., 2013). Dans notre étude, le principal trouble du sommeil était l'insomnie définie par au moins un des quatre critères suivants : des difficultés à s'endormir, des réveils nocturnes fréquents et/ou précoces et un sommeil non réparateur ; ce critère est observé pendant au moins un mois et est associé à une somnolence diurne. Les apnées du sommeil et l'insomnie sévère sont également relevées. Pour évaluer la somnolence, plusieurs éléments ont été pris en compte comme par exemple les habitudes de sieste ou la sensation à l'éveil mais l'échelle de somnolence diurne d'Epworth a été aussi utilisée (Johns, 1992). La consommation de médicaments hypnotiques (somnifères) ou stimulants ainsi que la consommation de drogues ont également été renseignés dans le questionnaire.

Les habitudes de consommation de caféine et ses effets comprenaient les boissons et aliments contenant de la caféine, tels que le café, le thé, le cola ou encore les boissons énergisantes. Pour chaque boisson et aliment, la fréquence et la quantité étaient répertoriées en moyenne par le participant. La dose correspondante en milligramme a été fixée afin d'évaluer la consommation journalière approximative (Cornelis et al., 2011). Les participants ont été répartis dans 3 catégories : les faibles consommateurs de caféine (0-50mg/j), les modérés (51-300mg/j) et les élevés (>300mg/j) (Roger et al., 2010 ; Temple et al., 2017).

La détermination des génotypes a été effectuée en aveugle par le Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH) avec la méthode Taqman à partir de prélèvements salivaires. Le prélèvement de salive a été effectué sur les 1083 volontaires, après rinçage de la bouche, à partir de kits d'ADN Oragene OG-500 (DNAgenotek, Ottawa, Canada). Les volontaires avaient pour consigne de ne pas avoir mangé ni bu ni fumé au moins 30 minutes avant le prélèvement. Les échantillons de salive sur kits sont stables pendant au moins cinq ans à température ambiante. La purification de l'ADN génomique a été effectuée par l'automate Autopure LS (Qiagen, Hilden,

Allemagne). Le contrôle qualité a permis d'estimer la quantité d'ADN, son intégrité ainsi que sa capacité d'amplification par PCR. Les 1083 extraits d'ADN ont été transférés sur des plaques à 384 puits. La sélection des SNPs d'intérêt était basée sur des études antérieures. Les génotypes ont été déterminés par des sondes prédéfinies ou personnalisées. Les tests de génotypage TaqMan SNP ont été fournis par Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA). La PCR a été effectuée sur le système PCR GeneAmp 9700, et un système 7900HT avec la version 2.4 du logiciel SDS (Applied Biosystems, Foster City, USA) a été utilisé pour la détection de la fluorescence et la discrimination allélique. Pour ADORA2A rs5751876, les produits d'amplification ont été séquencés par la méthode de Sanger.

IV.2.c. L'analyse statistique

La fréquence des troubles du sommeil supérieure à 3 mois a été déterminée. Chaque polymorphisme est ensuite caractérisé en fonction de sa fréquence et du pourcentage de sujets de la population étudiée présentant des troubles du sommeil au sein de ce polymorphisme. La détermination de la fréquence des profils génotypiques pour chaque SNPs est analysée. Une analyse univariée et multivariée pour les troubles du sommeil et l'insomnie a été faite en association avec les types de SNPs, avec des ajustements pour la consommation de caféine, de tabac, le poids, le sexe et l'âge. Ces analyses sont faites à l'aide de R studio (logiciel R (version 3.6.0, 04.24.2019)) et la significativité est fixée à $p < 0,05$. Les variables qualitatives sont présentées comme le nombre de participants et le pourcentage [n(%)], les variables quantitatives sont présentées en tant que moyenne \pm IC95% (95% intervalle de confiance). Le temps total de sommeil a été analysé par une analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs à mesures répétées (groupe de caféine \times génotype) et une analyse de variance à 1 facteur (groupe de caféine ou génotype). Les Odds ratios (IC95%) ont été calculés et ajustés selon l'âge, le sexe et le tabac. La distribution des génotypes dans les deux allèles a été examinée en utilisant l'équilibre de Hardy – Weinberg. Si une interaction significative était observée un test de Bonferroni post-hoc était utilisé pour comparer l'allèle (mutation hétérozygote et homozygote) à l'allèle ancestral et la consommation de caféine (modérée et élevée versus faible). Les associations entre des variables qualitatives (troubles du sommeil) et des allèles de SNPs a été réalisée à l'aide d'un test χ^2 .

Pour les polymorphismes de ADORA2A, gène du récepteur A2A à l'adénosine, l'analyse d'haplotypes de déséquilibre de liaison (D, D'et R²) a été faite en utilisant le programme SNPStats (Solé et al., 2006). Les haplotypes identifiés ont été calculés mais afin de minimiser la perte de puissance, seulement les six haplotypes avec une fréquence supérieure à 1% ont été pris en compte pour l'analyse statistique. L'haplotype le plus courant a été choisi comme référence pour l'analyse posthoc.

IV.3. Résultats

1083 participants d'ascendance européenne ont complété le questionnaire. Soixante participants ont été exclus, dont 22 ayant fourni un échantillon de salive non utilisable, un n'ayant pas fourni de consentement éclairé, 34 ayant au moins une réponse manquante au questionnaire et 3 ont présenté un critère d'exclusion.

IV.3.a. Les participants

Un total de 1023 participants, comprenant 405 femmes (39,6%) et 618 hommes (60,4%), ont été inclus dans l'étude. Les sujets, âgés de 32,5 (\pm 9.6) ans en moyenne, avaient un indice de masse corporel (IMC) moyen de 23,6 \pm 3,5 kg.m⁻², 56 (5,5%) étaient obèses et 225 (22,0%) en surpoids. 43,3% des participants étaient célibataires et 56,6% étaient mariés ou en concubinage. Environ 37,8% d'entre eux avaient au moins un enfant. Environ 192 (18,8%) des participants sont des fumeurs actuels et 81,0% ne fument pas. Une consommation régulière d'alcool \geq 1 verre par jour est observée chez 76 (7,4%) participants ; 671 (65,6%) faisaient plus de 2-h d'activité physique par semaine. Environ 129 (12,6%) consommaient régulièrement des traitements pharmaceutiques, les plus fréquents étant les contraceptifs (26,5%), le lévothyrox (7,5%), le traitement pour la pression artérielle (7,5%), pour les allergies (7,4%), pour l'asthme (7,5%) et les inhibiteurs de la pompe à proton (IPP, 6,5%). L'utilisation de sédatifs ne concernait que 9 participants (0,9%). La consommation quotidienne moyenne de caféine était de 243 \pm 6,5 mg (SEM) avec 202 participants (19,7%) appartenant au groupe de faibles consommateurs de caféine (0-50mg/jour), 478 participants (46,7%) appartenant au groupe de consommateurs modérés de caféine (51-300mg/jour) et 343 participants (33,5%) appartenant au groupe des forts consommateurs de caféine (>301mg/jour).

L'âge varie selon les groupes de consommateurs, avec des sujets plus jeunes chez les faibles consommateurs par rapport aux forts consommateurs de caféine (28,7 \pm 0,6 ans vs. 35,9 \pm 0,5 ans). Les fumeurs étaient surreprésentés ($p < 0,01$) dans les groupes de consommateurs élevés (30,8%) et modérés (12,1%) par rapport au groupe de faibles consommateurs de caféine (7%). Dans les groupes de consommateurs modérés et élevés de caféine, respectivement 5,5% et 19,0% des fumeurs consommaient plus de 5 cigarettes par jour. Sur les 1023 participants, 46,8% ont signalé des troubles du sommeil et 10,7% d'insomnie (tableau 3).

Tableau 3. Caractéristiques de la population.

| Population | valeurs |
|--|--------------------|
| Âge (années) | 32,5 ± 0,3 |
| IMC (kg/m ²) | 23,6 ± 0,1 |
| Consommation d'alcool (> 1 verre/jour) | 76 (7,4%) |
| Fumeurs (>1 cigarette/jour) | 192 (18,8%) |
| Activités physiques (>2 h/semaine) | 671 (65,6%) |
| Travail posté (3 × 8) | 19 (1,9%) |
| Prise de médicament (>5 ans) | 129 (12,6%) |
| Consommation de caféine (mg/jour) | 243 ± 6,5 |
| Echelle de somnolence d'Epworth (score) | 7,7 ± 0,1 |
| Temps total de sommeil (h) | 7,0 ± 0,1 |
| Troubles du sommeil (> 3 mois) | 479 (46,8%) |
| Insomnie | 109 (10,7%) |
| Insomnie sévère | 4 (0,4%) |
| Apnée du sommeil | 115 (11,2%) |
| Utilisation de sédatifs | 9 (0,9%) |

Les valeurs sont en moyenne ± SEM pour les variables quantitatives et en nombre (%) pour les variables qualitatives, N=1023, 405 (39,6%) femmes ou 618 (60,4%) hommes)

IV.3.b. Le temps total de sommeil, les troubles du sommeil et l'insomnie en fonction de la consommation de caféine

Le temps total de sommeil (TST) nocturne autodéclaré diminue avec l'augmentation de la consommation de caféine, quel que soit le génotype. L'analyse ANOVA a montré que le TST était significativement plus faible chez les consommateurs élevés par rapport aux consommateurs faibles et modérés ($F=13,85$, $p<0,01$, tableau 4). Les troubles du sommeil supérieurs à 3 mois étaient significativement plus élevés ($Ora = 1,9[1,1-3,3]$) chez les forts consommateurs en comparaison aux faibles et moyens consommateurs. L'insomnie était plus élevée chez les forts consommateurs en comparaison avec les faibles consommateurs ($Ora=1,5[1,1-1,9]$). Le pourcentage de participants rapportant des effets secondaires de la caféine augmente avec la consommation quotidienne de caféine ($p<0,01$), avec 50% rapportant au moins un effet secondaire lorsque la caféine est consommée à plus de 300mg/jour.

Tableau 4. Temps total de sommeil (TST), troubles du sommeil et insomnie en fonction de la consommation de caféine.

| | Faibles consommateurs (0–50 mg/jour) | Consommateurs modérés (51–300 mg/jour) | Forts consommateurs (>300 mg/jour) | Analyse statistique |
|-----------------------------------|---|---|---------------------------------------|-----------------------------|
| N | 202 (19,7%) | 478 (46,7%) | 343 (33,5%) | |
| TST, heure ± SD | 7,15 ± 0,08 | 7,04 ± 0,04 | 6,75 ± 0,05 ** | $F = 13,9$, $p = 0.01$ |
| Troubles du sommeil >3 mois, n(%) | 93 (46,0%) | 206 (43,1%) | 180 (52,5%) #* | $\chi^2 = 7,1$, $p = 0.03$ |
| Insomnie, n(%) | 15 (7,4%) | 51 (10,7%) | 43 (12,5%) # | $\chi^2 = 3,5$, $p = 0.05$ |

N : le nombre de sujets répartis dans les trois groupes de consommation quotidienne de caféine. SEM : erreur standard de la moyenne ; # $p<0,05$ vs. faibles consommateurs (0-50mg/jour) ; * $p<0,05$ vs. consommateurs modérés (51-300mg/jour).

IV.3.c. La répartition des polymorphismes

La répartition des polymorphismes génétiques de cette étude est similaire à la base de données internationale 1000 Génomes (tableau 5). Pour les 6 polymorphismes d'ADORA2A, les fréquences des génotypes étaient conformes à l'équilibre Hardy-Weinberg ($p > 0,16$). L'analyse du déséquilibre de liaison par paire a montré un LD (linkage disequilibrium - déséquilibre de liaison) modéré à fort entre les polymorphismes d'ADORA2A (Figure 25). Nous avons observé une valeur au R-square $> 0,8$ entre le rs2298383, rs3761422, rs5751876 et le rs4822492.

ADORA 2A, structure du gène et SNPs

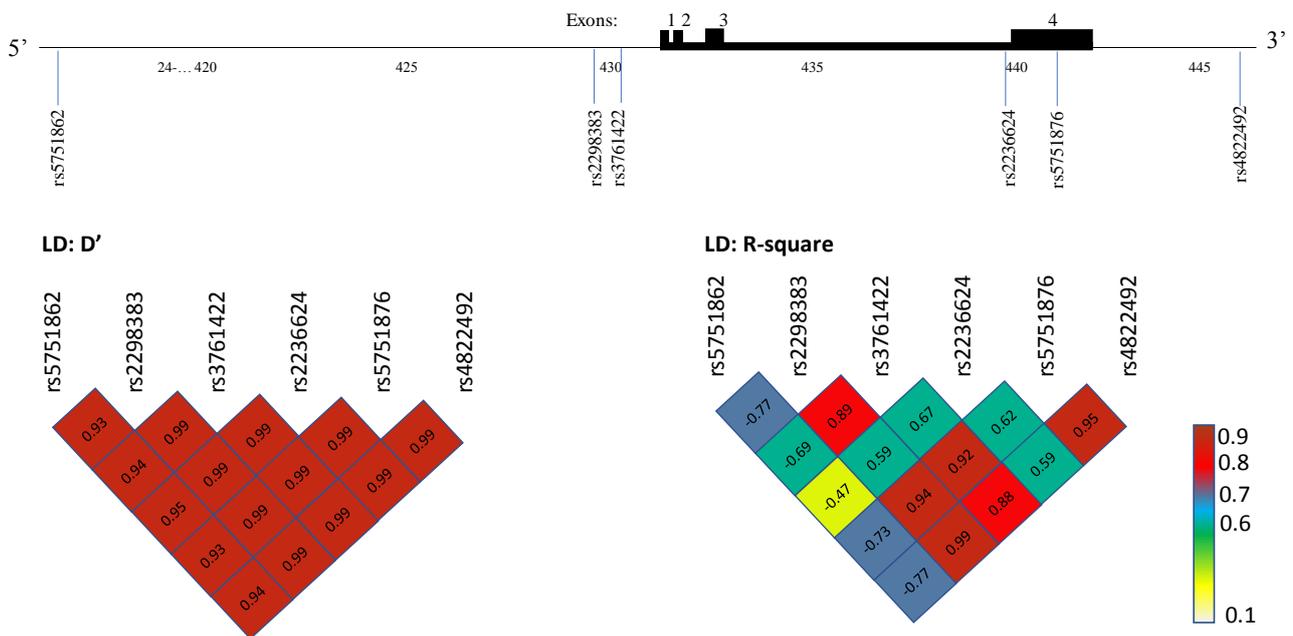


Figure 25 : Organisation génomique du gène d'ADORA2A (NM_000675 situé sur le Chr.22q11.23, GRCH38.p12) avec la position des SNPs sélectionnés (A) et le déséquilibre de liaison par paire (the pairwise linkage disequilibrium : LD) (B). Les exons codant d'ADORA2A sont le 1, 2, 3, 4 illustrés par un bloc noir. Sur la base de référence du génome GRCH38, le rs5751862 est dans la région de régulation 5'; rs2298383 et rs3761422 sont dans la région 5'(5'UTR), rs2236624 est intronique en 3-4, rs5751876 est une mutation synonyme située sur l'exon 4 et rs4822492 est en 3'UTR. Les valeurs et couleurs dans les cases montrent l'étendue de la LD (si le nombre est rouge alors le LD est plus élevé ; si le nombre est blanc alors le LD est bas) évaluée par les statistiques D' et R-square.

Tableau 5. Répartition des polymorphismes génétiques.

| Polymorphismes génétiques | Génotypes | Nombre observé, N(%) | Nombre attendu ^b |
|--|------------------|----------------------|-----------------------------|
| rs5751862_ADORA2A (22:24,406,596) | G/G ^a | 293 (28,8%) | 25% |
| | G/A | 493 (48,2%) | 50,5% |
| | A/A | 224 (21,9%) | 24,5% |
| rs2298383_ADORA2A (22:24,429,543) | C/C ^a | 210 (20,6%) | 17,1% |
| | C/T | 463 (45,3%) | 48,5% |
| | T/T | 332 (32,4%) | 34,4% |
| rs3761422_ADORA2A (22:24,430,704) | C/C ^a | 398 (38,9%) | 38,4% |
| | C/T | 458 (44,8%) | 46,3% |
| | T/T | 149 (14,6%) | 15,3% |
| rs2236624_ADORA2A (22:24,440,056) | C/C ^a | 625 (61,1%) | 54,7% |
| | C/T | 337 (32,8%) | 36,8% |
| | T/T | 51 (5,1%) | 8,5% |
| rs5751876_ADORA2A (22:24,441,333) | C/C ^a | 359 (35,0%) | 37,4% |
| | C/T | 454 (44,5%) | 47,1% |
| | T/T | 182 (18,1%) | 15,5% |
| rs4822492_ADORA2A (22:24,447,626) | C/C ^a | 210 (20,5%) | 17,1% |
| | C/G | 461 (45,1%) | 48,5% |
| | G/G | 339 (33,0%) | 34,4% |
| rs1800629_TNF-α (6:31,575,254) | G/G ^a | 744 (74,1%) | 74,4% |
| | G/A | 248 (24,7%) | 24,4% |
| | A/A | 12 (1,2%) | 1,2% |
| rs1143627_IL-1β (2:112,836,810) | G/G ^a | 134 (13,3%) | 12,3% |
| | G/A | 435 (43,0%) | 45,7% |
| | A/A | 442 (43,7%) | 42,0% |
| rs4719714_IL-6 (7:22,721,094) | A/A ^a | 600 (59,2%) | 59,8% |
| | A/T | 362 (35,7%) | 34,4% |
| | T/T | 52 (5,1%) | 5,8% |
| rs2472297_CYP1A1/2 (15:74,735,539) | C/C ^a | 686 (67,5%) | 62,0% |
| | C/T | 286 (28,1%) | 33,0% |
| | T/T | 45 (4,4%) | 5,0% |
| rs762551_CYP1A2 (15:74,749,576) | A/A ^a | 457 (45,7%) | 47,5% |
| | A/C | 437 (43,7%) | 41,0% |
| | C/C | 106 (10,6%) | 11,5% |
| rs73598374_ADA (20:44,651,586) | C/C ^a | 897 (89,2%) | 88,1% |
| | C/T | 105 (10,4%) | 11,5% |
| | T/T | 4 (0,4%) | 0,4 % |
| rs4680_COMT (22:19,963,748) | G/G ^a | 309 (30,5%) | 26,4% |
| | G/A | 496 (49,0%) | 47,2% |
| | A/A | 208 (20,5%) | 26,4% |
| rs6265_BDNF (11:27,658,369) | C/C ^a | 647 (64,1%) | 64,2% |
| | C/T | 307 (30,4%) | 32,2% |
| | T/T | 55 (5,5%) | 3,6% |
| rs228697_PER3 (1:7,827,519) | C/C ^a | 837 (82,6%) | 81,7% |
| | C/G | 166 (16,4%) | 17,3% |
| | G/G | 10 (1,0%) | 1% |

^a représente l'allèle ancestral ; ^b Nombre attendu en accord avec la base de données du projet 1000 Génomes sur le site du « GRCh38 reference assembly » (<http://www.internationalgenome.org/>). Les valeurs qualitatives sont en nombre (%).

IV.3.d. Impact des polymorphismes d'ADORA2A (gène du récepteur adénoenergique A2A) sur le temps total de sommeil, les troubles du sommeil et l'insomnie en fonction de la consommation de caféine.

Le temps total de sommeil (TST) nocturne autodéclaré diminue avec l'augmentation de la consommation de caféine. L'analyse ANOVA à 2 facteurs montre un effet significatif de la consommation de caféine sur le TST mais aucun effet significatif du génotype pour les 6 SNP d'ADORA2A, avec une interaction entre le génotype et la consommation de caféine pour 4 SNPs (tableau 6). Une analyse post-hoc montre que le génotype est associé à une différence significative du TST uniquement chez les faibles consommateurs de caféine (0-50mg/jour). Chez les faibles consommateurs de caféine, le TST est significativement inférieur chez les porteurs du génotype C/T et T/T en comparaison aux porteurs du génotype C/C (ancestral) pour deux SNPs d'ADORA2A (rs5751876 et le rs3761422) alors que le TST est supérieur chez les porteurs du génotype T/T (vs. C/C) pour le rs2298383 et les porteurs du génotype G (C/G, G/G) vs. les porteurs du génotype C/C du rs4822492 (tableau 6).

Tableau 6. Influence des 6 polymorphismes d'ADORA2A sur le temps total de sommeil (TST) en fonction des groupes de consommateurs de caféine.

| SNPs | Géno types | Faibles consommateurs (0-50 mg/jour) | | Consommateurs modérés (51-300 mg/jour) | | Forts consommateurs (>300 mg/jour) | | ANOVA (F (p)) | | |
|-----------|-------------------------|--------------------------------------|-----------------|--|-----------------|------------------------------------|-----------------|--|---------------------------------|------------------------------------|
| | | N | Moyenne ± IC95% | N | Moyenne ± IC95% | N | Moyenne ± IC95% | Groupe de Caféine (F _{2,1021}) | Génotype (F _{2,1021}) | Interaction (F _{4,1019}) |
| rs5751862 | G/G ^a | 52 (17,8%) | 7,23 ± 0,44 | 148 (50,5%) | 7,09 ± 0,22 | 93 (31,7%) | 6,95 ± 0,14 | 7,4 (p < 0,01) | 0,2 (p = 0,78) | 1,2 (p = 0,26) |
| | G/A | 106 (21,5%) | 7,28 ± 0,26 | 223 (45,1%) | 7,10 ± 0,14 # | 164 (33,1%) | 6,81 ± 0,12 # | | | |
| | A/A | 39 (17,3%) | 7,46 ± 0,44 | 102 (45,3%) | 6,94 ± 0,18 | 83 (36,9%) | 6,77 ± 0,18 # | | | |
| rs2298383 | C/C ^a | 62 (18,7%) | 6,93 ± 0,44 | 155 (46,8%) | 7,10 ± 0,14 | 114 (34,4%) | 6,96 ± 0,18 | 8,2 (p < 0,01) | 0,2 (p = 0,81) | 1,9 (p = 0,03) |
| | C/T | 92 (19,8%) | 7,13 ± 0,44 | 198 (42,7%) | 7,09 ± 0,14 | 172 (37,1%) | 6,79 ± 0,12 # | | | |
| | T/T | 44 (20,9 %) | 7,52 ± 0,32 * | 113 (53,8%) | 6,99 ± 0,16 # | 53 (25%) | 6,88 ± 0,14 # | | | |
| rs3761422 | C/C ^a | 79 (19,3%) | 7,56 ± 0,28 | 187 (45,8%) | 7,00 ± 0,16 # | 131 (32,1%) | 6,84 ± 0,14 # | 7,1 (p < 0,01) | 0,4 (p = 0,66) | 1,2 (p = 0,04) |
| | C/T | 89 (19,4%) | 7,00 ± 0,32 * | 204 (44,5%) | 7,06 ± 0,14 | 164 (35,8%) | 6,79 ± 0,12 # | | | |
| | T/T | 28 (18,8%) | 6,85 ± 0,45 * | 76 (51,0%) | 7,27 ± 0,32 | 45 (30,2%) | 6,99 ± 0,10 # | | | |
| rs2236624 | C/C ^a | 130 (20,8%) | 7,30 ± 0,26 | 284 (45,4%) | 7,00 ± 0,12 # | 210 (33,6%) | 6,86 ± 0,10 # | 3,5 (p < 0,01) | 0,3 (p = 0,73) | 1,4 (p = 0,18) |
| | C/T | 60 (19,6%) | 7,17 ± 0,36 | 159 (47,2%) | 7,21 ± 0,20 | 117 (34,7%) | 6,74 ± 0,14 # | | | |
| | T/T | 11 (21,6%) | 6,62 ± 0,80 | 27 (52,9%) | 7,12 ± 0,32 | 13 (25,4%) | 7,05 ± 0,28 # | | | |
| rs5751876 | C/C ^a | 68 (18,9%) | 7,53 ± 0,30 | 165 (46,0%) | 6,99 ± 0,14 # | 125 (34,8%) | 6,85 ± 0,14 # | 7,5 (p < 0,01) | 0,1 (p = 0,91) | 1,8 (p = 0,04) |
| | C/T | 91 (20,0%) | 7,05 ± 0,32 * | 199 (36,5%) | 7,09 ± 0,20 | 163 (35,9%) | 6,80 ± 0,12 # | | | |
| | T/T | 38 (20,9%) | 6,92 ± 0,48 * | 98 (53,8%) | 7,01 ± 0,28 | 49 (26,9%) | 6,97 ± 0,20 | | | |
| rs4822492 | C/C ^a | 44 (21,0%) | 6,93 ± 0,44 | 113 (53,8%) | 6,99 ± 0,14 | 53 (25,2%) | 6,86 ± 0,14 | 8,2 (p < 0,01) | 0,1 (p = 0,89) | 1,8 (p = 0,04) |
| | C/G | 91 (19,7%) | 7,26 ± 0,32 * | 200 (43,3%) | 7,09 ± 0,14 | 169 (36,7%) | 6,79 ± 0,12 # | | | |
| | G/G | 64 (18,9%) | 7,52 ± 0,30 * | 159 (46,9%) | 7,10 ± 0,24 # | 115 (33,9%) | 6,96 ± 0,18 # | | | |

^a correspond à l'allèle ancestral. * p<0.05 correspond à la différence significative vs. génotype ancestral. # p<0,05 vs. faibles consommateurs de caféine (0-50mg). N est le nombre total de sujets avec l'allèle correspondante, n est le nombre total de sujets se plaignant de troubles du sommeil ou d'insomnie pour chaque génotype (% est calculé en fonction du nombre de sujets dans chaque groupe de caféine). F_{2,1021} et F_{2,1019} sont les résultats de l'analyse ANOVA à 2 facteurs (groupes de consommation de caféine x SNP).

L'analyse globale du TST chez tous les sujets montre aucun effet des polymorphismes (tableau 7).

Tableau 7. Influence des 6 polymorphismes d'ADORA2A sur le temps total de sommeil (TST), les troubles du sommeil et l'insomnie.

| SNPs | Génotypes | N | Temps total de sommeil (TST) | Troubles du sommeil | | Insomnie | |
|-----------|-------------------------|-----|------------------------------|---------------------|------------------------|------------|------------------------|
| | | | moyenne ± IC95% | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs5751862 | G/G ^a | 293 | 7,02 ± 0,12 | 124 (42,3%) | 1 | 32 (10,9%) | 1 |
| | G/A | 493 | 6,98 ± 0,14 | 226 (46,0%) | 1,2 (0,9–1,5) | 46 (9,3%) | 1,2 (0,73–2,13) |
| | A/A | 224 | 6,89 ± 0,16 | 123 (54,7%) | 1,6 (0,9–2,3) | 30 (13,4%) | 0,8 (0,52–1,34) |
| rs2298383 | C/C ^a | 210 | 6,99 ± 0,14 | 88 (41,9%) | 1 | 23 (10,9%) | 1 |
| | C/T | 463 | 6,94 ± 0,12 | 207 (44,7%) | 1,2 (0,6–1,4) | 40 (8,6%) | 0,8 (0,4–1,3) |
| | T/T | 332 | 7,01 ± 0,14 | 174 (52,4%) | 1,9 (1,2–3,1) * | 44 (13,3%) | 1,5 (1,3–2,5) * |
| rs3761422 | C/C ^a | 398 | 6,99 ± 0,10 | 200 (49,1%) | 1 | 49 (12,0%) | 1 |
| | C/T | 458 | 6,91 ± 0,10 | 204 (44,5%) | 0,7 (0,6–1,0) | 38 (8,3%) | 0,6 (0,4–0,9) * |
| | T/T | 149 | 7,08 ± 0,16 | 64 (43,0%) | 0,8 (0,5–1,1) | 19 (12,8%) | 0,6 (0,6–1,7) |
| rs2236624 | C/C ^a | 625 | 6,97 ± 0,04 | 299 (47,8%) | 1 | 67 (10,7%) | 1 |
| | C/T | 337 | 6,94 ± 0,05 | 153 (45,4%) | 0,9 (0,7–1,2) | 35 (10,4%) | 0,9 (0,6–1,6) |
| | T/T | 51 | 7,03 ± 0,14 | 21 (41,2%) | 0,8 (0,4–1,4) | 7 (13,7%) | 1,4 (0,6–3,2) |
| rs5751876 | C/C ^a | 359 | 6,98 ± 0,05 | 185 (51,5%) | 1 | 46 (12,8%) | 1 |
| | C/T | 454 | 6,93 ± 0,04 | 198 (43,6%) | 0,7 (0,5–0,9) * | 36 (7,9%) | 0,5 (0,3–0,9) * |
| | T/T | 182 | 6,99 ± 0,08 | 80 (43,2%) | 0,7 (0,5–0,9) * | 21 (11,5%) | 0,9 (0,5–1,5) |
| rs4822492 | C/C ^a | 210 | 6,98 ± 0,05 | 89 (42,4%) | 1 | 23 (10,9%) | 1 |
| | C/G | 461 | 6,93 ± 0,04 | 207 (44,9%) | 1,1 (0,5–1,2) | 39 (8,4%) | 1,3 (0,7–2,2) |
| | G/G | 339 | 7,01 ± 0,07 | 178 (52,5%) | 1,5 (1,1–2,1) * | 46 (13,6%) | 1,9 (1,3–3,2) * |

^a correspond à l'allèle ancestral. * et en gras ($p < 0.05$) correspond à la différence significative vs. génotype ancestral. N est le nombre total de sujets pour chaque génotype et n est le nombre de sujets rapportant des troubles du sommeil ou de l'insomnie pour chaque génotype. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

Six haplotypes différents (ATCCCG, GCTTTC, GCTCTC, GTCCCG, GCCCTC, GCCCCC) et un rare ont été trouvés, la fréquence la plus élevée étant de 45,3% pour l'haplotype 1 (tableau 8). Les haplotypes 2 (21,2%) et 3 (15,7%) de notre étude correspondent respectivement aux haplotypes HT1 et HT4 de l'étude de Bodenmann et al. (2012). Dans son étude, les porteurs de l'haplotype 4 étaient plus performants sur une tâche de PVT pendant une privation totale de sommeil en comparaison aux autres haplotypes non-HT4 et ne présentaient pas moins de rebond des ondes lentes dans l'EEG lors du sommeil récupérateur après privation.

Tableau 8. Fréquences des haplotypes d'ADORA2A (n=1023).

| | rs5751862 | rs2298383 | rs3761422 | rs2236624 | rs5751876 | rs4822492 | % |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| 1 | A | T | C | C | C | G | 45,3% |
| 2 | G | C | T | T | T | C | 21,2% |
| 3 ^h | G | C | T | C | T | C | 15,7% |
| 4 | G | T | C | C | C | G | 11,1% |
| 5 | G | C | C | C | T | C | 2,8% |
| 6 | G | C | C | C | C | C | 2,6% |
| Rare | | | | | | | 1,30% |

^h correspond à l'haplotype HT4 de l'étude de Bodenmann et ses collaborateurs (2012) (Bodenmann et al., 2012) ; Rare représentent les haplotypes avec une fréquence <1%.

L'analyse ANOVA à 2 facteurs (caféine et haplotype) montre un effet significatif de la consommation de caféine ($p=0,02$; $F=4,51$) avec une interaction significative ($p=0,03$; $F=2,42$) sur le TST, mais aucun effet de l'haplotype ($p=0,10$; $F=1,42$). Le TST est inférieur chez les forts consommateurs de caféine par rapport aux faibles consommateurs pour tous les haplotypes. De plus, le TST est inférieur chez les faibles consommateurs de caféine pour les haplotypes 2 et 3 (incluant l'allèle T du rs5751876) par rapport à l'haplotype 1 (incluant l'allèle C du rs5751876) le plus fréquent (Figure 26).

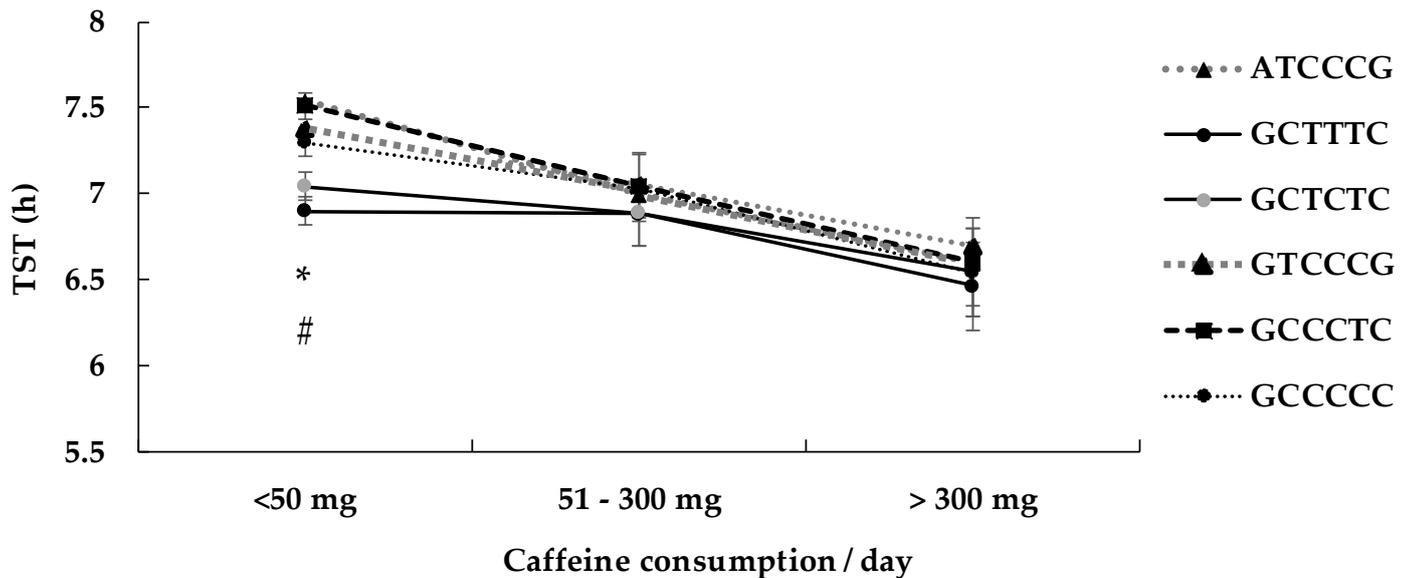


Figure 26. Influence de 6 haplotypes d'ADORA2A sur le temps total de sommeil (TST). Les valeurs sont en moyenne \pm IC95% ; * est la différence ($p<0,005$) entre les haplotypes GCTTTC et ATCCCG (haplotype 1, 45,3%) ; # entre GTCCCG et ATCCCG ($p<0,05$).

Le risque de troubles du sommeil est significativement plus faible chez les porteurs du génotype C/T et T/T par rapport aux porteurs du génotype C/C pour le rs5751876 chez les consommateurs modérés de caféine et chez tous les sujets (tableaux 7 et 9). Cependant, chez les participants consommant de la caféine modérément et pour tous les sujets, le risque de troubles du sommeil est plus élevé pour les porteurs du génotype T/T que C/C pour le rs2298383 et G/G par rapport aux C/C pour le rs4822492 (tableaux 7 et 9).

Tableau 9. Influence de 6 SNPs d'ADORA2A sur les troubles du sommeil en fonction des groupes de consommation de caféine.

| SNPs | Génotypes | Faibles consommateurs (0–50 mg/jour) | | Consommateurs modérés (51–300 mg/jour) | | Forts consommateurs (> 300 mg/jour) | |
|------------------|-------------------------|---|---------------|---|------------------------|--|----------------|
| | | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs5751862 | G/G ^a | 21 (40,4%) | 1 | 57 (37,3%) | 1 | 56 (52,3%) | 1 |
| | G/A | 52 (49,1%) | 1,5 (0,6–3,9) | 96 (42,1%) | 1,3 (0,9–2,6) | 79 (49,4,5%) | 0,85 (0,5–1,2) |
| | A/A | 18 (46,2%) | 1,3 (0,9–8,7) | 59 (55,7%) | 1,4 (0,8–2,1) | 46 (57,5%) | 1,27 (0,8–2,0) |
| rs2298383 | C/C ^a | 19 (43,2%) | 1 | 44 (38,9%) | 1 | 24 (45,3%) | 1 |
| | C/T | 46 (50,6%) | 1,3 (0,6–2,7) | 71 (35,9%) | 1,1 (0,7–1,8) | 87 (50,6%) | 1,1 (0,7–1,8) |
| | T/T | 26 (41,9%) | 0,9 (0,6–1,6) | 85 (54,8%) | 1,5 (1,1–2,8) * | 60 (52,6%) | 1,3 (0,9–2,9) |
| rs3761422 | C/C ^a | 35 (44,3%) | 1 | 100 (51,8%) | 1 | 65 (51,6%) | 1 |
| | C/T | 44 (49,4%) | 1,3 (0,3–1,6) | 74 (35,4%) | 0,7 (0,4–1,1) | 86 (53,8%) | 1,1 (0,6–1,6) |
| | T/T | 11 (39,3%) | 0,3 (0,1–1,1) | 33 (41,8%) | 0,7 (0,4–1,4) | 20 (47,6%) | 0,9 (0,5–1,5) |
| rs2236624 | C/C ^a | 59 (45,4%) | 1 | 132 (45,5%) | 1 | 108 (52,7%) | 1 |
| | C/T | 31 (51,7%) | 1,1 (0,5–2,6) | 63 (38,4%) | 0,9 (0,6–1,4) | 59 (52,2%) | 0,9 (0,6–1,2) |
| | T/T | 2 (18,2%) | 0 | 14 (48,3%) | 0,9 (0,3–2,2) | 5 (45,5%) | 1,1 (0,5–2,5) |
| rs5751876 | C/C ^a | 31 (45,6%) | 1 | 90 (52,6%) | 1 | 64 (56,3%) | 1 |
| | C/T | 43 (47,3%) | 1,2 (0,6–2,6) | 72 (35,3%) | 0,6 (0,4–0,9) * | 83 (52,2%) | 0,9 (0,6–1,2) |
| | T/T | 17 (44,7%) | 0,8 (0,3–1,6) | 41 (49,6%) | 0,8 (0,3–1,2) | 22 (47,8%) | 0,8 (0,5–1,3) |
| rs4822492 | C/C ^a | 19 (43,2%) | 1 | 45 (39,8%) | 1 | 24 (45,3%) | 1 |
| | C/G | 46 (50,5%) | 0,7 (0,3–1,6) | 72 (36,0%) | 0,8 (0,5–1,6) | 86 (50,9%) | 1,1 (0,6–2,3) |
| | G/G | 28 (43,8%) | 1,0 (0,4–2,1) | 87 (54,7%) | 1,8 (1,1–2,9) * | 61 (53,0%) | 1,3 (0,6–2,5) |

^a représente l'ancestral ; * $p < 0,05$ est la différence significative vs. le génotype ancestral.

Les résultats sur l'influence des 6 SNPs d'ADORA2A sur l'insomnie (rapportée), selon les trois groupes de consommateurs de caféine, ne sont pas présentés car moins de 10% des sujets étaient concernés et le nombre de sujets porteurs des génotypes pour chacun des SNPs dans les différents groupes de consommateurs de caféine étaient faibles. Cependant, si nous considérons tous les sujets, le risque d'insomnie est significativement plus élevé pour les porteurs du génotype T/T et G/G par rapport aux porteurs des génotypes C/C du rs2298383 et rs4822492 respectivement (Tableau 7).

IV.3.e. Impact des polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires sur le temps total de sommeil, les troubles du sommeil et l'insomnie en fonction de la consommation de caféine.

Le temps total de sommeil (TST) nocturne autodéclaré a considérablement diminué avec l'augmentation de la consommation de caféine. L'analyse ANOVA à 2 facteurs montre un effet significatif de la consommation de caféine sur le TST pour les polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β et IL-6) ($p < 0,01$), mais aucun effet du génotype, ni d'interaction significative n'ont été observés (tableau non représenté). Chez les forts consommateurs de caféine (>300 mg/jour), le TST est significativement inférieur par rapport aux faibles consommateurs de caféine pour les porteurs de l'allèle G du polymorphisme de TNF- α , pour les porteurs du génotype A/A du polymorphisme d'IL-1 β et pour les porteurs de l'allèle A du polymorphisme d'IL-6 (tableau non représenté). L'analyse globale du TST chez tous les sujets montre aucun effet des polymorphismes (tableau 10).

Tableau 10. Influence des polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires sur le temps total de sommeil (TST), les troubles du sommeil et l'insomnie.

| SNPs | Génotypes | N | Temps total de sommeil (TST) | Troubles du sommeil | | Insomnie | |
|----------------------------------|------------------------|-----|------------------------------|---------------------|---------------------------|------------|------------------|
| | | | Moyenne ± IC95% | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs1800629 TNF-α | G/G^a | 742 | 6,95 ± 0,07 | 333 (44,8%) | 1,00 | 74 (9,9%) | 1,00 |
| | G/A | 248 | 6,99 ± 0,13 | 133 (53,6%) | 1,44 (1,05-1,97) * | 35 (14,1%) | 1,48 (0,95-2,30) |
| | A/A | 12 | 7,08±0,58 | 4 (33,3%) | 0,67 (0,07-1,92) | 0 (0,0%) | 0,00 (0,00-NA) |
| rs1143627 IL-1β | G/G^a | 134 | 6,96 ± 0,18 | 50 (37,3%) | 1,00 | 11 (8,2%) | 1,00 |
| | G/A | 434 | 6,97 ± 0,09 | 204 (46,9%) | 1,27 (0,79-2,05) | 44 (10,1%) | 1,20 (0,52-2,77) |
| | A/A | 441 | 6,96 ± 0,09 | 219 (49,7%) | 1,75 (0,95-3,23) | 53 (12,0%) | 1,05 (0,34-3,14) |
| rs4719714 IL-6 | A/A^a | 599 | 6,95 ± 0,08 | 289 (48,2%) | 1,00 | 70 (11,7%) | 1,00 |
| | A/T | 361 | 7,01 ± 0,10 | 166 (45,9%) | 0,95 (0,71-1,25) | 33 (9,1%) | 0,79 (0,51-1,23) |
| | T/T | 52 | 6,83± 0,26 | 18 (34,6%) | 0,53 (0,27-1,02) | 5 (9,6%) | 0,79 (0,30-2,08) |

^a correspond à l'allèle ancestral. * et en gras ($p < 0,05$) correspond à la différence significative vs. génotype ancestral. N est le nombre total de sujets pour chaque génotype et n est le nombre de sujets rapportant des troubles du sommeil ou de l'insomnie pour chaque génotype. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

Le risque de troubles du sommeil est significativement plus élevé chez les porteurs du génotype G/A du polymorphisme de TNF-α par rapport à l'ancestral G/G chez les forts consommateurs de caféine et chez tous les sujets (tableau 10 et 11). Aucune autre significativité n'a été observée.

Tableau 11 : Influence des polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires sur les troubles du sommeil en fonction des groupes de consommation de caféine.

| SNPs | Génotypes | Faibles consommateurs (0-50 mg/jour) | | Consommateurs modérés (51-300 mg/jour) | | Forts consommateurs (> 300 mg/jour) | |
|----------------------------------|------------------------|--------------------------------------|------------------|--|------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| | | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs1800629 TNF-α | G/G^a | 64 (44,8%) | 1,00 | 158 (43,4%) | 1,00 | 111 (46,8%) | 1,00 |
| | G/A | 26 (52,0%) | 1,18 (0,59-2,34) | 49 (44,1%) | 1,23 (0,77-1,95) | 58 (66,7%) | 2,09 (1,96-3,66) * |
| | A/A | 1 (33,3%) | 0,81 (0,07-9,21) | 2 (40,0%) | 1,11 (0,18-6,96) | 1 (25,0%) | 0,54 (0,05-5,38) |
| rs1143627 IL-1β | G/G^a | 9 (45,0%) | 1,00 | 22 (30,1%) | 1,00 | 19 (14,4%) | 1,00 |
| | G/A | 44 (43,6%) | 1,19 (0,37-3,38) | 90 (44,6%) | 1,59 (0,81-3,14) | 70 (44,6%) | 1,07 (0,46-2,5) |
| | A/A | 40 (51,3%) | 1,42 (0,27-7,35) | 96 (46,4%) | 1,72 (0,78- | 83 (43,7%) | 2,56 (0,72-9,09) |
| rs4719714 IL-6 | A/A^a | 50 (43,9%) | 1,00 | 139 (47,0%) | 1,00 | 100 (52,6%) | 1,00 |
| | A/T | 39 (52,7%) | 1,45 (0,78-2,69) | 67 (38,5%) | 0,77 (0,51-1,16) | 60 (52,6%) | 0,98 (0,59-1,63) |
| | T/T | 3 (25,0%) | 0,44 (0,11-1,76) | 6 (35,3%) | 0,50 (0,15-1,72) | 9 (39,1%) | 0,57 (0,22-1,48) |

^a représente l'ancestral ; * $p < 0,05$ est la différence significative vs. génotype ancestral. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

Les résultats sur l'influence des polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires sur l'insomnie (plainte subjective), selon les trois groupes de consommateurs de caféine, ne sont pas présentés car l'effectif concerné et le nombre de sujets porteurs des génotypes pour chacun des SNPs dans les différents groupes de consommateurs de caféine étaient faibles. En considérant tous les sujets, aucun effet significatif n'a été observé (tableau 10).

IV.3.f. Impact des polymorphismes des cytochromes P450 sur le temps total de sommeil, les troubles du sommeil et l'insomnie en fonction de la consommation de caféine.

Le temps total de sommeil (TST) nocturne autodéclaré a considérablement diminué avec l'augmentation de la consommation de caféine. L'analyse ANOVA à 2 facteurs montre un effet de la consommation de caféine sur le TST pour le rs2472297 de CYP1A1/2, et le rs762551 de CYP1A2. Chez les forts consommateurs de caféine, le TST est significativement inférieur chez les porteurs du génotype C/C de CYP1A1/2, et chez les porteurs de l'allèle A de CYP1A2 ($p < 0.001$). L'analyse globale du TST chez tous les sujets montre aucun effet des polymorphismes (tableau 12).

Tableau 12. Influence des polymorphismes en lien avec la famille des cytochromes sur le temps total de sommeil (TST), les troubles du sommeil et l'insomnie.

| SNPs | Génotypes | N | Temps total de sommeil | Troubles du sommeil | | Insomnie | |
|-------------------------------|------------------------|-----|------------------------|---------------------|------------------|------------|---------------------------|
| | | | Moyenne \pm IC95% | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs2472297 CYP1A1/2 | C/C^a | 685 | 6,94 \pm 0,07 | 317 (46,2%) | 1,00 | 77 (11,2%) | 1,00 |
| | C/T | 285 | 7,02 \pm 0,11 | 133 (46,5%) | 1,11 (0,82-1,48) | 22 (7,7%) | 0,68 (0,41-1,13) |
| | T/T | 45 | 6,93 \pm 0,26 | 26 (57,8%) | 1,39 (0,70-2,75) | 10 (22,2%) | 2,37 (1,11-5,03) * |
| rs762551 CYP1A2 | A/A^a | 456 | 7,00 \pm 0,09 | 209 (45,7%) | 1,00 | 52 (11,4%) | 1,00 |
| | A/C | 436 | 6,94 \pm 0,99 | 209 (47,8%) | 1,16 (0,88-1,54) | 39 (7,3%) | 0,73 (0,47-1,14) |
| | C/C | 106 | 6,91 \pm 0,95 | 52 (49,1%) | 0,97 (0,61-1,56) | 17 (16,0%) | 1,48 (0,81-2,71) |

^a correspond à l'allèle ancestral. * $p < 0.05$ correspond à la différence significative vs. génotype ancestral. N est le nombre total de sujets pour chaque génotype et n est le nombre de sujets rapportant des troubles du sommeil ou de l'insomnie pour chaque génotype. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

En ce qui concerne le risque de troubles du sommeil, aucun effet significatif des polymorphismes CYP1A1/2 et CYP1A2 est observé ; seuls les porteurs du génotype T/T du polymorphisme CYP1A1/2 ont un risque plus élevé d'insomnie mais uniquement en considérant tous les sujets (tableau 12).

Les résultats sur l'influence des polymorphismes selon les trois groupes de consommateurs de caféine en lien avec la famille des cytochromes P450 sur l'insomnie ne sont pas présentés car le nombre de sujets porteurs des génotypes pour chacun des SNPs dans les différents groupes de consommateurs de caféine étaient faibles.

IV.3.g. Impact des polymorphismes du système adénoenergique (ADA - enzyme adenosine deaminase), du système catécholaminergique (COMT - enzyme catechol-O-methyltransferase), et du facteur neurotrophique (BDNF – brain-derived neurotrophic factor) sur le temps total de sommeil, les troubles du sommeil et l'insomnie en fonction de la consommation de caféine.

Le temps total de sommeil (TST) nocturne autodéclaré diminue avec l'augmentation de la consommation de caféine. L'analyse ANOVA à 2 facteurs montre un effet significatif de la consommation de caféine sur le TST pour les SNPs d'ADA, de COMT, et de BDNF, mais sans effet significatif du génotype ni d'interaction entre le génotype et la consommation de caféine (tableau non représenté). Chez les forts consommateurs de caféine comparés aux faibles, le TST est significativement inférieur chez les porteurs du génotype C/C de ADA, chez les porteurs de l'allèle G de COMT, et chez les porteurs de l'allèle C de BDNF ($p < 0.001$, tableau non représenté). L'analyse globale du TST chez tous les sujets montre aucun effet des polymorphismes (tableau 13).

Tableau 13. Influence des polymorphismes impliqués dans le système adénoenergique et catécholaminergique sur le temps total de sommeil (TST), les troubles du sommeil et l'insomnie.

| SNPs | Génotypes | N | Temps total de sommeil (TST) | Troubles du sommeil | | Insomnie | |
|---------------------------|------------------------|-----|------------------------------|---------------------|------------------|-------------|-------------------|
| | | | Moyenne \pm SEM | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs73598374 ADA | C/C^a | 895 | 6,97 \pm 0,23 | 415 (46,3%) | 1,00 | 93 (10,37%) | 1,00 |
| | C/T | 105 | 6,99 \pm 0,68 | 52 (49,5%) | 1,16 (0,75-1,79) | 12 (11,4%) | 1,09 (0,57-2,09) |
| | T/T | 4 | 6,58 \pm 3,29 | 2 (50,0%) | 0,66 (0,07-6,09) | 1 (25,0%) | 2,76 (0,28-27,32) |
| rs4680 COMT | G/G^a | 308 | 6,93 \pm 0,39 | 146 (47,2%) | 1,00 | 34 (11,0%) | 1,00 |
| | G/A | 495 | 7,01 \pm 0,31 | 235 (47,4%) | 1,02 (0,75-1,38) | 53 (10,7%) | 0,96 (0,61-1,53) |
| | A/A | 208 | 6,93 \pm 0,48 | 34 (16,3%) | 0,95 (0,65-1,39) | 21 (10,1%) | 0,97 (0,54-1,73) |
| rs6265 BDNF | C/C^a | 647 | 6,94 \pm 0,27 | 303 (46,8%) | 1,00 | 65 (10,0%) | 1,00 |
| | C/T | 307 | 7,03 \pm 0,40 | 141 (45,9%) | 0,93 (0,69-1,26) | 40 (13,0%) | 1,41 (0,92-2,16) |
| | T/T | 55 | 6,83 \pm 0,92 | 28 (50,9%) | 1,38 (0,78-2,46) | 4 (7,3%) | 0,78 (0,27-2,25) |

^a correspond à l'allèle ancestral. * $p < 0.05$ correspond à la différence significative vs. génotype ancestral. N est le nombre total de sujets pour chaque génotype et n est le nombre de sujets rapportant des troubles du sommeil ou de l'insomnie pour chaque génotype. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

Le risque de troubles du sommeil est significativement plus élevé chez les porteurs du génotype T/T du polymorphisme BDNF par rapport à l'ancestral chez les consommateurs modérés de caféine (tableau 14).

Tableau 14 : Influence des polymorphismes impliqués dans le système adénoenergique, adrénénergique et catécholaminergique sur les troubles du sommeil en fonction des groupes de consommation de caféine.

| SNPs | Génotypes | Faibles consommateurs (0–50 mg/jour) | | Consommateurs modérés (51–300 mg/jour) | | Forts consommateurs (>300 mg/jour) | |
|---------------------------------|------------------------|---|-------------------|---|---------------------------|---------------------------------------|------------------|
| | | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs73598374 ADA | C/C^a | 81 (45,0%) | 1,00 | 190 (44,2%) | 1,00 | 144 (50,2%) | 1,00 |
| | C/T | 10 (58,8%) | 2,03 (0,68-6,10) | 18 (35,3%) | 0,72 (0,37-1,39) | 24 (64,9%) | 1,81 (0,85-3,86) |
| | T/T | 1 (50,0%) | 0,31 (0,01-12,62) | 1 (100,0%) | NA | 0 (0,0%) | 0,00 |
| rs4680 COMT | G/G^a | 32 (52,5%) | 1,00 | 61 (43,6%) | 1,00 | 53 (49,1%) | 1,00 |
| | G/A | 39 (43,7%) | 0,78 (0,40-1,55) | 112 (43,1%) | 0,86 (0,55-1,35) | 84 (57,1%) | 1,58 (0,92-2,70) |
| | A/A | 22 (44,0%) | 0,72 (0,33-1,58) | 38 (44,2%) | 1,01 (0,57-1,79) | 34 (47,2%) | 1,01 (0,52-1,95) |
| rs6265 BDNF | C/C^a | 56 (47,9%) | 1,00 | 128 (41,3%) | 1,00 | 119 (54,1%) | 1,00 |
| | C/T | 32 (44,4%) | 0,93 (0,50-1,73) | 63 (45,3%) | 1,03 (0,66-1,62) | 46 (47,9%) | 0,79 (0,47-1,64) |
| | T/T | 4 (40,0%) | 0,65 (0,16-2,67) | 16 (45,7%) | 2,19 (1,04-4,64) * | 6 (50,0%) | 0,87 (0,25-2,95) |

^a représente l'ancestral ; * $p < 0,05$ est la différence significative vs. le génotype ancestral. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

Les résultats sur l'influence des polymorphismes du système adénoenergique et catécholaminergique sur l'insomnie rapportée, selon les trois groupes de consommateurs de caféine, ne sont pas présentés car le nombre de sujets porteurs des génotypes pour chacun des SNPs dans les différents groupes de consommateurs de caféine étaient faibles. En considérant tous les sujets, aucun effet significatif n'a été observé (tableau 13).

IV.3.h. Impact du polymorphisme de PER3 sur le temps total de sommeil, les troubles du sommeil et l'insomnie en fonction de la consommation de caféine.

Le temps total de sommeil (TST) nocturne autodéclaré diminue avec l'augmentation de la consommation de caféine. L'analyse ANOVA à 2 facteurs montre un effet significatif de la consommation de caféine sur le TST pour le SNP de PER3 sans effet significatif du génotype, ni d'interaction entre le génotype et la consommation de caféine (tableau non représenté). Chez les forts consommateurs de caféine comparés aux faibles, le TST est significativement inférieur pour les porteurs du génotype C/C du polymorphisme de PER3 ($p < 0,001$, tableau non représenté). L'analyse globale du TST chez tous les sujets montre aucun effet des polymorphismes (tableau 15).

Tableau 15. Influence du polymorphisme PER3 sur le temps total de sommeil (TST), les troubles du sommeil et l'insomnie.

| SNPs | Génotypes | N | Temps total de sommeil (TST) | Troubles du sommeil | | Insomnie | |
|-----------------|------------------------|-----|------------------------------|---------------------|------------------|------------|---------------------------|
| | | | Moyenne ± SEM | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs228697 | C/C^a | 835 | 6,96 ± 0,24 | 383 (45,8%) | 1,00 | 80 (9,6%) | 1,00 |
| PER3 | C/G | 166 | 6,96 ± 0,54 | 85 (51,2%) | 1,04 (0,72-1,51) | 29 (17,5%) | 1,97 (1,23-3,16) * |
| | G/G | 10 | 6,88 ± 2,18 | 6 (60,0%) | 2,35 (0,65-8,49) | 0 (0,0%) | 0,00 (0,00-NA) |

^a correspond à l'allèle ancestral. * $p < 0,05$ correspond à la différence significative vs. génotype ancestral. N est le nombre total de sujets pour chaque génotype et n est le nombre de sujets rapportant des troubles du sommeil ou de l'insomnie pour chaque génotype. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

Le risque de troubles du sommeil est significativement plus élevé chez les porteurs du génotype C/G de PER3 par rapport à l'ancestral chez les faibles consommateurs, alors qu'il est plus faible chez les forts consommateurs de caféine (tableau 16). Le risque d'insomnie est également plus élevé chez les porteurs C/G en considérant tous les sujets (tableau 16), la distinction selon les groupes de consommation de caféine n'ayant pas été statistiquement possible (<10% de plainte d'insomnie).

Tableau 16 : Influence du polymorphisme rythme circadien sur les troubles du sommeil en fonction des groupes de consommation de caféine.

| SNPs | Génotypes | Faibles consommateurs (0–50 mg/jour) | | Consommateurs modérés (51–300 mg/jour) | | Forts consommateurs (> 300 mg/jour) | |
|-----------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------------|--|------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| | | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) | n (%) | ORa (IC95%) |
| rs228697 | C/C^a | 67 (41,4%) | 1,00 | 167 (41,4%) | 1,00 | 149 (54,8%) | 1,00 |
| | C/G | 22 (62,9%) | 2,45 (1,13-5,35) * | 42 (52,5%) | 1,25 (0,73-2,15) | 21 (41,2%) | 0,39 (0,19-0,79) * |
| | PER3 | G/G | 2 (100%) | NA | 3 (60,0%) | 3,00 (0,49-18,31) | 1 (33,3%) |

^a représente l'ancestral ; * $p < 0,05$ est la différence significative vs. génotype ancestral. ORa : Odds ratio ajustés à l'âge, au sexe, à la consommation de tabac.

IV.4. Discussion

IV.4.a. Rappel des résultats

Dans cette première étude, nous avons évalué l'influence de 15 polymorphismes génétiques sur le temps total de sommeil et les troubles du sommeil et l'association avec des groupes de consommation de caféine (faible, modéré et fort) dans une population française active âgée de 18 à 60 ans. Nous avons sélectionné des polymorphismes génétiques associés à :

- la variabilité interindividuelle de l'activité EEG pendant l'endormissement et l'éveil (Bodenmann et al., 2009a, 2012, Retey et al., 2005 ; Bachmann et al., 2012a),
- la réponse subjective ou objective des effets de la caféine sur le sommeil (Rétey et al., 2007 ; Byrne et al., 2012 ; Mazzotti et al., 2011, 2012)
- l'effet anxiogénique de la caféine (Rogers et al., 2010 ; Childs et al., 2008), à la consommation de la caféine (Cornelis et al., 2007, 2015, 2016), aux troubles de l'anxiété ou de panique (Hohoff et al., 2010 ; Libermann et al., 2018),
- les troubles du sommeil (Byrne et al., 2012 ; Oliveira et al., 2019 ; Zaki et al., 2018 ; Valomon et al., 2014 ; Miaskowski et al., 2010).

Nous avons réparti les consommateurs de caféine dans trois groupes distincts. Les faibles consommateurs (0-50 mg/jour) sont en adéquation avec une autre étude (Rogers et al., 2010). Le choix des deux autres catégories s'est référé à la revue de littérature expliquant qu'une dose de 300 à 400 mg de caféine par jour n'a pas de répercussion sur la santé alors qu'une dose supérieure à 400 mg peut avoir des effets néfastes comme l'anxiété, la nervosité, l'insomnie, la tachycardie ou encore des tremblements (Temple et al., 2017). De plus, la dose de 300 mg correspond à la quantité de caféine ingérée sous la forme de caféine à libération prolongée, et utilisée par des personnels travaillant de nuit ou pendant une période d'éveil prolongé (Beaumont et al., 2005).

IV.4.b. Les polymorphismes d'ADORA2A

L'impact significatif des polymorphismes génétiques d'ADORA2A sur le temps total de sommeil a été mis en évidence uniquement après prise en compte de la consommation de caféine, et notamment sur le groupe de faibles consommateurs de caféine (0-50 mg par jour). Chez ces faibles consommateurs, plusieurs mutations génétiques d'ADORA2A sont associées au temps total de sommeil, dont le rs5751876, le plus étudié dans la littérature concernant génétique et sommeil en lien avec le système adénoenergique, et aussi la performance cognitive en réponse à la privation de sommeil. Les porteurs de l'allèle T du rs5751876 et rs3761422 ont un temps total de sommeil inférieur aux porteurs du

génotype ancestral C/C alors que les porteurs de l'allèle T et G du rs2298383 et rs4822492 ont un temps total de sommeil plus élevé. L'analyse des haplotypes a montré un temps total de sommeil plus faible pour les porteurs de l'haplotype 2 et 3 de notre étude présentant bien l'allèle T de rs5751876, l'allèle T de rs3761422 et l'allèle C de rs2298383 et rs4822492, par rapport à l'haplotype 1 le plus fréquent de notre étude. De plus, quels que soient les polymorphismes d'ADORA2A, le temps total de sommeil est inférieur chez les forts consommateurs (>300mg) par rapport aux faibles consommateurs (0-50 mg).

Nos résultats montrent également l'association des polymorphismes d'ADORA2A avec les risques de troubles du sommeil en considérant tous les sujets (sans distinction de la consommation de caféine) et les trois groupes de sujets selon la consommation de caféine. Par contre, l'association au risque d'insomnie n'a pas été évaluée sur les trois groupes consommateurs de caféine, car ce symptôme était rapporté par moins de 10% des sujets. Pour les risques de troubles du sommeil et l'insomnie, les porteurs de l'allèle T du rs2298383 et rs4822492 ont un risque plus élevé par rapport aux porteurs du génotype ancestral C/C, en considérant tous les sujets, et après ajustement avec l'âge, le sexe et le tabac. Ce sont les consommateurs modérés de caféine porteurs des rs2298383 et rs4822492 qui présentent un risque supérieur de troubles du sommeil par rapport aux porteurs du génotype ancestral C/C. Par conséquent, l'analyse des polymorphismes génétiques de ADORA2A fournit des informations supplémentaires concernant la variabilité interindividuelle à la durée et aux troubles du sommeil ainsi qu'à la consommation de caféine qui seront intéressantes pour améliorer les connaissances scientifiques sur le sommeil, individualiser les conseils et amener de nouvelles approches thérapeutiques.

Des études ont montré que l'adénosine et ses récepteurs favorisent le sommeil NREM et REM alors que la caféine les inhibe (Basheer et al., 2010). Bien qu'il existe quatre types de récepteurs à l'adénosine couplés à la protéine G (A1, A2A, A2b et A3), le récepteur A2A joue un rôle important dans la régulation du cycle veille/sommeil et dans l'éveil induit par la caféine (Huang et al., 2005, 2014). Dans un travail précédent, il a d'ailleurs été montré qu'une nuit de privation totale de sommeil induit une augmentation de l'expression des ARN messagers du récepteur A2A dans les leucocytes de sujets sains (Chennaoui et al., 2017).

Des études ont montré l'influence du rs5751876 d'ADORA2A sur l'effet éveillant de la caféine (Rétey et al., 2007 ; Byrne et al., 2012) avec une augmentation de la puissance spectrale dans la bande de fréquence bêta chez les porteurs du génotype C/C (qui restent donc plus éveillés) par rapport aux porteurs du génotype T/T lors d'une nuit de récupération après une privation de sommeil (Rétey et al., 2007). Les C/C sont donc plus sensibles à la caféine. Les résultats de notre étude montrent que les porteurs du génotype C/C du rs5751876 semblent avoir un risque accru de troubles du sommeil

d'environ 8% et d'insomnie de 4,9 %. De plus, Bodenmann et ses collaborateurs (2012) ont démontré que la caféine atténue le rebond des ondes lentes de l'EEG pendant la nuit de récupération après privation de sommeil uniquement chez les porteurs « non-HT4 », porteurs plutôt de l'allèle C, donc plus sensibles à la caféine. Dans notre étude, les haplotypes considérés comme insensibles à la caféine sont ceux portant les allèles T du rs5751876 et rs3761422 et C du rs4822492 et rs2298383. Ceci confirme que les porteurs de l'allèle T du rs5751876 semblent moins sensibles aux effets éveillant de la caféine sur le sommeil (Rétey et al., 2007 ; Bodenman et al., 2012).

Nos résultats suggèrent que si les porteurs du génotype C/C du rs5751876 et rs3761422 consommaient de la caféine, leur temps total de sommeil rejoindrait celui des porteurs de l'allèle T. Le rs5751876 est une mutation synonyme qui ne provoque pas de modification de l'acide aminé codé et qui est situé sur la position de l'exon 4. Cette mutation synonyme ne devrait pas avoir de conséquences fonctionnelles au niveau du récepteur adénergique A2A, pensait-on dans le passé. La mutation synonyme est une mutation silencieuse uniquement présente dans les zones codantes. Or il est apparu évident depuis que les substitutions synonymes peuvent avoir des conséquences fonctionnelles en affectant plusieurs étapes de la biosynthèse protéique qui résultent dans des changements de la quantité ou de la structure de la protéine. Ces mécanismes incluent la rupture ou la création de sites d'épissage régulateurs, des altérations de la stabilité des ARN messagers, un gain ou une perte de la liaison des micro-ARN, et des modifications de l'efficacité de la traduction (Hunt et al., 2014). Les rs2298383 et rs3761422 sont localisés au niveau 5'-UTR du gène, et pour le rs4822492 au niveau 3'-UTR et sont tous en forte liaison de déséquilibre avec le rs5751876, ce qui fait qu'ils sont potentiellement fonctionnels (Markovic et al., 2009 ; Barrett et al., 2012) et impliqués dans la relation entre durée de sommeil et consommation de caféine. Les régions non-codantes 5'-UTR et 3'-UTR, les introns et les régions intergéniques sont cruciales pour la régulation précise de l'expression des gènes (Barrett et al., 2012). Différents variants 5'-UTR ont été mis en évidence dans les granulocytes humains avec un impact fonctionnel sur l'activation du récepteur A2A, qui eux-mêmes sont uprégulés par trois micro-ARN différents (Kreth et al., 2008, Heyn et al., 2012).

Dans notre étude, nous avons démontré une différence de temps total de sommeil entre les SNPs d'ADORA2A et deux haplotypes mais uniquement chez des faibles consommateurs de caféine. Or les rs2298383, rs3761422 et rs5751876 sont associés à un risque de personnalité anxieuse (Hohoff et al., 2010). Dans notre étude, le risque de troubles du sommeil et le risque d'insomnie sont plus élevés chez les T/T et G/G comparé au C/C pour les rs2298383 et rs4822492, en considérant tous les sujets. Le rs4822492 a été associé aux troubles du sommeil induits par la caféine ce qui va dans le sens de nos résultats (Byrne et al., 2012). De plus, plusieurs études ont associé l'anxiété induite par la consommation

de caféine aux polymorphismes d'ADORA2A, en particulier pour les porteurs du génotype T/T, C/C et C/C du rs5751876, rs2298383 et rs4822492 respectivement (Childs et al., 2008 ; Rogers et al., 2010) ce qui nous permet de suggérer que l'anxiété induite par la consommation de caféine peut potentiellement être impliquée dans la durée de sommeil surtout chez les porteurs de l'allèle T du rs5751876.

Nos résultats montrent aussi qu'il n'y a pas d'influence des polymorphismes d'ADORA2A sur les troubles du sommeil dans le groupe de forts consommateurs de caféine, qui sont quand même 52,5% à exprimer cette plainte. Or on sait que les polymorphismes d'ADORA1A peuvent être impliqués dans cette relation. Enfin, de multiples autres variants pourraient être impliqués comme CYP1A2, le principal système régulateur du métabolisme de la caféine, ou encore les cytokines pro-inflammatoires TNF- α et IL-6.

IV.4.c. Les polymorphismes des cytokines pro-inflammatoires

Pour les cytokines pro-inflammatoires, nous avons observé des différences sur le temps total de sommeil pour TNF- α , IL-1 β et IL-6, particulièrement chez les forts consommateurs de caféine par rapport aux faibles consommateurs. Les porteurs de l'allèle G, du génotype A/A et de l'allèle A des polymorphismes de TNF- α , IL-1 β et IL-6 respectivement, montrent un temps total de sommeil plus faible chez les forts consommateurs de caféine (>300mg) par rapport aux faibles consommateurs (0-50 mg/jour). Une tendance d'un temps total de sommeil inférieur chez les forts consommateurs par rapport aux faibles consommateurs de caféine chez les porteurs du génotype A/A du polymorphisme de TNF- α a été observé. Cependant, la faible répartition des sujets porteurs de ce génotype a potentiellement empêché d'atteindre la significativité. Le polymorphisme de TNF- α semble impliqué dans le risque de troubles du sommeil avec une augmentation du risque chez les porteurs du génotype G/A, observé chez tous les sujets et chez les forts consommateurs de caféine. Cependant, pour les polymorphismes d'IL-1 β et d'IL-6, aucune association n'a été observé sur le risque de troubles du sommeil.

Dans une revue, le polymorphisme de TNF- α a été significativement associé avec différents symptômes incluant les troubles du sommeil (Knisely et al., 2019). Peu d'études ont été réalisées chez le sujet sain, néanmoins quelques-unes ont été effectuées chez des sujets malades. Chez des patients atteints d'Alzheimer, les porteurs du génotype T/T du polymorphisme d'IL-1 β sont ceux qui ont le plus de somnolence diurne, de latence en REM et le moins de pourcentage de REM et d'ondes lentes parmi les 3 génotypes ; Par contre aucune différence significative n'a été montré chez des sujets sains (Yin et al., 2016).

Dans notre population de sujets sains, nous n'avons pas observé de différence des génotypes sur le temps total de sommeil, que ce soit pour le polymorphisme de TNF- α , d'IL-1 β ou d'IL-6, seules les différences sur la consommation de caféine étaient présentes. Par contre nous avons observé un rôle du polymorphisme de TNF- α dans le risque de troubles du sommeil qui semblait plus prononcé chez les porteurs du génotype G/A.

Les cytokines pro-inflammatoires tels que TNF- α , IL-1 β et IL-6 sont impliqués dans le sommeil (Krueger et al., 2007). En effet, ces cytokines pro-inflammatoires induisent le sommeil NREM et semblent impliquées dans des symptômes associés à la dette de sommeil comme la fatigue, la somnolence et les performances cognitives dégradées (Jewett et Krueger, 2012 ; Krueger et al., 2007 ; Satterfield et al., 2015). Le polymorphisme de TNF- α est localisé sur la région promotrice et résulte d'une substitution de guanine (G) en adénine (A). Les porteurs de l'allèle A sont associés à une augmentation de la transcription et de la production des ARN messagers de TNF- α (Kroeger et al., 1997). Satterfield et al. (2015) ont montré que le polymorphisme de TNF- α module les réponses de l'attention soutenue lors d'une privation de sommeil.

Plusieurs études ont mis en évidence le lien entre TNF- α , les troubles du sommeil et l'inflammation en pathologie (Aouizerat et al., 2009). Notre travail montre l'importance de TNF- α dans les troubles du sommeil en prenant en compte la consommation de caféine chez des sujets sains. Par ailleurs, il a été montré que la caféine à la concentration habituellement consommée diminue la production de TNF- α au niveau sanguin chez l'homme (Horrigan et al., 2004). Ceci pourrait expliquer l'augmentation du risque de troubles du sommeil chez les forts consommateurs de caféine, démontrant un lien entre les cytokines pro-inflammatoires, en particulier TNF- α , et la consommation de caféine. Malheureusement, très peu d'études concernent les polymorphismes de TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-6 chez une population saine et en prenant en compte le risque de troubles du sommeil en lien avec la consommation de caféine.

IV.4.d. Les polymorphismes des cytochromes P450

La cytochrome P4501A2 (CYP1A2) est l'une des cytochromes majeurs du foie et participe aux métabolismes des composés de plusieurs substances couramment utilisées comme la caféine. Le SNP de CYP1A1/2 semble être associé à la consommation de caféine et à la pharmacocinétique de la caféine (The Coffee and Caffeine Genetics Consortium et al., 2015, 2016 ; Sulem et al., 2011 ; McMahon et al., 2014 ; Josse et al., 2012). Pour le polymorphisme de CYP1A1/2, le rs2472297 est présent sur la région promotrice de CYP1A1 et CYP1A2. Dans une étude de Nordestgaard et Nordestgaard (2016), d'autre SNP de CYP1A2 a été associé à une augmentation de 42% de la consommation de café. Pour le

polymorphisme de CYP1A2 (rs2472297), les porteurs de l'allèle C semblent moins consommer de café alors qu'à l'inverse, les porteurs de l'allèle T semblent être associés à une forte consommation de café (Cornelis et al., 2016 ; Sulem et al., 2011 ; Josse et al., 2012). Les forts consommateurs de café vont avoir une activité de CYP1A2 plus élevée par rapport aux faibles consommateurs de caféine. Les porteurs de la mutation ont probablement une consommation plus élevée de café du fait d'une clairance de la caféine plus élevée due à l'activité enzymatique augmentée (Sulem et al., 2011). De plus, la caféine plasmatique était plus élevée et le ratio para-xanthine/caféine plus faible reflétant potentiellement une plus lente métabolisation du café pour les polymorphismes de CYP1A2 (Cornelis et al., 2016).

Dans notre étude, nous n'observons pas d'effet des polymorphismes de CYP1A2 et de CYP1A1/2 sur le temps total de sommeil mais un effet de la consommation de la caféine. Nous observons un temps total de sommeil chez les forts consommateurs de caféine inférieur pour les porteurs du génotype C/C et de l'allèle A des polymorphismes de CYP1A1/2 et CYP1A2 respectivement. Cette durée diminuée de sommeil peut être expliquée par ces génotypes impliqués dans la métabolisation lente de la caféine comme proposé par d'autres études (Cornelis et al., 2016 ; Sulem et al., 2011 ; Nehlig et al., 2018).

Nos résultats montrent également que le risque d'insomnie chez tous les groupes de consommateurs et chez les porteurs du génotype T/T du polymorphisme de CYP1A1/2 est supérieur par rapport aux porteurs du génotype ancestral C/C. Cependant, la population d'insomniaques étant faible, cela ne nous a pas permis d'évaluer le risque d'insomnie en fonction des groupes de consommation de caféine. Nous pouvons supposer que les porteurs du génotype T/T vont être plus vulnérables aux effets de la caféine induisant l'insomnie, alors que l'effet sur le temps total de sommeil, qui est inférieur chez les forts par rapport aux faibles consommateurs de caféine et uniquement chez les porteurs du génotype C/C, peut être expliqué par une faible proportion de sujets dans les deux autres génotypes.

IV.4.e. Les polymorphismes du système adénoenergique (ADA), catécholaminergique (COMT) et du facteur neurotrophique (BDNF)

Pour les polymorphismes ADA et COMT, les forts consommateurs de caféine ont généralement un temps total de sommeil plus faible que les faibles consommateurs, notamment pour les porteurs du génotype C/C d'ADA. Nous savons que le variant génétique de l'adénosine désaminase (ADA) est associé à une diminution du métabolisme de l'adénosine en inosine. Le polymorphisme d'ADA G22A (rs73598374) est particulièrement impliqué dans la variabilité interindividuelle à l'intensité du sommeil, aux réponses à la dette de sommeil et à l'effet de la caféine sur le sommeil (Rétey et al., 2005 ; Bachmann et al., 2012a ; Mazzotti et al., 2011, 2012). Mazzotti et al. (2011) ont particulièrement étudié l'influence du polymorphisme d'ADA en fonction de la consommation habituelle de caféine sur les caractéristiques du

sommeil sur une large population d'individu (N=958). Leurs résultats ne montrent pas d'association entre les troubles du sommeil et le polymorphisme d'ADA. Leur étude montre un effet du polymorphisme d'ADA sur l'efficacité du sommeil et le REM uniquement chez les consommateurs de caféine : les porteurs de l'allèle A montrent un pourcentage d'efficacité du sommeil et de REM supérieurs aux porteurs du génotype ancestral G/G chez les consommateurs de caféine (>1 tasse/jour) et après ajustement des données (âge, sexe, ethnicité) (Mazzotti et al., 2011). Dans notre étude, le polymorphisme d'ADA ne semble pas influencer les troubles du sommeil.

Le SNP de COMT code pour une enzyme qui est responsable du métabolisme de plusieurs neurotransmetteurs comme la noradrénaline et la dopamine. Ce variant faux sens est modifié par la transition de guanine (G) en adénine (A) à la position 158 de COMT résultant d'une substitution de valine (Val) en méthionine (Met). Cette mutation va altérer la structure de l'enzyme COMT et réduire son activité entraînant un taux plus fort de dopamine (Stein et al., 2006). Les porteurs du génotype Val/Val montrent une plus grande activité de COMT et un signal dopaminergique dans le cortex préfrontal plus faible que les Met/Met (Bodenmann et al., 2009a). Cette modulation de l'activité pourrait jouer sur les fonctions cognitives mais également la régulation du cycle veille/sommeil, l'EEG du sommeil et potentiellement les pathologies du sommeil (Satterfield et al., 2018 ; Dauvilliers et al., 2015 ; Goel et al., 2011 ; Valomon et al., 2018). Cependant, nos résultats montrent seulement une différence entre les groupes de consommateurs de caféine sur le temps total de sommeil, sans aucune influence du polymorphisme de COMT. Comme l'enzyme COMT inactive les catécholamines, Dauvilliers et al. (2015) ont émis l'hypothèse que le génotype de COMT pourrait moduler le sommeil et les performances cognitives après une prise de substance éveillante tel que le modafinil (Bodenmann et al., 2010). Cependant, nos résultats ne montrent pas d'interaction entre le polymorphisme de COMT avec le temps total de sommeil et les troubles du sommeil. Ces résultats vont dans le sens de l'étude de Jawinski et al. (2016) qui n'observent aucune influence du polymorphisme de COMT sur les préférences circadiennes, la régulation du cycle veille/sommeil ou sur le sommeil. Il serait intéressant d'évaluer l'influence d'autres polymorphismes en lien avec les catécholamines comme DAT1, le transporteur de la dopamine (Holst et al., 2017) mais aussi l'influence du polymorphisme de COMT sur l'efficacité de la caféine.

Le facteur de croissance de la famille des neurotrophines (BDNF) est impliqué dans la neuroplasticité et la régulation de transmission synaptique. Il module l'activité de la sérotonine, la dopamine et le glutamate, des neurotransmetteurs impliqués dans le circuit des émotions, et va jouer un rôle dans l'apprentissage et la mémoire, la protection des neurones contre l'oxydation et la stimulation de la neurogénèse (Numakawa et al., 2010). Son polymorphisme est un variant faux sens résultant en une substitution de l'acide aminé valine (Val) en méthionine (Met) au codon 66 qui va

dégrader la sécrétion de BDNF dans le système nerveux. Il est principalement associé à la dépression, la modulation de l'EEG pendant le sommeil, à la dégradation des performances cognitives pendant une privation de sommeil, aux troubles du sommeil et à la consommation de caféine (Zaki et al., 2018 ; Bachmann et al., 2012b ; Knisely et al., 2019 ; The Coffee and Caffeine Genetics Consortium et al., 2015 ; Grant et al., 2018).

Dans notre étude, nous avons observé que les porteurs de l'allèle C du polymorphisme de BDNF avaient un temps total de sommeil chez les forts consommateurs plus faible que chez les faibles consommateurs de caféine. Aucun effet du polymorphisme BDNF n'a été observé sur la variation du temps totale de sommeil comme dans l'étude de Guindalini et al. (2014), avec seulement une différence dans la modulation de la puissance EEG pendant le sommeil. Dans notre étude, le polymorphisme de BDNF semble associé aux risques de trouble du sommeil. Chez les consommateurs modérés de caféine, les porteurs du génotype T/T ont un risque de troubles du sommeil supérieur par rapport aux porteurs du génotypes ancestral C/C. Le polymorphisme de BDNF a été significativement associé avec les troubles du sommeil en pathologie (Knisely et al., 2019). Zaki et ses collaborateurs ont observé une prévalence plus élevée pour les porteurs du génotype G/A (Val/Met) du polymorphisme de BDNF chez les insomniaques, ce qui correspond aux génotype C/T de notre étude. La mutation du polymorphisme de BDNF semble donc être corrélée avec les troubles du sommeil (Zaki et al., 2018). Cette mutation semble dégrader l'activité neuronale dépendante de la sécrétion de BDNF (Egan et al., 2003). Cependant peu d'études ont investigué le lien entre BDNF et consommation de caféine (The Coffee and Caffeine Genetics Consortium et al., 2015).

IV.4.f. Le polymorphisme de PER3

PER3 est un gène « clock » qui code les protéines pour l'inhibition de la transcription du gène régulateur circadien et il est fortement exprimé dans le noyau suprachiasmatique (SCN) de l'hypothalamus, l'hippocampe, le cortex pyriforme et le cervelet (Johansson et al., 2003). Il est connu que PER3 est un gène circadien qui est fortement associé à la préférence diurne, au retard de phase, au profil libre-cours, à l'anxiété et à la dépression (Lieberman et al., 2018 ; Shi et al., 2016 ; Hida et al., 2014 ; Archer et al., 2017 ; Turco et al., 2017). Dans notre étude, le polymorphisme de PER3 module le temps total de sommeil chez tous les groupes de consommateurs de caféine. Chez les porteurs du génotype C/C (>300mg), les forts consommateurs avaient un temps total de sommeil inférieur par rapport aux faibles consommateurs de caféine. De plus, les porteurs du génotype C/G ont un risque plus élevé de troubles du sommeil par rapport aux porteurs du génotype ancestral C/C chez les faibles consommateurs notamment, supposant une moins bonne qualité de sommeil chez les porteurs du génotype C/G. Alors que chez les forts consommateurs de caféine, le risque de troubles du sommeil est

inférieur par rapport aux porteurs du génotype ancestral C/C, supposant une résistance aux troubles du sommeil induits par la consommation de caféine.

De plus, on observe un risque plus élevé d'insomnie chez les porteurs du génotype C/G par rapport aux porteurs du génotype ancestral C/C, chez tous les sujets. Dans la littérature, les porteurs du génotype G/G sont associés à une plus forte anxiété, à un chronotype du soir, et à un profil en libre cours (Liberman et al., 2018 ; Hida et al., 2014). L'étude de Turco et al. (2017) montre que les porteurs de l'allèle G semblent associés à des réveils précoces, moins de temps total de sommeil et une qualité de sommeil plus mauvaise. Ces données confirment en partie nos résultats : les porteurs du génotype C/G ont des risques de troubles du sommeil et d'insomnie plus élevés, en particulier chez les faibles consommateurs de caféine.

Le SNP rs228697 (C/G) correspond au SNP sur l'exon 17 du gène PER3 et induit une substitution d'acides aminés proline (P) en alanine (A) (P864A) (Ebisawa et al., 2001). Cette substitution pourrait altérer la structure secondaire et/ou le statut de phosphorylation de PER3 entraînant une dérégulation homéostatique du sommeil et du système de l'horloge circadien (Hida et al., 2014). Cette répression entraînerait une diminution de PER3 ce qui pourrait entraîner une dérégulation du sommeil et ainsi des troubles du sommeil. Peu d'articles ont étudié l'influence du polymorphisme de PER3 sur le temps total de sommeil et les troubles du sommeil en fonction de la consommation de caféine. Cependant, Gamble et al. (2011) ont montré que le polymorphisme de PER3 était associé à une augmentation de la consommation de caféine chez les infirmières travaillant de nuit. Dans notre étude, les porteurs du génotype C/C (comparé aux porteurs du génotype C/G) ont un temps total de sommeil inférieur chez les forts consommateurs de caféine et leur risque de troubles du sommeil est supérieur, supposant une sensibilité accrue à la caféine chez les des porteurs du génotype C/C.

IV.4.g. Limites de l'étude

Notre étude présente plusieurs limites. Les données analysées sont subjectives (questionnaire), ce qui peut influencer les résultats (Lauderdale et al., 2008). Il serait donc intéressant d'étudier objectivement les caractéristiques du sommeil avec l'utilisation de la PSG ou de l'actimétrie sur une grande population, bien que ces méthodes restent difficilement applicables sur 1023 participants. De plus, bien que notre population soit similaire à la base de données 1000 Génomes, la répartition génétique pour certains polymorphismes était très faible (i.e. n=12 A/A pour le polymorphisme de TNF- α) même si notre population est élevée et homogène (population européenne). Cette répartition a probablement influencé, voir limité l'analyse de l'impact génétique sur le temps total de sommeil, les risques de troubles du sommeil, mais aussi le risque d'insomnie. Nous n'avons que 10,7% de la

population qui présentait de l'insomnie, ce qui n'a pas permis de prendre en compte les trois groupes de consommation de caféine. De plus, nos données sur la consommation de caféine étant elles aussi subjectives (via les données d'un questionnaire), la quantité réelle de caféine consommée pourrait donc légèrement différer de la quantité rapportée.

IV.4.h. Conclusion et perspectives

En conclusion, notre étude, sur une population européenne active (N=1023), a montré les liens entre plusieurs polymorphismes génétiques, le sommeil (temps total de sommeil et les troubles du sommeil) et la consommation habituelle de caféine, plus particulièrement pour ADORA2A (quatre SNPs dont le rs5751876), TNF- α , CYP1A2, PER3 et BDNF. Il est connu que les polymorphismes d'ADORA2A sont associés aux effets de la caféine sur le sommeil, et notre étude apporte notamment un regard nouveau sur le polymorphisme de TNF- α et les troubles du sommeil.

À la suite de cette étude, il pourrait être pertinent d'étudier s'il existe un ou plusieurs polymorphismes impliqués dans le temps total de sommeil, plus particulièrement chez les longs dormeurs (temps total de sommeil > 8h) et les courts dormeurs (temps total de sommeil < 6h). Une étude épidémiologique récente a montré que 35,9% d'une population d'adultes (n=12,367) était considérée comme des courts dormeurs (Léger et al. 2020).

Il serait également intéressant d'évaluer l'influence des polymorphismes notamment TNF- α , ADORA2A, PER3 et COMT sur la variabilité interindividuelle des réponses cognitives à la dette chronique de sommeil, plus représentative des situations opérationnelles militaires. L'étude du polymorphisme d'ADA reste également intéressante dans ces situations de dette de sommeil, car les données de la littérature indiquent son influence sur le sommeil et les effets de la caféine mais aussi les réponses cognitives à la dette de sommeil (Bachmann et al., 2012a).

L'étude de l'influence de polymorphismes génétiques sur les performances physiques au regard de la consommation/administration de caféine en situation de privation de sommeil pourraient également apporter des informations complémentaires à cette première étude.

V. Etude n°2 : Polymorphismes génétiques et efficacité de la caféine sur les performances au cours de la privation totale de sommeil, chez le sujet sain ». Etude contrôlée versus placebo, en cross over, randomisée et en double aveugle

V.1. Objectifs de l'étude

L'objectif global de cette étude est d'évaluer l'influence de cinq polymorphismes génétiques (TNF- α , ADORA2A, ADA, COMT et PER3) sur l'efficacité de la caféine à prévenir la dégradation des performances cognitives, physiques et psychomotrices au cours d'une privation totale de sommeil. Les critères principaux de jugement seront la vitesse moyenne de réaction et le nombre de lapses au test de vigilance psychomotrice PVT (Psychomotor vigilance task) car ce test est considéré comme le témoin le plus sensible de la dégradation des performances pendant la privation totale de sommeil (Dorrian et al., 2007, Basner et Dinges, 2011 ; Lim et Dinges, 2008). Les critères secondaires seront l'évaluation des performances physiques, des performances de conduite et de tir ainsi que la tolérance à la caféine et les caractéristiques du sommeil. L'évaluation de ces multiples paramètres va permettre d'avoir une vision globale et intégrée de l'influence de ces 5 polymorphismes génétiques et des effets de la caféine en réponse à une privation de sommeil chez le sujet sain.

V.2. Matériels et méthodes

V.2.a. Les participants

Quarante-deux sujets âgés en moyenne de 33.2 ± 0.9 ont été inclus dans l'étude. Tous les participants ont donné leur consentement écrit après avoir été informés du protocole. L'étude a reçu l'accord du Comité d'éthique Cochin - CPP Ile de France IV (Paris) et de l'Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM) (Ile de France IV), et a été menée selon les principes exprimés dans la Déclaration d'Helsinki de 1975, révisée en 2001. Avant le début de l'expérience, chaque volontaire a été reçu individuellement par le médecin investigateur qui s'est assuré que les critères d'inclusion et d'exclusion étaient respectés. Pour cela, des questionnaires, un interrogatoire et un examen clinique ont été effectués. Les sujets étaient exclus s'ils présentaient l'un des critères suivants : un âge de moins de 18 ans et de plus de 55 ans, un IMC supérieur à 30 kg.m^{-2} , du travail de nuit, en horaires décalés ou ayant un décalage horaire (> 3 fuseaux) dans le mois précédent, des troubles

médicaux, psychiatriques ou de sommeil et une consommation de substances illicites ou abusives autres que café, tabac et alcool.

V.2.b. Le protocole expérimental

Les sujets ont participé à deux conditions expérimentales randomisées, en cross over, versus placebo et en double aveugle : La **condition caféine** (CAF), avec une prise de caféine de 2,5 mg par kg de masse corporelle par dose, et la **condition placebo** (PBO) avec prise de boisson décaféinée au cours de l'expérimentation. Dans chaque condition expérimentale, les sujets ont participé à une période en laboratoire de 3 jours. Une période de wash-out entre les deux conditions expérimentales était de minimum 2 semaines (Figure 27)

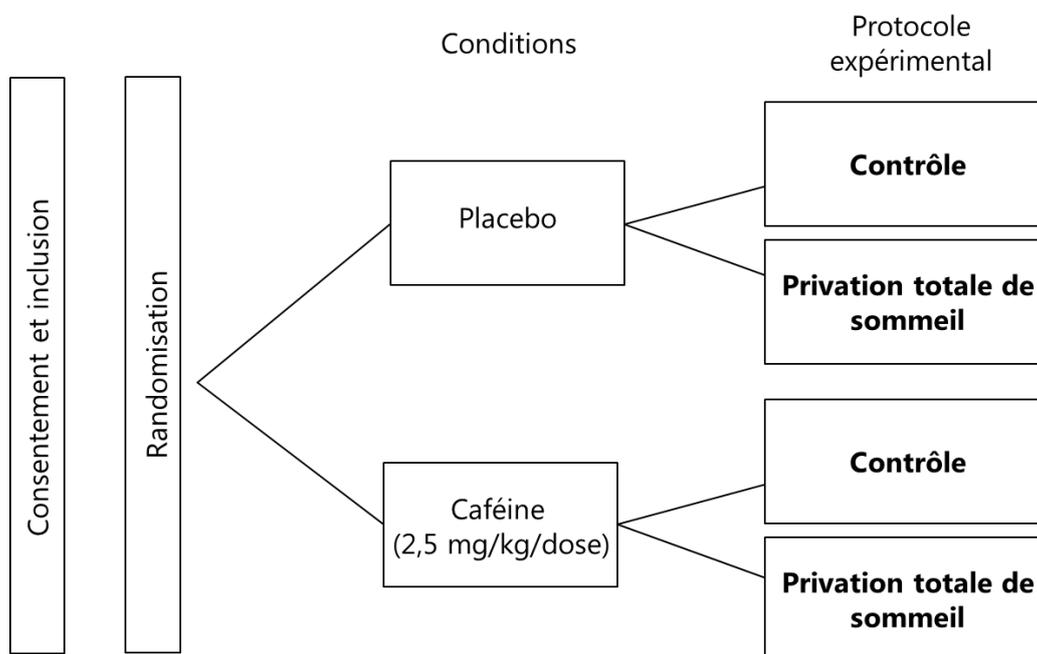


Figure 27. Schéma du déroulement de l'étude

Une semaine avant leur arrivée au laboratoire et avant le début de l'expérimentation, les participants ont rempli un agenda du sommeil. Le protocole expérimental se déroule en plusieurs jours : (i) un jour d'habitation (D0), (ii) un jour contrôle (J1) de 07 :15 à 00 :00, (iii) un jour d'éveil continu (J2), comprenant une privation totale de sommeil de 00 :00 à 21 :00 (38 heures d'éveil continu), et (iv) d'une nuit de récupération jusqu'à 09 :00 du matin (D3). Durant cette expérimentation de multiples tests sont réalisés (Figure 28).

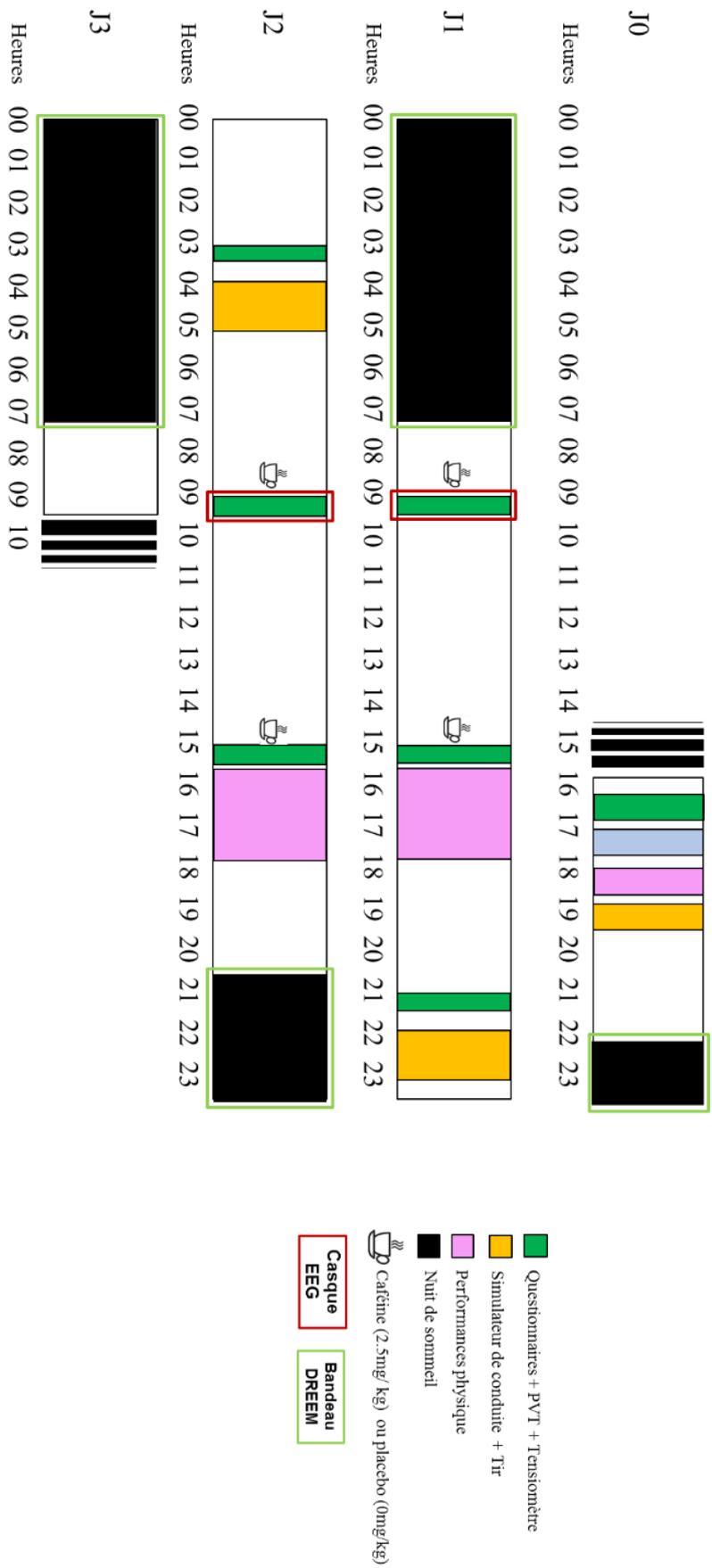


Figure 28. Schéma du déroulement d'une session d'expérimentation

V.2.c. Condition expérimentale en laboratoire

L'expérimentation s'est déroulée dans le laboratoire de sommeil à l'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA). Les sujets étaient dans des chambres interindividuelles comprenant un lit et un poste de travail informatique. La température était maintenue à 22°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) avec un environnement lumineux à 150-200 lux pendant les périodes de tests et de maintien d'éveil (la lumière était éteinte pendant la période de sommeil). Les sujets avaient l'autorisation, hors période de test, de repas ou de nuit de sommeil, de participer à un programme d'activité standardisé : discuter entre eux ou avec les expérimentateurs, jouer à des jeux de société, lire, regarder la télévision, se promener. Les repas étaient également encadrés avec un apport calorique ne dépassant pas les 2600 kcal/jour. Les sujets avaient pour interdiction d'effectuer de l'activité physique, de consommer du café, tabac, alcool et autre substance psychoactive pendant l'expérimentation. Pour le bon déroulement de l'étude, deux expérimentateurs étaient toujours présents pour encadrer et surveiller les sujets. Si un sujet venait à s'endormir, il était directement et tranquillement réveillé par les expérimentateurs présents.

V.2.d. Evaluation de l'attention soutenue

Le critère de jugement principal de cette étude est l'attention soutenue évaluée par le test de vigilance psychomotrice (PVT). Notre équipe utilise une version informatisée de 10 min du PVT (Khitrov et al. 2014). Durant cette tâche, le sujet reçoit comme consigne de répondre le plus rapidement possible avec le bouton gauche de la souris lorsque le stimulus apparaît à l'écran, ici un compteur de 4 chiffres qui défile (en ms). Les stimuli visuels apparaissent de manière aléatoire avec une durée inter-stimulus comprise entre 2 et 10 sec. Les réponses au PVT étaient considérées comme valides si le temps de réaction était supérieur ou égal à 100ms. Le PVT était exprimé en temps de réaction (RT en ms). La vitesse de réaction ($1/\text{RT} \times 1000$) et les lapses ($\text{RT} > 500\text{ms}$) sont calculées pour chaque stimulus. Ces deux paramètres sont considérés comme les marqueurs les plus sensibles de la dégradation des performances au cours de la privation totale de sommeil (Basner et Dinges, 2011). Ce test est effectué en cinétique toutes les 6 heures à 09 :15, 15 :15, 21 :15 à J1 et 03 :15, 09 :15 et 15 :15 à J2.

V.2.e. Evaluation de l'EEG pendant le PVT

Procédure de l'EEG : Au cours du test décrit précédemment (PVT), l'activité électrique cérébrale a été enregistrée avec le système SIESTA 802 (Compumedics limited, Victoria, Australie) sur 19 sites du cuir chevelu selon le système international 10-20 (Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8, T7, C3, Cz, C4, T8, P7, P3, Pz, P4, P8, O1, O2) à l'aide d'un casque (modèle Quick-Cap®, Model C190). Ce casque a été préalablement « dégraissé » avec une pâte abrasive (NUPREP, Weaver and Company 565 NuclaWay, Unit

B, Aurora, CO 80011-9319 USA avec un marquage CE). Les électrodes ont été interfacées avec le cuir chevelu du sujet en utilisant un gel conducteur EC2 (Pâte conductrice ELECTROGEL, Grass Technologies, Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, USA avec marquage CE) injecté à l'aide d'une seringue à bout mousse dans chaque électrode pour assurer la conduction. L'EEG a été enregistré en continu à une fréquence d'échantillonnage de 512 Hz et référencé avec une moyenne commune. Les impédances ont été maintenues en dessous de 10kOhm pendant toute la session de tests. Le casque était installé environ 20-30 min avant le PVT. Ces enregistrements ont été effectués en continu et ont permis d'évaluer le niveau d'activation cérébrale et les zones activées au cours du test.

Analyse EEG : Les données EEG ont été analysées dans Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA) avec la boîte à outils Fieldtrip (Oostenveld et al., 2011) et des codes personnalisés. Les données ont été filtrées par un coupe bande entre 48-52 Hz pour éliminer le bruit électrique, filtrées par un passe-haut au-dessus de 0,1 Hz et retirées localement. Les artefacts de clignements d'yeux ont été supprimés en utilisant une analyse de composants indépendants (ICA, Fieldtrip), et les artefacts de mouvement ont été supprimés par vérification visuelle. Les électrodes défectueuses ont été systématiquement rejetées et si plus de 3 électrodes (sur 19) ont été retirées, le sujet était exclu de l'analyse EEG. Les puissances thêta (4-8 Hz) et alpha (8-13 Hz) de l'EEG ont été évaluées en utilisant une transformée en ondelettes de Morlet continue. Les régions d'intérêt (ROI) représentent la moyenne de la puissance thêta de la moyenne (de tous les sujets) sur la zone frontale (Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4 et F8) et centro-temporale (T7, C3, Cz, C4 et T8).

V.2.f. Evaluation des performances physiques

La performance est évaluée par une épreuve de détente verticale et une épreuve de charge vitesse. Ces épreuves se déroulent entre 16 :00 et 17 :55 à J1 et J2. Pendant toutes les épreuves d'efforts les participants étaient libres de boire de l'eau quand ils en sentaient le besoin.

L'évaluation de la détente verticale consiste à mesurer le temps de suspension, la hauteur ainsi que la puissance des membres inférieurs lors d'un saut. A l'arrivée des sujets, ces derniers sont équipés d'une ceinture de cardio fréquencemètre thoracique permettant le suivi cardiaque pendant les périodes d'efforts et la récupération. Deux types de détente verticale sont réalisées par les sujets et reproduits trois fois : la détente verticale en contre-mouvement (CMJ) et la détente verticale en squat (SJ). Pour les deux, les sujets commencent en position verticale, les mains placées sur leur hanche durant tout le mouvement de saut avec pour consigne de sauter le plus haut possible. Tous les sujets ont reçu les mêmes commandes verbales. Les sujets devaient conserver les jambes droites pendant la phase de vol des deux types de détentes verticales. Un intervalle de repos d'environ 30 sec a été donné entre chaque essai de saut (3 sauts au total pour chacun). Pour le CMJ, les sujets portaient jambes droites et

pouvaient, au moment du saut, descendre en demi-squat et sauter immédiatement le plus haut possible (flexion préalable). Ce test va permettre d'effectuer un test pliométrique. Pour le SJ, les participants ont reçu l'ordre de se mettre dans la position demi-accroupie avec 3 secondes de stabilisation avant de sauter le plus haut possible (Wadhi et al., 2018). Ce saut va permettre de mesurer la détente « sèche », non pliométrique, sans étirement. Le matériel utilisé pour évaluer la hauteur et le temps de suspension de la détente verticale était l'OptoJump (ancienne version de Microgate). Nous avons évalué le temps de suspension, la hauteur de la détente verticale, la puissance musculaire des membres inférieurs. La puissance est calculée de la manière suivante : Puissance = $(62,5 \times \text{hauteur (cm)}) + (50,3 \times \text{poids de corps(kg)}) - 2184,7$ (exprimée en Watt) (Lara et al., 2006).

Pour ces tests CMJ et SJ, les paramètres suivants ont été mesurés : la durée, la hauteur et la puissance de la détente verticale en prenant en compte les trois essais.

L'épreuve de charge vitesse est réalisée sur un ergocycle à la suite de l'évaluation de la détente verticale. Elle permet d'évaluer la puissance maximale anaérobie. Elle consiste en la réalisation de sprints maximaux de 10 secondes, à la vitesse la plus élevée possible contre différentes forces de freinage (F) croissantes. Le sujet démarre, dans un premier temps, avec 5 min d'échauffement, comprenant un pédalage modérément intense associé à trois sprints de 3 sec espacés de 1 min, sans charge. Après l'échauffement, le sujet avait 5 min de repos. Au commencement de l'épreuve, le sujet s'installait sur l'ergocycle et avait pour consigne de pédaler le plus vite possible pendant 10 sec, avec une première force de freinage utilisée. Après 5 min de récupération assise, le même exercice recommençait avec une force de freinage augmentée. Les participants devaient effectuer un total de 5 sprints afin d'obtenir la valeur du pic de vitesse. Pendant les sprints sur ergocycle, l'expérimentateur encourage les sujets. La relation est la suivante : $V = V_0(1 - F/F_0)$ avec V_0 l'intersection de la droite de régression avec l'axe des vitesses et F_0 l'intersection avec l'axe des forces de freinage. La puissance maximale (W_{max} est égale à $0,25 V_0.F_0$ (Vanderwalle et al., 1983) (Figure 29). L'ergomètre utilisé est le Monark 894E (matsport) spécialisé dans les tests d'anaérobie. Il utilise un software permettant l'obtention ainsi que l'enregistrement des données.

Pour ce test, les paramètres suivants ont été évalués : V_0 , F_0 , P_{max} .

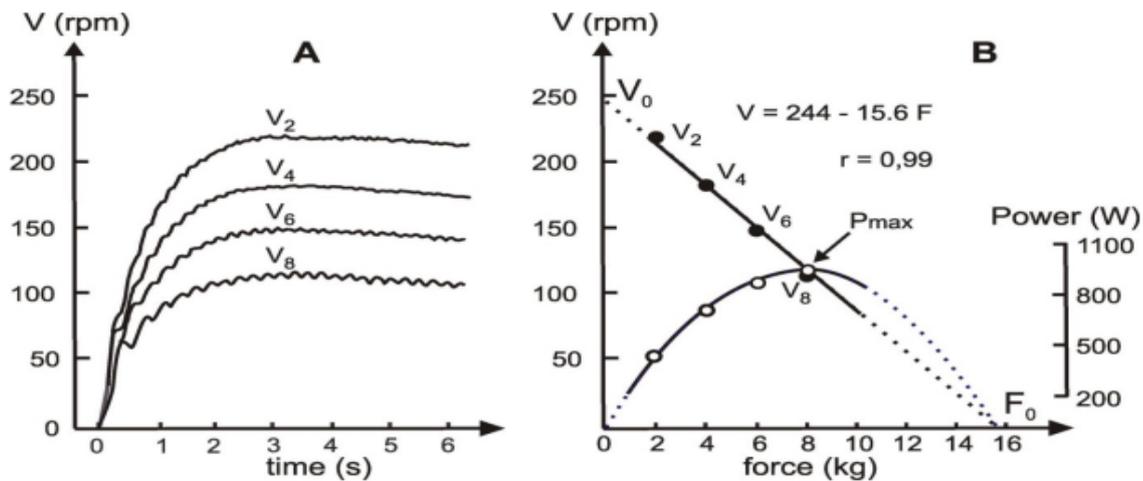


Figure 29. Détermination de la relation force-vitesse lors des exercices de pédalage. A étant les pics de vitesse enregistrés lors de sprints avec différentes charges ; B étant la relation entre les pics de vitesse et les forces de freinage correspondantes (Driss et Vandewalle, 2013)

V.2.g. Evaluation de la conduite

La performance de conduite simulée a été réalisée avec le simulateur VIGISIM (INRETS-MSIS SIM2) pendant 45 min à 22 :00 (J1) et 04 :00 (J2). Le sujet est assis avec devant lui un volant, permettant de contrôler le véhicule, et un ordinateur contenant un logiciel de simulation de conduite. L'environnement du test représente l'avant de la voiture ainsi qu'une route à 2 voies, sans circulation, avec quelques virages. Le sujet a pour consigne de maintenir la voiture le plus au centre possible de la route (entre deux lignes blanches). La vitesse du véhicule est fixée à 110 km/h. La position du véhicule était enregistrée en continu comptabilisant le nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales et la déviation standard de la position (Davenne et al., 2012).

Pour ce test, le nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales et la déviation standard de la position étaient mesurés.

V.2.h. Evaluation du tir

L'évaluation du tir a été évaluée par des tirs à la carabine Biathlon laser iXtense S (Kiwi précision, France avec conformité CE à la norme NF EN 60851-2) sur des cibles laser de biathlon éclairé. Elle est effectuée à 23 :00 (J1) et 05 :00 (J2) après la conduite sur simulateur. Les sujets étaient couchés sur un tapis de sol. Chaque participant avait sa cible située à 10 mètres en face de lui. Chaque cible comprenait un total de 5 tirs. Lorsque la cible est touchée, celle-ci s'éclaire en blanc. Le tireur a 5 cibles devant lui et 5 tirs possibles. Il a 15 secondes pour tirer. Quatre séries (20 tirs au total) sont réalisées ainsi qu'une série d'entraînement au préalable (5 tirs). On comptabilise le nombre total de cibles éteintes (sur 20).

Pour ce test, le nombre de cibles touchées sur un total de 20 tirs possibles a été mesuré.

V.2.i. Evaluation subjective par questionnaires

Deux questionnaires informatisés étaient renseignés avant chaque test de PVT en cinétique toutes les 6 heures : l'échelle visuelle analogique (EVA) et l'échelle de somnolence de Karolinska (KSS).

L'**EVA** se présente sous forme de règle de 100 mm présentée horizontalement. Cette échelle a été utilisée pour évaluer les événements indésirables, en plus de ceux signalés spontanément. Elle a permis au sujet d'évaluer 4 symptômes potentiellement associés à la consommation de caféine (Hammond et al., 2018) : les maux de tête, les nausées, des douleurs abdominales, et la fatigue. Les sujets devaient répondre en plaçant le curseur sur la ligne à l'endroit qui lui semblait refléter au mieux son état actuel, chaque ligne représentant un aspect d'effet indésirable décrit dans la question « vous sentez vous nauséeux ? ». Sur chaque extrémité de la ligne se trouvent les termes « pas du tout » et « beaucoup ».

Le **KSS** évalue le niveau subjectif de somnolence du sujet de 1 à 9, 1 étant pour « très vigilant » et 9 pour « extrêmement fatigué, difficulté à se maintenir éveillé, lutte contre le sommeil » (Åkerstedt et al., 2014). Cette échelle permettait au sujet de sélectionner une réponse parmi neuf possibilités.

V.2.j. Evaluation des réponses cardiovasculaires

La pression artérielle et la fréquence cardiaque ont été évaluées par automesure avec un tensiomètre automatique (M10-IT, HEM-7080IT-E, OMRON) (Topouchian et al., 2011). Trois mesures ont été réalisées avec un intervalle de 30 secondes entre chaque mesure. La moyenne de ces prises était affichée sur le tensiomètre et relevée par le sujet sur un cahier. Les mesures effectuées étaient la fréquence cardiaque (pulse/min), la systolique et la diastolique (mmHg). Les sujets effectuaient cette mesure après chaque PVT (toutes les 6 heures) dans le calme.

V.2.k. Evaluation du sommeil nocturne

A leur arrivée (D0), les sujets ont porté un bandeau Dreem® durant leur nuit de sommeil ou privation. C'est un dispositif d'enregistrement sans fil du signal EEG, comprenant 5 électrodes sèches de nano-carbone (Fpz, Fp1, Fp2, M1 et M2). Ces cinq électrodes constituent des dérivations : Fp1-M1, Fp2-M2, Fp1-Fpz, Fp1-Fp2. Le signal EEG issu du bandeau est échantillonné à 250 Hz et filtré entre 0.4 et 18Hz. Le bandeau est également composé d'un accéléromètre ainsi que de deux capteurs de fréquence cardiaque et respiratoire. Le bandeau a été utilisé seulement pour la lecture EEG sans stimulations. Les sujets le portaient au moment d'aller se coucher et il leur était retiré dès leur réveil. Pour la nuit de

privation, les sujets le portaient de 21 :45 à 07 :15 entre J1 et J2. Ce bandeau est activé grâce à l'application Dreem® utilisée sur des tablettes au sein du laboratoire.

Pour le sommeil, nous avons évalué les paramètres suivants : le temps total de sommeil, le temps d'éveil après endormissement, l'index d'efficacité, la latence d'endormissement, le temps passé en stade 1, en stade 2, en stade 3 et en REM.

V.2.l. Administration de la caféine

L'alicament utilisé dans cette étude est la caféine qui a été administrée sous forme de poudre. Celle-ci a été conditionnée en sachet contenant 200 mg de caféine et 800 mg de maltodextrine (Myprotein, House, Gadbrook Park, Gadbrook Way, Rudheath, Northwich, Cheshire, CW9 7RA, England). Cette entreprise a un label 5 étoiles de l'Agence de sécurité sanitaire anglaise (FSA). Le produit respecte la norme ISO17025 qui régit l'étalonnage des appareils de laboratoire et de mesure et garantit la quantité de caféine contenue dans le sachet. La caféine ou le placebo ont été administrés dans une boisson décaféinée (Nespresso Volluto decafeinato intensité 4 pour la condition caféine et Nespresso Ristretto decafeinato intensité 10 pour la condition placebo). 2,5 mg/kg de caféine ont été dissous dans 50 ml de boisson décaféinée et administrés à 08 :30 et 14 :30 à J1 et J2, soit au total, 5mg/kg/jour en 2 administrations par jour. Les boissons sont toujours consommées 45 minutes avant le PVT.

Les boissons étaient préparées dans une autre salle par un expérimentateur attitré et servies dans des gobelets en carton fermés, contenant uniquement le N° du sujet et l'heure d'administration. Afin de préserver le double aveugle, aucun autre expérimentateur n'a été informé de la condition des sujets ou du contenant. Les boissons seront préparées 1 heure au maximum avant leur administration. (McLellan et al., 2016). Lors de la consommation de la boisson, un expérimentateur restait toujours pour vérifier que chaque sujet buvait sa boisson sans échanger avec les autres et la finissaient entièrement.

V.2.m. Génétique

Le génotypage des rs5751876 d'ADORA2A, rs1800629 de TNF- α , rs73598374 d'ADA, rs4680 de COMT et rs228697 de PER3 a été effectué sur des cellule sanguines en utilisant la méthode LAMP-MC (Drogou et al., 2020). Cette méthode a été appliquée à des matrices biologiques complexes, telles que le sang total et la salive, sans extraction préalable de l'ADN. Les échantillons de cellules sanguines ont été collectés sur EDTA et ont été aliquotés dans des microtubes stériles et stockés à -20°C jusqu'à l'analyse LAMP-MC. Les essais de génotypage avec la méthode LAMP-MC ont été réalisés en utilisant le kit Combo Human Sleep Deprivation personnalisé (Cat#LCSDC-LP-24, LaCAR MDX, Liège, Belgique).

Des contrôles positif et négatif ont été fournis pour chaque SNP. La technique LAMP-MC consistait en une lyse des cellules suivie d'une amplification de la séquence cible à une température constante autour de 65°C en utilisant simultanément trois couples d'amorces, une polymérase avec une activité de déplacement de brin élevée, en plus d'une activité de réplication, et une sonde marquée au fluorophore. La détection des génotypes homozygotes ancestraux, hétérozygotes et homozygotes mutés est effectuée par analyse de la courbe de fusion après amplification (Figure 30) (Drogou et al., 2020).

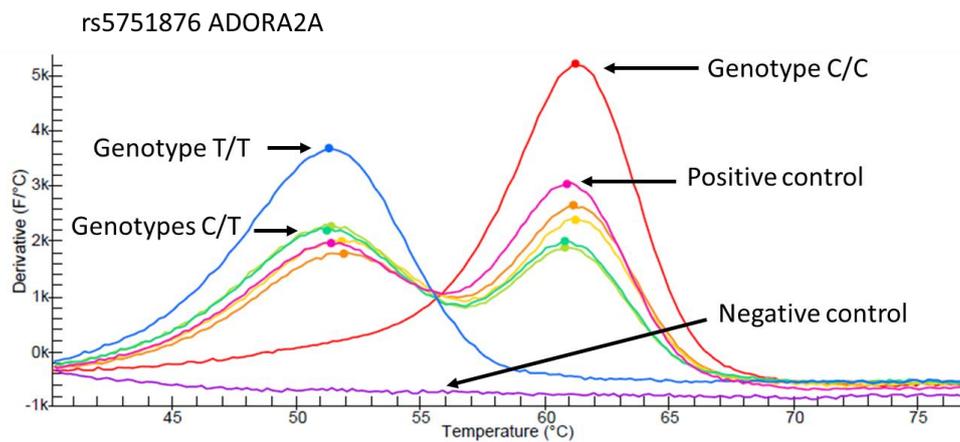


Figure 30. Exemple de courbes de fusion obtenue à travers des échantillons de sang pour les polymorphismes ADORA2A (rs5751876) (Drogou et al., 2020).

V.2.n. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de R-studio (V 0.99.902 - 2009-2016 RStudio, Inc.). Les valeurs ont été exprimées en tant que moyenne \pm erreur standard à la moyenne (SEM).

Tous les paramètres ont été analysés par des ANOVAs 3 facteurs à mesures répétées (groupe [SNP] \times temps d'éveil [PS] \times traitement [TRT]). Les données acquises sont également traitées par une analyse de variance à 2 facteurs (groupe [SNP] \times temps d'éveil [PS]), (groupe [SNP] \times traitement [TRT]) et (traitement [TRT] \times temps d'éveil [PS]) ainsi qu'une analyse de variance à 1 facteurs (groupe [SNP]), temps d'éveil [PS]) et (traitement [TRT]). L'analyse de variance a des effets mixtes comprenant des effets fixes pour les polymorphismes génétiques (mesure non répétée) et la durée d'éveil et le traitement (mesures répétées) avec un effet aléatoire pour les sujets. Lorsque des différences significatives sont observées dans le cadre de l'analyse ($p < 0.05$), une analyse post-hoc de Tukey ou T-test a été appliquée aux données observées entre les sessions expérimentales réalisées à une même heure.

Pour les polymorphismes génétiques, les groupes de mutations homozygotes et hétérozygotes étaient regroupés pour une analyse graphique et statistique.

V.3 Résultats

V.3.a. Caractéristiques de la population

42 sujets ont participé à l'étude. Nous avons exclu un sujet pour cause d'effet indésirable important après la consommation de caféine. Finalement, un total de 41 sujets ($33,2 \pm 0,9$) a effectué le protocole expérimental en entier avec 53,7% de femmes (N=22) et 46,3% d'hommes (N=19). La consommation moyenne de caféine était de 247 ± 23 mg (moyenne \pm SEM). La moyenne de l'IMC était de $22,7 \pm 0,6$ chez les femmes et de $23,3 \pm 0,7$ chez les hommes. La durée moyenne d'exercice physique par semaine était de $3,1 \pm 0,3$ heures. Le temps total de sommeil moyen était de $7,3 \pm 0,1$ heures par nuit et le score de somnolence diurne moyen était de $6,8 \pm 0,4$. 35% des sujets était du chronotype du matin, 35% du soir et 30% intermédiaire.

V.3.b. Répartitions génétiques

Les génotypes des participants et leurs critères démographiques sont résumés dans le tableau 17. Les variations génétiques des rs1800629 TNF- α , rs5751876 ADORA2A, rs73598374 ADA, rs4680 COMT et rs228697 PER3 sont respectivement G>A, C>T, C>T, G>A et C>G. Aucune différence n'a été observée entre les SNPs dans les caractéristiques des sujets à l'exception de l'âge et de la consommation de caféine. Concernant l'âge, nous avons observé une différence entre les génotypes d'ADA avec les porteurs du génotype C/T plus âgés que les porteurs du génotype C/C (45,2 vs 31,6 ans respectivement). Concernant la caféine, nous avons observé une différence entre les génotypes d'ADORA2A avec les porteurs du génotype C/T-T/T qui consomment plus de caféine en moyenne que les porteurs du génotype C/C (293 vs 177 mg/j respectivement). Les fréquences des génotypes de TNF- α de notre population étaient différentes de la base de données 1000 Génomes car, après avoir atteint les trois quarts de l'étude, nous avons choisi de sélectionner les participants en fonction de leur profil génétique afin d'équilibrer des génotypes spécifiques particulièrement rares dans la population. Nous avons choisi de prioriser les polymorphismes de TNF- α et ADORA2A au regard de la littérature scientifique. Comme les mutations homozygotes ou hétérozygotes étaient particulièrement rares pour certains polymorphismes (TNF- α A/A, ADORA2A T/T ; ADA C/T ; PER3 C/G), les allèles homozygotes et hétérozygotes mutés étaient combinées. Leur agrégation n'a pas modifié leur effet significatif sur les paramètres évalués.

Tableau 17. Répartition des polymorphismes génétiques et des caractéristiques de la population en fonction de la base de données international 1000 Génomes.

| Polymorphisme génétique (Chromosome, localisation) | Génotypes ^b | N (%) | 1000 Génomes ^c (%) | Âge (années) | Sexe (♀, %) | Consommation habituelle de caféine (mg/j) | Temps total de sommeil (TST) (heure) |
|---|------------------------|-------------|----------------------------------|--------------------|----------------|---|---|
| rs1800629_TNF-α (6 :31,575,254) | G/G ^a | 26 (63,4 %) | 74,4% | 34,3 ± 1,7 | 57,7% | 243 ± 39 | 7,5 ± 0,2 |
| | G/A-A/A | 15 (36,6 %) | 25,6% | 31,3 ± 1,5 | 46,7% | 254 ± 42 | 7,1 ± 0,3 |
| rs5751876_ADORA2A (22 :24,441,33) | C/C ^a | 16 (39 %) | 37,4% | 32,4 ± 1,7 | 56,3% | 177 ± 47 | 7,4 ± 0,3 |
| | C/T – T/T | 25 (61 %) | 62,6% | 33,8 ± 1,7 | 52,0% | 293 ± 34* | 7,3 ± 0,2 |
| rs73598374_ADA (20 :44,651,586) | C/C ^a | 36 (87,8 %) | 88,1% | 31,6 ± 1,0 | 52,7% | 242 ± 31 | 7,3 ± 0,2 |
| | C/T | 5 (12,2 %) | 11,5% | 45,2 ± 4,7* | 60,0% | 290 ± 85 | 7,2 ± 0,4 |
| rs4680_COMT (22 :19,963,748) | G/G ^a | 13 (31,7 %) | 26,4% | 31,9 ± 1,6 | 62,2% | 244 ± 58 | 7,2 ± 0,4 |
| | G/A-A/A | 28 (68,3 %) | 73,6% | 33,9 ± 1,6 | 46,4% | 249 ± 33 | 7,4 ± 0,2 |
| rs228697_PER3 (1 :7,827,519) | C/C ^a | 33 (80,5 %) | 81,7% | 34,0 ± 1,4 | 57,6% | 239 ± 32 | 7,2 ± 0,2 |
| | C/G | 8 (19,5 %) | 17,3% | 30,3 ± 2,0 | 37,5% | 281 ± 63 | 7,6 ± 0,1 |

^a allèle ancestral. ^b les mutations sont combinées entre elles (hétérozygotes et homozygotes). ^c valeur obtenue de la base de données 1000 Génomes. Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM pour les valeurs quantitatives et en pourcentage (%) pour les valeurs qualitatives. * vs génotypes d'un même polymorphisme ($p < 0,05$).

V.3.c. Attention soutenue (PVT)

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil et du traitement sur le nombre de lapses et la vitesse au PVT pour tous les polymorphismes ($p < 0,01$), mais aucun effet des polymorphismes (Tableau 18). Une interaction significative entre la durée d'éveil et le traitement est observée seulement sur le nombre de lapses ($p < 0,01$). En comparaison avec 2-h d'éveil continu (09 :15 à J1), le nombre de lapses était significativement plus élevé et la vitesse significativement plus lente dans la condition placebo à 20-h, 26-h et 32-h d'éveil continu (03 :15, 09 :15 et 15 :15 à J2) (Figure 31 A et B). En comparaison à la condition placebo, dans la condition caféine, le nombre de lapses était significativement plus faible particulièrement à 14-h, 20-h, 26-h et 32-h d'éveil continu (21 :15 à J1 et 03 :15, 09 :15 et 15 :15 à J2) alors que la vitesse était significativement plus élevée à 8-h (15 :15 à J1), 26-h et 32-h d'éveil continu (09 :15 et 15 :15 à J2) (Figure 31 A et B).

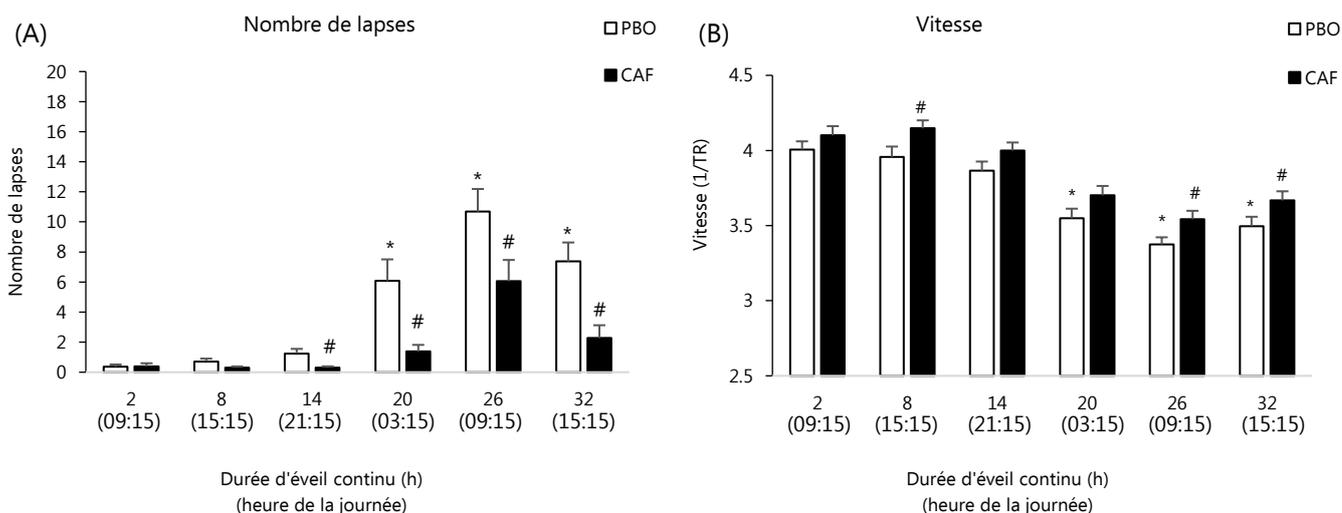


Figure 31. Moyenne du nombre de lapses (A) et de la vitesse de réponse (B) au test de vigilance psychomotrice (PVT) pendant 38-h d'éveil continu en condition placebo (PBO) et caféine (CAF). Les valeurs sont en moyenne \pm SEM. * vs 2-h d'éveil continu (09:15 à J1), # vs PBO ($p < 0,05$).

Nombre de lapses

Pour le polymorphisme de TNF- α , nous observons une interaction significative à 2 facteurs avec le traitement et une interaction à 3 facteurs avec le traitement et la durée d'éveil (Tableau 18). L'analyse post-hoc ne montre aucune différence entre les génotypes à n'importe quelle heure d'éveil continu en condition placebo (Figure 32). Cependant, un effet de la caféine avec une diminution du nombre de lapses a été observé (comparé à la condition placebo) chez les porteurs de l'allèle A à 8-h, 20-h, 26-h et 32-h d'éveil continu alors que cet effet n'est présent, chez les porteurs du génotype G/G, qu'à 14-h et 32-h d'éveil continu (Figure 32 A).

Pour le polymorphisme d'ADORA2A, nous observons une interaction significative à 2 facteurs avec la durée d'éveil ($p < 0,02$) mais pas avec le traitement (Tableau 18). L'analyse post-hoc montre un nombre de lapses plus élevé chez les porteurs de l'allèle T en comparaison des porteurs du génotype C/C à 32-h d'éveil continu (Figure 32 B).

Pour le polymorphisme de PER3, une interaction significative à 2 facteurs a été observée avec le traitement ($p < 0,01$) mais pas avec la durée d'éveil (Tableau 18). Dans la condition caféine, on observe une diminution significative du nombre de lapses par rapport à la condition placebo chez les porteurs de l'allèle G à 20-h et 32-h d'éveil continu, et à 14-h, 20-h et 32-h d'éveil continu chez les porteurs du génotype C/C (Figure 32 C).

Pour les polymorphismes de COMT et d'ADA, aucun effet significatif n'a été observé sur les lapses (Tableau 18 et Figure 32).

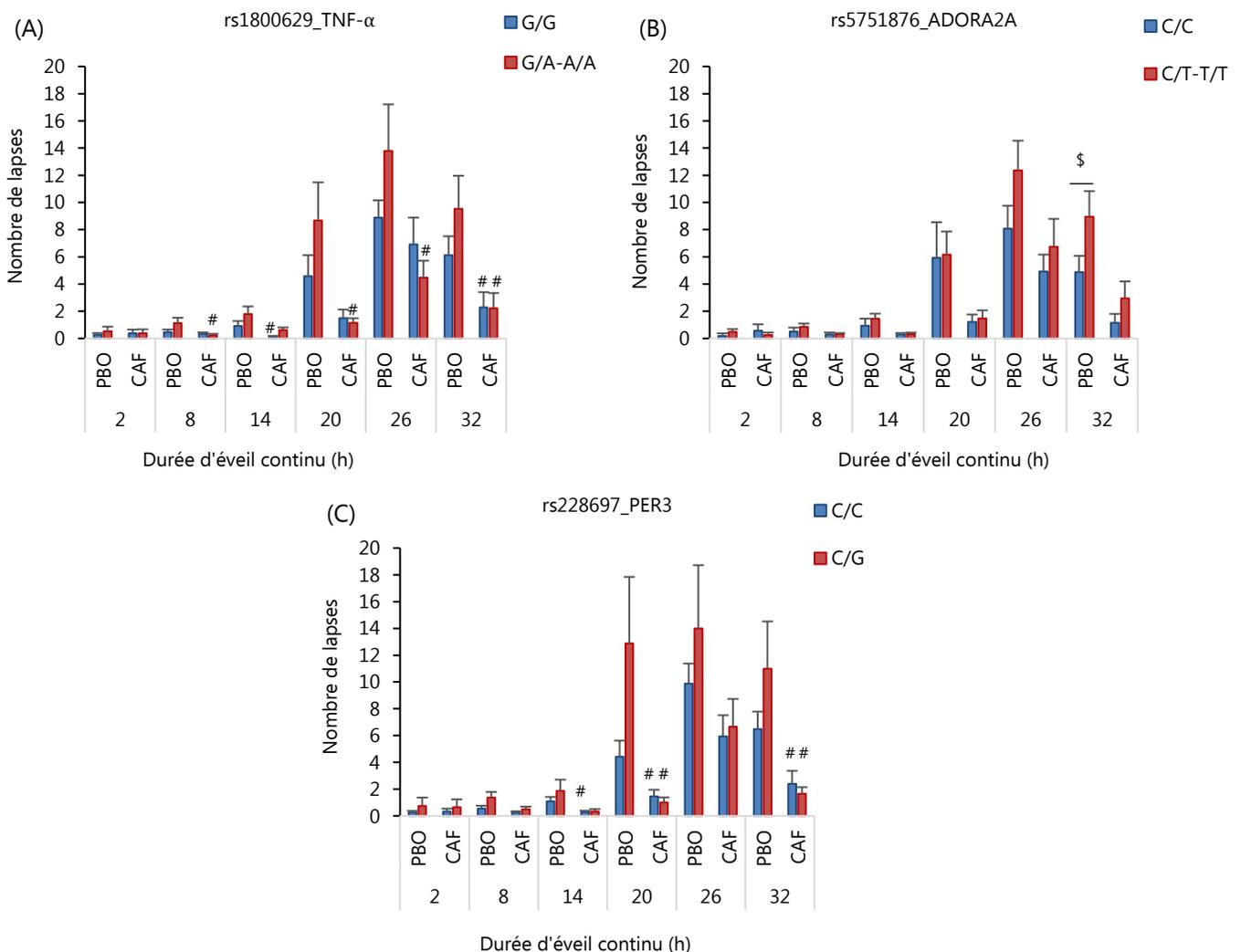


Figure 32. Moyenne du nombre de lapses au PVT évalué toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en fonction des polymorphismes de TNF- α (A), ADORA2A (B), et PER3 (C) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF). La caféine était consommée 45-min avant le PVT de 09:15 et 15:15 à J1 et J2. \$ vs génotypes, # vs PBO ($p < 0,05$).

Vitesse

Pour le polymorphisme de TNF- α , nous observons une interaction significative avec la durée d'éveil, cependant l'analyse post-hoc ne montre aucune différence significative sur la vitesse et aucune interaction n'a été observée avec le traitement (Tableau 18, figure non représentée).

Pour le polymorphisme de PER3, la vitesse était plus élevée dans la condition caféine par rapport à la condition placebo chez les porteurs du génotype C/C à 26-h d'éveil continu alors qu'aucune significativité n'était observée pour les porteurs de l'allèle G (Tableau 18 et Figure 33).

Pour le polymorphisme d'ADA, une interaction à 2 facteurs a été observée avec la durée d'éveil sur la vitesse au PVT sans interaction avec le traitement (Tableau 18). L'analyse post-hoc ne montre aucune différence significative entre les génotypes (figure non représentée).

Pour les polymorphismes d'ADORA2A et de COMT, aucune interaction n'a atteint la significativité pour la vitesse (figure non représentée).

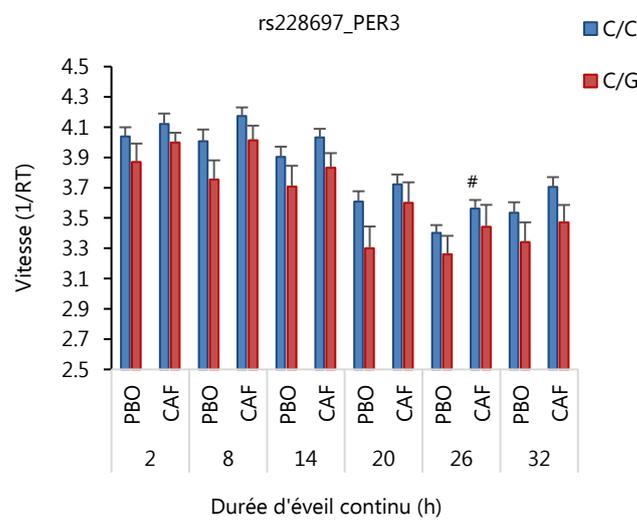


Figure 33. La vitesse au PVT évaluée toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en fonction des polymorphismes de PER3 en condition placebo (PBO) et caféine (CAF). La caféine était consommée 45-min avant le PVT de 09 :15 et 15 :15 à J1 et J2. # vs PBO ($p < 0,05$).

Tableau 18. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec l'éveil continu (PS) et le traitement (TRT) sur le nombre de lapses et la vitesse au PVT.

| Paramètres PVT | SNPs | Eveil continu (PS) $F_{5,370}$ (p) | Traitement (TRT) $F_{1,35}$ (p) | Polymorphisme (SNP) $F_{1,37}$ (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) $F_{5,180}$ (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) $F_{5,400}$ (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) $F_{1,72}$ (p) | Interaction 3 facteurs (SNP x PS x TRT) $F_{5,360}$ (p) |
|------------------|-------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|--|---|--|--|
| Nombre de Lapses | rs1800629_TNF- α | 109,65 (<0,01) | 21,30 (<0,01) | 1,40 (0,24) | 19,17 (<0,01) | 1,87 (0,17) | 6,03 (0,02) | 4,04 (0,05) |
| | rs5751876_ADORA2A | 109,85 (<0,01) | 18,47 (<0,01) | 1,45 (0,24) | 19,64 (<0,01) | 5,67 (0,02) | 0,59 (0,45) | 0,53 (0,47) |
| | rs73598374_ADA | 108,69 (<0,01) | 18,41 (<0,01) | 2,07 (0,16) | 18,91 (<0,01) | 2,56 (0,11) | 0,46 (0,50) | 0,03 (0,86) |
| | rs4680_COMT | 108,80 (<0,01) | 19,82 (<0,01) | 0,04 (0,85) | 19,09 (<0,01) | 0,43 (0,51) | 3,18 (0,08) | 2,40 (0,12) |
| | rs228697_PER3 | 109,51 (<0,01) | 23,50 (<0,01) | 3,06 (0,09) | 18,71 (<0,01) | 3,02 (0,08) | 10,2 (<0,01) | 2,82 (0,09) |
| Vitesse | rs1800629_TNF- α | 472,53 (<0,01) | 23,56 (<0,01) | 0,19 (0,67) | 0,74 (0,39) | 6,59 (0,01) | 1,29 (0,26) | 0,27 (0,61) |
| | rs5751876_ADORA2A | 465,01 (<0,01) | 23,02 (<0,01) | 2,08 (0,16) | 0,64 (0,42) | 0,68 (0,41) | 0,46 (0,50) | 0,00 (0,97) |
| | rs73598374_ADA | 471,04 (<0,01) | 23,80 (<0,01) | 0,00 (0,95) | 0,60 (0,44) | 5,04 (0,03) | 1,60 (0,21) | 0,71 (0,40) |
| | rs4680_COMT | 465,36 (<0,01) | 22,90 (<0,01) | 0,38 (0,54) | 0,64 (0,43) | 0,48 (0,49) | 0,28 (0,60) | 0,50 (0,48) |
| | rs228697_PER3 | 464,46 (<0,01) | 26,50 (<0,01) | 2,54 (0,12) | 0,64 (0,42) | 0,05 (0,82) | 5,80 (0,02) | 0,18 (0,67) |

En gras (p<0,05)

V.3.c. EEG pendant le PVT

Pour le polymorphisme de TNF- α , l'analyse Z score sur les scalps du cerveau montre une activation plus élevée dans la bande de fréquence thêta après une privation totale de sommeil (J2/J1) pour les porteurs de l'allèle A (Figure 34 A). L'analyse ANOVA montre une interaction significative avec la durée d'éveil dans la région centro-temporale sur le ratio thêta-sur-alpha en réponse à la privation de sommeil (26-h d'éveil continu) avec une interaction entre le traitement et la durée d'éveil (Tableau 19). Une activation plus élevée a été observée chez les porteurs de l'allèle A en comparaison des porteurs du génotype G/G en placebo mais aucun effet significatif n'a été observé sur le traitement (Figure 34 A droite).

Pour le polymorphisme d'ADORA2A, l'analyse Z score montre une activation du thêta plus élevée sur les scalps après une privation de sommeil (J2/J1) chez les porteurs de l'allèle T (Figure 34 B gauche). L'analyse ANOVA ne montre aucune interaction pour le ratio thêta-sur-alpha en réponse à la privation de sommeil (à 26-h d'éveil continu) dans la région centro-temporale mais montre une interaction significative entre le traitement et la durée d'éveil sans post-hoc significatif (Tableau 19, Figure 34 B droite).

Pour le polymorphisme de PER3, l'analyse Z score montre une activation plus élevée dans la bande de fréquence thêta et alpha après une privation de sommeil (J2/J1) chez les porteurs de l'allèle G (Figure 34 C gauche). L'analyse ANOVA sur le ratio thêta-sur-alpha ne montre aucune interaction significative avec le polymorphisme dans la région centro-temporale, ni entre le traitement et la durée d'éveil (Tableau 19 et Figure 34 C droite). Pour les polymorphismes de COMT et d'ADA, aucun effet significatif n'a été observé sur le z score sur les scalps, ni sur le ratio thêta sur alpha (Tableau 19).

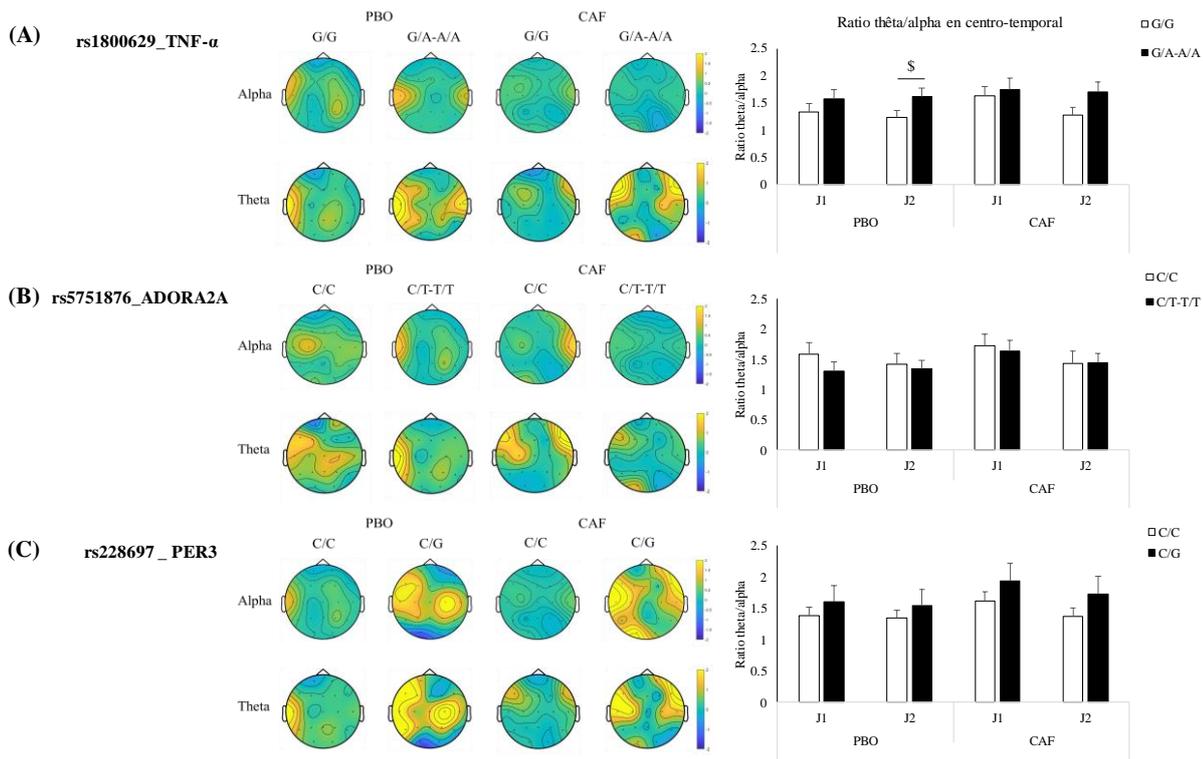


Figure 34. La variation (J2/J1) de la puissance spectrale EEG sur des scalps (à gauche) et le ratio thêta-sur-alpha (à droite) dans la région centro-temporale pendant le PVT à 09:15 à J1 (à 2-h d'éveil continu) et J2 (à 26-h d'éveil continu) en fonction des polymorphismes génétiques de TNF- α (A), ADORA2A (B), PER3 (C) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF). La caféine est consommée 45-min avant le PVT à J1 et J2. \$ vs génotypes ($p < 0,05$).

Tableau 19. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec l'éveil continu (PS) et le traitement (TRT) sur le ratio thêta-sur-alpha dans les régions cérébrales frontale et centro-temporale.

| Paramètres PVT | SNPs | Eveil continu (PS) $F_{1,58}$ (p) | Traitement (TRT) $F_{1,29}$ (p) | Polymorphisme (SNP) $F_{1,29}$ (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) $F_{1,30}$ (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) $F_{1,60}$ (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) $F_{1,60}$ (p) | Interaction 3 facteurs (SNP x PS x TRT) $F_{1,60}$ (p) |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|---|
| Région frontale | rs1800629_TNF- α | 3,92 (0,06) | 11,24 (<0,01) | 2,98 (0,10) | 1,05 (0,31) | 4,00 (0,06) | 0,04 (0,84) | 0,17 (0,68) |
| | rs5751876_ADORA2A | 4,02 (0,05) | 11,31 (<0,01) | 0,16 (0,70) | 1,07 (0,30) | 5,59 (0,02) | 0,23 (0,63) | 0,14 (0,71) |
| | rs73598374_ADA | 3,80 (0,06) | 11,43 (<0,01) | 1,67 (0,21) | 1,02 (0,32) | 2,33 (0,13) | 0,54 (0,47) | 0,04 (0,85) |
| | rs4680_COMT | 3,70 (0,06) | 12,09 (<0,01) | 0,14 (0,71) | 0,99 (0,32) | 0,31 (0,58) | 2,24 (0,15) | 0,46 (0,50) |
| | rs228697_PER3 | 3,73 (0,06) | 11,82 (<0,01) | 1,68 (0,21) | 1,00 (0,32) | 0,75 (0,39) | 1,56 (0,22) | 0,53 (0,47) |
| Région centro-temporale | rs1800629_TNF- α | 8,81 (<0,01) | 9,70 (<0,01) | 1,67 (0,21) | 4,29 (0,04) | 5,88 (0,02) | 0,11 (0,74) | 0,74 (0,39) |
| | rs5751876_ADORA2A | 8,26 (<0,01) | 10,31 (<0,01) | 0,21 (0,65) | 4,02 (0,05) | 2,32 (0,13) | 1,92 (0,18) | 0,26 (0,61) |
| | rs73598374_ADA | 8,20 (<0,01) | 9,92 (<0,01) | 0,79 (0,38) | 3,99 (0,06) | 1,78 (0,19) | 0,75 (0,39) | 0,30 (0,58) |
| | rs4680_COMT | 8,08 (<0,01) | 9,72 (<0,01) | 0,25 (0,62) | 3,94 (0,06) | 0,68 (0,41) | 0,16 (0,69) | 0,57 (0,45) |
| | rs228697_PER3 | 7,92 (<0,01) | 9,99 (<0,01) | 0,93 (0,34) | 3,86 (0,06) | 0,00 (0,98) | 0,96 (0,33) | 0,05 (0,83) |

En gras ($p < 0,05$)

Pour les 5 polymorphismes, une corrélation significative a été observée entre la bande de fréquence thêta et le nombre de lapses dans la condition caféine ($r=0,03$) et placebo ($p<0,01$) dans la région centro-temporale (Figure 35). La corrélation entre le nombre de lapses et la bande de fréquence alpha n'a montré aucune significativité que ce soit dans la condition placebo ou caféine.

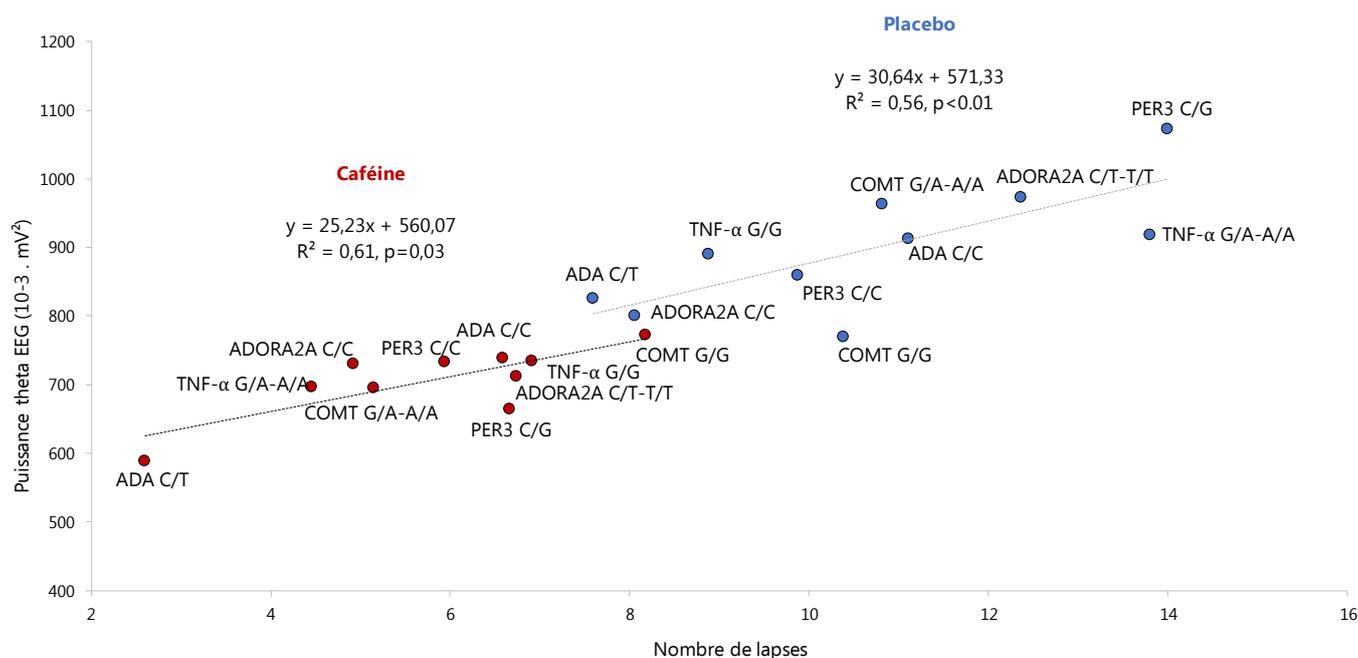


Figure 35. Analyse de corrélation entre le nombre de lapses et la puissance thêta pendant le test de PVT après la nuit de privation de sommeil (à 26-h d'éveil continu) dans la région centro-temporale en condition placebo et caféine. En rouge : la condition caféine, en bleu : la condition placebo

V.3.e. Les performances physiques

Evaluation de la détente verticale :

La détente verticale en contre-mouvement (CMJ) :

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil sur la hauteur ($p=0,03$) et la puissance de la détente verticale ($p=0,03$) mais pas d'effet du traitement, ni d'interaction des deux (Tableau 20). Aucun effet sur la durée n'a été observé. Nous observons une légère dégradation des performances à J2 par rapport à J1 que ce soit pour la hauteur et la puissance de la détente verticale en contre mouvement, cependant, les post-hocs n'ont pas atteint la significativité ($p>0,05$).

La hauteur de la détente verticale en contre mouvement

Nous observons une ANOVA significative à 3 facteurs du polymorphisme d'ADORA2A en interaction avec la durée d'éveil et le traitement sur la hauteur de la détente verticale en contre-mouvement ($p=0,03$) et un effet significatif du polymorphisme de PER3 en interaction avec le traitement ($p=0,03$) (Tableau 20). Cependant, aucun post-hoc n'a atteint la significativité (Figures non présentées).

La puissance de la détente verticale en contre mouvement

Nous observons un effet significatif du polymorphisme d'ADORA2A avec une interaction à 3 facteurs entre la durée d'éveil, le traitement et le SNP sur la puissance de la détente verticale ($p=0,03$) (Tableau 20). Cependant, aucun post-hoc n'a atteint la significativité (Figure non présentée).

Tableau 20. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur la détente verticale en contre-mouvement.

| Paramètres CMJ | SNPs | Eveil continu (PS) F _{1,74} (p) | Traitement (TRT) F _{1,35} (p) | Polymorphisme (SNP) F _{1,37} (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) F _{1,36} (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) F _{1,80} (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) F _{1,72} (p) | Interaction 3 facteurs (SNP x PS x TRT) F _{1,72} (p) |
|----------------|-------------------------|---|---|--|--|---|---|--|
| Hauteur | rs1800629_TNF- α | 5,12 (0,03) | 0,08 (0,78) | 1,01 (0,37) | 0,01 (0,93) | 0,85 (0,43) | 0,18 (0,68) | 0,10 (0,75) |
| | rs5751876_ADORA2A | 5,41 (0,02) | 0,08 (0,78) | 0,03 (0,85) | 0,02 (0,88) | 0,02 (0,88) | 0,34 (0,56) | 4,90 (0,03) |
| | rs73598374_ADA | 5,07 (0,03) | 0,08 (0,78) | 1,63 (0,21) | 0,02 (0,89) | 0,01 (0,94) | 1,83 (0,19) | 0,02 (0,89) |
| | rs4680_COMT | 5,20 (0,03) | 0,08 (0,78) | 0,43 (0,51) | 0,02 (0,90) | 0,80 (0,37) | 0,00 (0,99) | 1,11 (0,30) |
| | rs228697_PER3 | 5,27 (0,03) | 0,09 (0,77) | 0,00 (0,96) | 0,01 (0,92) | 1,29 (0,26) | 4,27 (0,05) | 1,65 (0,20) |
| Puissance | rs1800629_TNF- α | 5,12 (0,03) | 0,09 (0,76) | 1,67 (0,20) | 0,01 (0,93) | 0,85 (0,43) | 0,47 (0,50) | 0,10 (0,75) |
| | rs5751876_ADORA2A | 5,41 (0,02) | 0,09 (0,76) | 0,04 (0,85) | 0,02 (0,88) | 0,02 (0,88) | 1,20 (0,28) | 4,90 (0,03) |
| | rs73598374_ADA | 5,07 (0,03) | 0,09 (0,76) | 0,54 (0,47) | 0,02 (0,89) | 0,01 (0,94) | 1,43 (0,24) | 0,02 (0,89) |
| | rs4680_COMT | 5,20 (0,03) | 0,09 (0,77) | 0,84 (0,37) | 0,02 (0,67) | 0,80 (0,37) | 0,10 (0,75) | 1,11 (0,30) |
| | rs228697_PER3 | 5,27 (0,03) | 0,09 (0,76) | 0,00 (0,99) | 0,01 (0,92) | 1,29 (0,26) | 0,93 (0,34) | 1,65 (0,20) |

En gras ($p < 0,05$)

La détente verticale en squat (SJ) :

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil sur la durée ($p=0,02$), la hauteur ($p=0,03$) et la puissance de la détente verticale ($p=0,03$) (Tableau 21). Une légère diminution de la durée, de la hauteur et de la puissance est observée après la privation de sommeil (J2), cependant, aucun post-hoc n'a atteint la significativité.

La durée de la détente verticale en squat

Nous observons une interaction significative entre le polymorphisme de PER3, la durée d'éveil et le traitement ($p=0,02$) (Tableau 21). Cependant, aucun post hoc n'a atteint la significativité (Figure non présentée).

Tableau 21. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur la détente verticale en squat (SJ).

| Paramètres SJ | SNPs | Eveil continu (PS) F _{1,74} (p) | Traitement (TRT) F _{1,35} (p) | Polymorphisme (SNP) F _{1,37} (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) F _{1,36} (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) F _{1,80} (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) F _{1,72} (p) | Interaction 3 facteurs (SNP x PS x TRT) F _{1,72} (p) |
|---------------|-------------------|---|---|--|--|---|---|--|
| Durée | rs1800629_TNF-α | 5,56 (0,02) | 0,45 (0,51) | 0,55 (0,58) | 1,10 (0,30) | 0,71 (0,50) | 0,46 (0,50) | 1,61 (0,21) |
| | rs5751876_ADORA2A | 5,54 (0,02) | 0,45 (0,51) | 0,51 (0,48) | 1,08 (0,30) | 0,18 (0,67) | 0,28 (0,60) | 1,62 (0,21) |
| | rs73598374_ADA | 5,43 (0,02) | 0,44 (0,51) | 0,72 (0,40) | 1,06 (0,31) | 0,18 (0,67) | 0,08 (0,78) | 0,06 (0,81) |
| | rs4680_COMT | 5,53 (0,02) | 0,47 (0,50) | 2,59 (0,12) | 1,09 (0,30) | 0,30 (0,58) | 2,55 (0,12) | 1,32 (0,25) |
| | rs228697_PER3 | 6,09 (0,02) | 0,45 (0,51) | 0,07 (0,79) | 1,34 (0,25) | 3,24 (0,08) | 0,29 (0,59) | 5,93 (0,02) |
| Hauteur | rs1800629_TNF-α | 4,79 (0,03) | 0,24 (0,63) | 0,90 (0,41) | 1,54 (0,22) | 0,89 (0,42) | 0,43 (0,51) | 1,37 (0,25) |
| | rs5751876_ADORA2A | 4,71 (0,03) | 0,24 (0,63) | 0,21 (0,65) | 1,47 (0,23) | 0,30 (0,59) | 0,10 (0,76) | 0,72 (0,40) |
| | rs73598374_ADA | 4,67 (0,03) | 0,24 (0,63) | 1,21 (0,28) | 1,46 (0,23) | 0,18 (0,68) | 0,02 (0,89) | 0,09 (0,76) |
| | rs4680_COMT | 4,91 (0,03) | 0,25 (0,62) | 0,85 (0,36) | 1,62 (0,21) | 3,93 (0,06) | 1,22 (0,28) | 0,19 (0,66) |
| | rs228697_PER3 | 4,68 (0,03) | 0,24 (0,63) | 0,03 (0,86) | 1,43 (0,24) | 0,02 (0,90) | 0,17 (0,68) | 0,52 (0,47) |
| Puissance | rs1800629_TNF-α | 4,79 (0,03) | 0,65 (0,42) | 1,54 (0,23) | 1,54 (0,22) | 0,89 (0,42) | 0,73 (0,40) | 1,37 (0,25) |
| | rs5751876_ADORA2A | 4,71 (0,03) | 0,64 (0,43) | 0,00 (0,96) | 1,47 (0,23) | 0,30 (0,59) | 0,04 (0,84) | 0,72 (0,40) |
| | rs73598374_ADA | 4,67 (0,03) | 0,64 (0,43) | 0,39 (0,54) | 1,46 (0,23) | 0,18 (0,68) | 0,07 (0,79) | 0,09 (0,76) |
| | rs4680_COMT | 4,91 (0,03) | 0,65 (0,43) | 1,14 (0,29) | 1,62 (0,21) | 3,93 (0,06) | 0,51 (0,48) | 0,19 (0,66) |
| | rs228697_PER3 | 4,68 (0,03) | 0,64 (0,43) | 0,02 (0,88) | 1,43 (0,24) | 0,02 (0,90) | 0,00 (1,00) | 0,52 (0,47) |

En gras (p<0,05)

Epreuve de Charge-Vitesse

Nous observons seulement un effet significatif du traitement sur la V₀ (p<0,01) et un effet significatif de la durée d'éveil sur la F₀ (p=0,05), et la puissance max (p<0,01). Aucun effet du polymorphisme ni d'interaction n'a été observé (Tableau 22). En condition placebo, la vitesse optimale à force nulle (V₀) est diminuée après la nuit de privation de sommeil alors que la force optimale à vitesse nulle (F₀) et la puissance maximale sont augmentées. Cependant, aucun post-hoc n'a atteint la significativité. Aucune significativité n'a été observé sur les paramètres suivant : V₀P, F₀P, delta (J2-J1).

Tableau 22. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur les paramètres de l'épreuve de charge-vitesse.

| Paramètres Charge-vitesse | SNPs | Eveil continu (PS) F _{1,72} (p) | Traitement (TRT) F _{1,34} (p) | Polymorphisme (SNP) F _{1,36} (p) |
|---------------------------|-------------------|---|---|--|
| V ₀ | rs1800629_TNF-α | 0,77 (0,38) | 7,90 (<0,01) | 0,66 (0,42) |
| | rs5751876_ADORA2A | 0,76 (0,39) | 7,86 (<0,01) | 0,11 (0,74) |
| | rs73598374_ADA | 0,79 (0,38) | 7,94 (<0,01) | 3,61 (0,07) |
| | rs4680_COMT | 0,76 (0,39) | 7,90 (<0,01) | 1,74 (0,19) |
| | rs228697_PER3 | 0,77 (0,38) | 7,73 (<0,01) | 1,57 (0,22) |
| F ₀ | rs1800629_TNF-α | 4,00 (0,05) | 0,11 (0,75) | 0,43 (0,52) |
| | rs5751876_ADORA2A | 3,98 (0,05) | 0,10 (0,75) | 0,34 (0,57) |
| | rs73598374_ADA | 4,14 (0,05) | 0,10 (0,75) | 0,31 (0,58) |
| | rs4680_COMT | 3,97 (0,05) | 0,11 (0,74) | 0,59 (0,45) |
| | rs228697_PER3 | 4,00 (0,05) | 0,11 (0,75) | 0,68 (0,42) |
| P _{max} | rs1800629_TNF-α | 8,64 (<0,01) | 1,16 (0,29) | 0,02 (0,89) |
| | rs5751876_ADORA2A | 8,66 (<0,01) | 1,12 (0,30) | 0,06 (0,81) |
| | rs73598374_ADA | 8,69 (<0,01) | 1,12 (0,30) | 0,07 (0,79) |
| | rs4680_COMT | 8,54 (<0,01) | 1,16 (0,29) | 0,96 (0,33) |
| | rs228697_PER3 | 8,53 (<0,01) | 1,15 (0,29) | 1,15 (0,29) |

En gras (p<0,05)

Perception de l'effort (RPE)

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil sur la RPE ($p < 0,01$), et une interaction entre le polymorphisme d'ADA avec le traitement ($p = 0,04$) (Tableau 23). En condition placebo, la RPE est augmentée après la nuit de privation de sommeil (Figure 36). Aucun post-hoc n'a atteint la significativité pour le polymorphisme d'ADA (figure non représentée). Aucun autre polymorphisme n'a atteint la significativité.

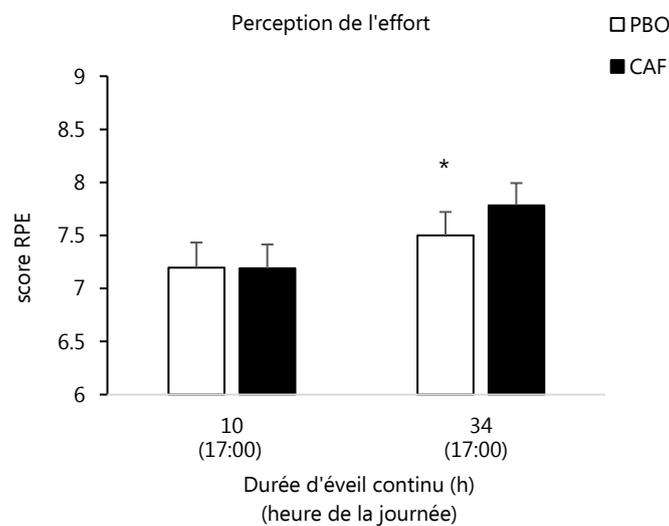


Figure 36. Perception de l'effort à 10-h d'éveil continu (J1) et 34-h d'éveil continu (J2) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) pour tous les sujets.

* vs J1, \$ vs ancestral ($p < 0,05$).

Tableau 23. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur la perception de l'effort (RPE).

| Paramètre | SNPs | Eveil continu (PS) F _{1,72} (p) | Traitement (TRT) F _{1,34} (p) | Polymorphisme (SNP) F _{1,36} (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) F _{1,36} (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) F _{1,80} (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) F _{1,72} (p) | Interaction 3 facteurs (SNP x PS x TRT) F _{1,72} (p) |
|-----------|-------------------------|---|---|--|--|---|---|--|
| RPE | rs1800629_TNF- α | 12,28 (<0,01) | 0,66 (0,42) | 2,27 (0,12) | 1,17 (0,28) | 0,28 (0,76) | 0,07 (0,80) | 0,022 (0,64) |
| | rs5751876_ADORA2A | 12,33 (<0,01) | 0,68 (0,42) | 1,09 (0,30) | 0,92 (0,34) | 0,11 (0,75) | 0,96 (0,33) | 0,19 (0,67) |
| | rs73598374_ADA | 12,46 (<0,01) | 0,75 (0,39) | 0,06 (0,80) | 0,90 (0,35) | 0,99 (0,32) | 4,80 (0,04) | 0,13 (0,72) |
| | rs4680_COMT | 12,40 (<0,01) | 0,67 (0,42) | 1,30 (0,26) | 0,92 (0,34) | 0,05 (0,82) | 0,28 (0,60) | 0,66 (0,42) |
| | rs228697_PER3 | 12,69 (<0,01) | 0,66 (0,42) | 0,33 (0,57) | 1,08 (0,30) | 2,04 (0,16) | 0,01 (0,93) | 0,31 (0,58) |

En gras ($p < 0,05$)

V.3.f. Performances de conduite sur simulateur

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil ($p < 0,01$) et du traitement ($p < 0,01$) pour le nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales et la déviation standard de la position, sans interaction des deux (Tableau 24). Le nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales est significativement plus élevé dans les deux conditions (placebo et caféine) à J2 (21-h d'éveil continu) par rapport à J1 (15-h d'éveil continu). De plus, ce franchissement inapproprié est significativement moins élevé en condition caféine par rapport à la condition placebo à J1 et J2 (Figure 37 A). La déviation standard de la position est significativement plus élevée dans les deux conditions (placebo et caféine) à J2 (21-h d'éveil continu) par rapport à J1 (15-h d'éveil continu). De plus, la déviation standard de la position est significativement moins élevée en condition caféine par rapport à la condition placebo à J1 et J2 (Figure 37 B).

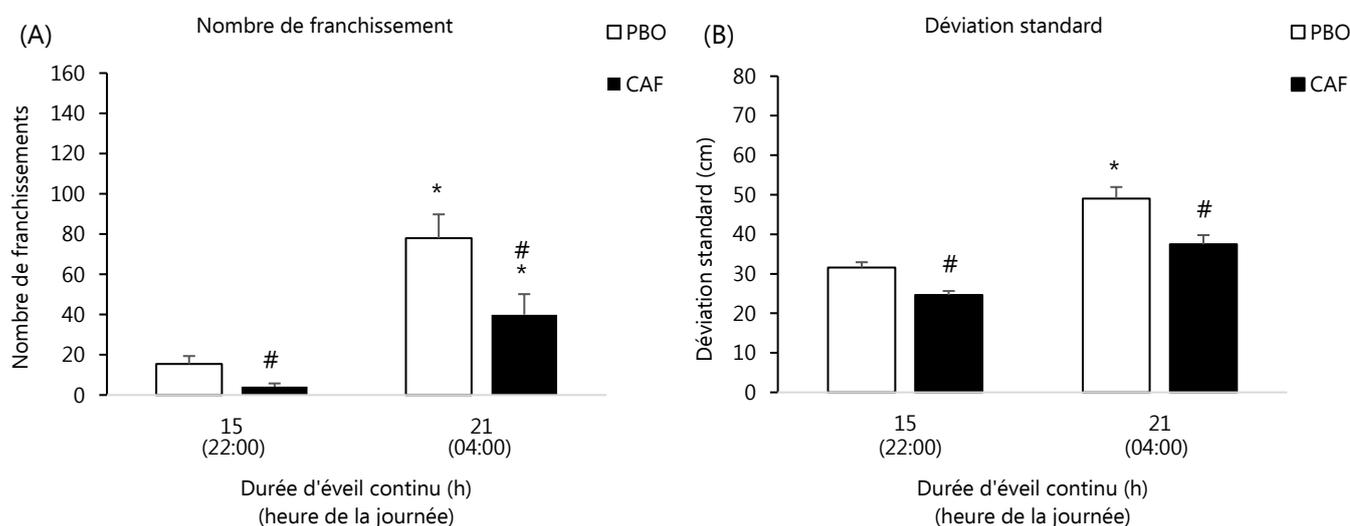


Figure 37. Nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales (A) et la déviation standard de la position (B) lors de la conduite sur simulateur à 15-h d'éveil continu (à J1) et 21-h d'éveil continu (J2) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF). * vs J1, # vs PBO ($p < 0,05$).

Nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales

Nous observons un effet significatif du polymorphisme de PER3 seul ($p = 0,01$) sur le nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales ($p = 0,01$) en interaction avec la durée d'éveil ($p = 0,04$) (Tableau 24). Dans les deux conditions, les porteurs du génotype C/C effectuent plus de franchissements à J2 (21-h d'éveil continu) par rapport à J1 (15-h d'éveil continu) (Figure 38).

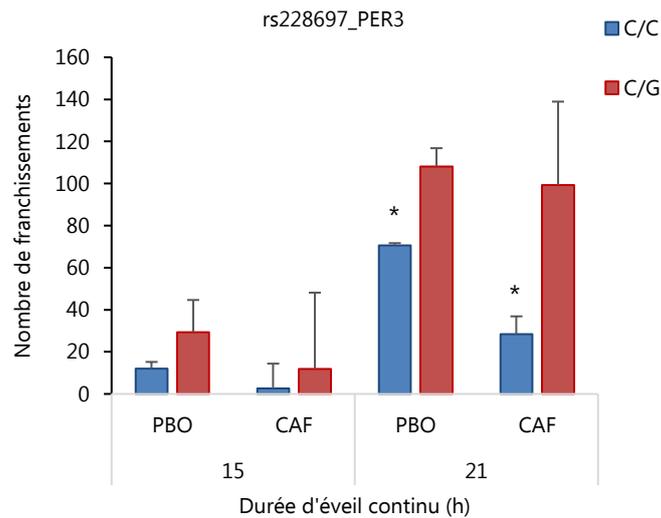


Figure 38. Nombre de franchissements inappropriés de lignes latérales lors de la conduite sur simulateur à 15-h d'éveil continu (J1) et 21-h d'éveil continu (J2) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) en fonction du polymorphisme génétique PER3. * vs J1 ($p < 0,05$).

Déviat ion standard

Nous observons un effet significatif du polymorphisme d'ADA en interaction avec la durée d'éveil ($p=0,04$) et un effet significatif du polymorphisme de PER3 seul ($p=0,02$) et en interaction avec la durée d'éveil ($p < 0,01$) sur la déviation standard de la position (Tableau 24). Dans les deux conditions, les porteurs du génotype C/C d'ADA effectuent une plus grande déviation standard de la position à J2 (21-h d'éveil continu) par rapport à J1 (15-h d'éveil continu) (Figure 39 A). Pour le polymorphisme de PER3, les deux génotypes (C/C et C/G) ont un effet de la durée d'éveil avec une augmentation de la déviation standard à J2 par rapport à J1 dans les deux condition (PBO et CAF) (Figure 39 B).

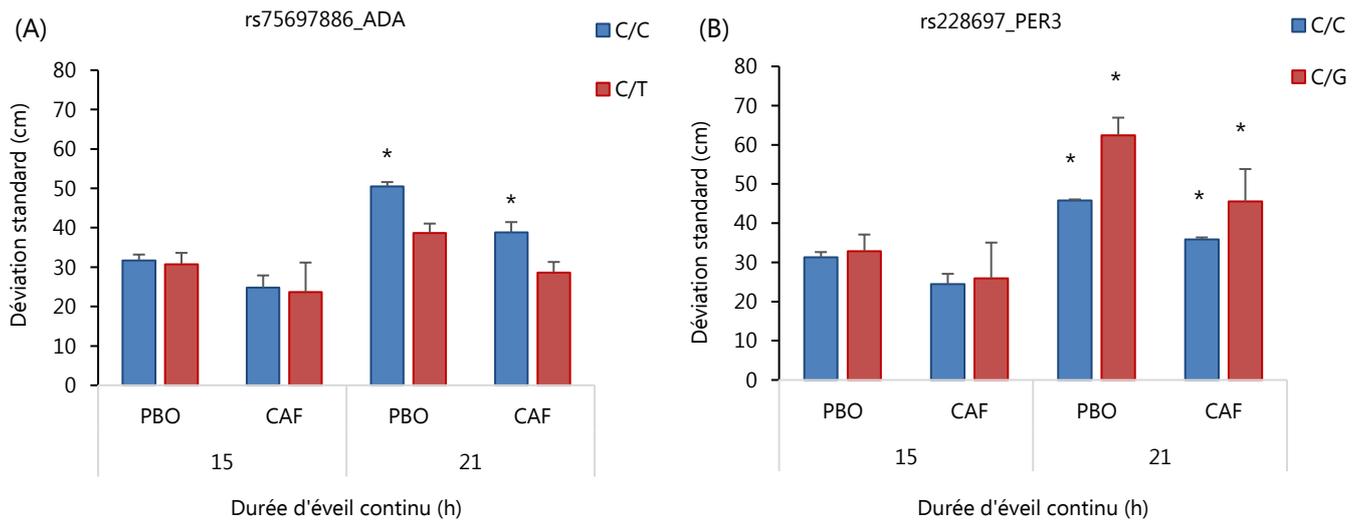


Figure 39. Déviation standard de la position lors de la conduite sur simulateur à 15-h d'éveil continu (J1) et 21-h d'éveil continu (J2) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) en fonction des polymorphismes génétiques d'ADA (A) et de PER3 (B). * vs J1 ($p < 0,05$).

Tableau 24. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur les paramètres de conduite sur simulateur (Nombre de franchissements et déviation standard).

| Paramètres de conduite | SNPs | Eveil continu (PS) $F_{1,74}$ (p) | Traitement (TRT) $F_{1,35}$ (p) | Polymorphisme (SNP) $F_{1,37}$ (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) $F_{1,36}$ (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) $F_{1,80}$ (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) $F_{1,72}$ (p) | Interaction 3 facteurs (PS x TRT x SNP) $F_{1,72}$ (p) |
|-----------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|---|
| Nombre de franchissements | rs1800629_TNF- α | 46,39 (<0,01) | 23,10 (<0,01) | 0,84 (0,44) | 3,33 (0,07) | 0,82 (0,44) | 0,00 (0,99) | 0,06 (0,80) |
| | rs5751876_ADORA2A | 46,02 (<0,01) | 23,56 (<0,01) | 0,71 (0,41) | 3,27 (0,08) | 0,13 (0,72) | 0,71 (0,40) | 0,01 (0,93) |
| | rs73598374_ADA | 47,56 (<0,01) | 23,10 (<0,01) | 1,83 (0,18) | 3,28 (0,07) | 2,66 (0,11) | 0,00 (0,96) | 0,06 (0,80) |
| | rs4680_COMT | 48,12 (<0,01) | 23,27 (<0,01) | 2,31 (0,14) | 3,58 (0,06) | 3,36 (0,07) | 0,27 (0,61) | 0,01 (0,94) |
| | rs228697_PER3 | 49,37 (<0,01) | 23,38 (<0,01) | 6,66 (0,01) | 3,19 (0,08) | 4,63 (0,04) | 0,44 (0,51) | 1,24 (0,27) |
| Déviation standard de la position | rs1800629_TNF- α | 84,33 (<0,01) | 18,69 (<0,01) | 0,68 (0,51) | 0,51 (0,48) | 1,43 (0,25) | 0,04 (0,85) | 0,22 (0,64) |
| | rs5751876_ADORA2A | 82,10 (<0,01) | 18,80 (<0,01) | 1,93 (0,17) | 0,32 (0,57) | 0,11 (0,74) | 0,2 (0,66) | 0,14 (0,71) |
| | rs73598374_ADA | 86,43 (<0,01) | 18,70 (<0,01) | 2,22 (0,14) | 0,30 (0,59) | 4,18 (0,04) | 0,00 (0,96) | 0,02 (0,89) |
| | rs4680_COMT | 85,18 (<0,01) | 18,68 (<0,01) | 1,39 (0,25) | 0,39 (0,54) | 2,90 (0,09) | 0,02 (0,90) | 0,09 (0,76) |
| | rs228697_PER3 | 91,56 (<0,01) | 18,67 (<0,01) | 6,16 (0,02) | 0,24 (0,63) | 7,80 (<0,01) | 0,01 (0,94) | 1,13 (0,30) |

En gras ($p < 0,05$)

V.3.g. Performances au tir

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil ($p < 0,05$), du traitement ($p < 0,05$) et de leur interaction ($p < 0,01$) sur le nombre de tirs réussis (20 tirs au total) (Tableau 25). A J2 (22-h d'éveil continu), le nombre de tirs réussis était plus élevé dans la condition caféine que dans la condition placebo (Figure 40 A). Nous observons un effet significatif du polymorphisme de COMT en interaction avec le traitement ($p < 0,01$) et un effet significatif du polymorphisme de PER3 en interaction avec la durée d'éveil ($p = 0,05$) (Tableau 25). Pour le polymorphisme de COMT, les porteurs du génotypes G/G

effectuent plus de tirs réussis en condition caféine à J2 (22-h d'éveil continu) par rapport à la condition placebo (Figure 40 B). Pour le polymorphisme de PER3, les post-hocs n'ont pas atteint la significativité (Figure non présentée).

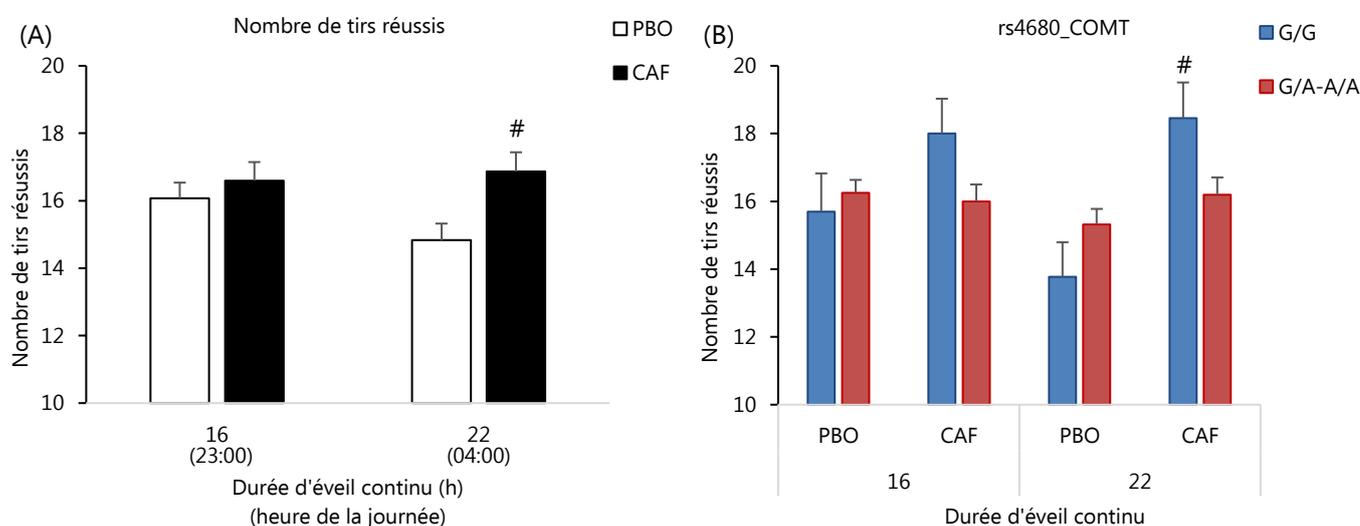


Figure 40. Nombre de tirs réussis à 16-h d'éveil continu (J1) et 22-h d'éveil continu (J2) en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) (A) et en fonction du polymorphisme de COMT (B). # vs PBO ($p < 0,05$).

Tableau 25. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur le nombre de tirs réussis.

| Paramètre de tir | SNPs | Eveil continu (PS) $F_{1,74}$ (p) | Traitement (TRT) $F_{1,35}$ (p) | Polymorphisme (SNP) $F_{1,37}$ (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) $F_{1,36}$ (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) $F_{1,80}$ (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) $F_{1,72}$ (p) | Interaction 3 facteurs (PS x TRT x SNP) $F_{1,72}$ (p) |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|---|
| Nombre de tirs réussis | rs1800629_TNF- α | 3,99 (0,05) | 4,47 (0,04) | 0,10 (0,91) | 8,41 (<0,01) | 1,03 (0,36) | 2,56 (0,12) | 0,01 (0,91) |
| | rs5751876_ADORA2A | 4,13 (0,05) | 4,30 (0,05) | 0,28 (0,60) | 9,83 (<0,01) | 0,81 (0,37) | 1,06 (0,31) | 1,97 (0,16) |
| | rs73598374_ADA | 4,06 (0,05) | 4,17 (0,05) | 3,49 (0,07) | 9,44 (<0,01) | 1,47 (0,23) | 0,04 (0,85) | 0,20 (0,66) |
| | rs4680_COMT | 4,06 (0,05) | 5,06 (0,03) | 0,25 (0,62) | 9,48 (<0,01) | 0,62 (0,43) | 7,48 (<0,01) | 0,96 (0,33) |
| | rs228697_PER3 | 4,23 (0,04) | 4,29 (0,05) | 0,43 (0,52) | 10,56 (<0,01) | 4,03 (0,05) | 1,04 (0,31) | 0,09 (0,77) |

En gras ($p < 0,05$)

V.3.h. Effets secondaires

Effets indésirables (EVA) :

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil pour les nausées et les douleurs intestinales ($p < 0,01$), un effet significatif du traitement pour les maux de tête ($p = 0,02$) et une interaction entre la durée d'éveil et le traitement pour la fatigue ($p < 0,01$) (Tableau 26). En condition caféine, l'intensité des maux de tête était moins élevée, particulièrement à 20-h (03 :15 à J2) et 32-h d'éveil continu (15 :15 à J2) par rapport à la condition placebo (Figure 41 A). Pour les nausées et les maux

d'estomac, la durée d'éveil augmente la sensation de nausées et de douleurs à l'estomac, cependant les post-hocs n'ont pas atteint la significativité (Figure 341 B et C). Au niveau de la fatigue, en condition placebo, la sensation de fatigue augmente avec la durée d'éveil par rapport à 2-h d'éveil continu (09 :15 à J1) particulièrement entre 20-h et 32-h d'éveil continu (03 :15, 09 :15 et 15 :15 à J2) (Figure 41 D).

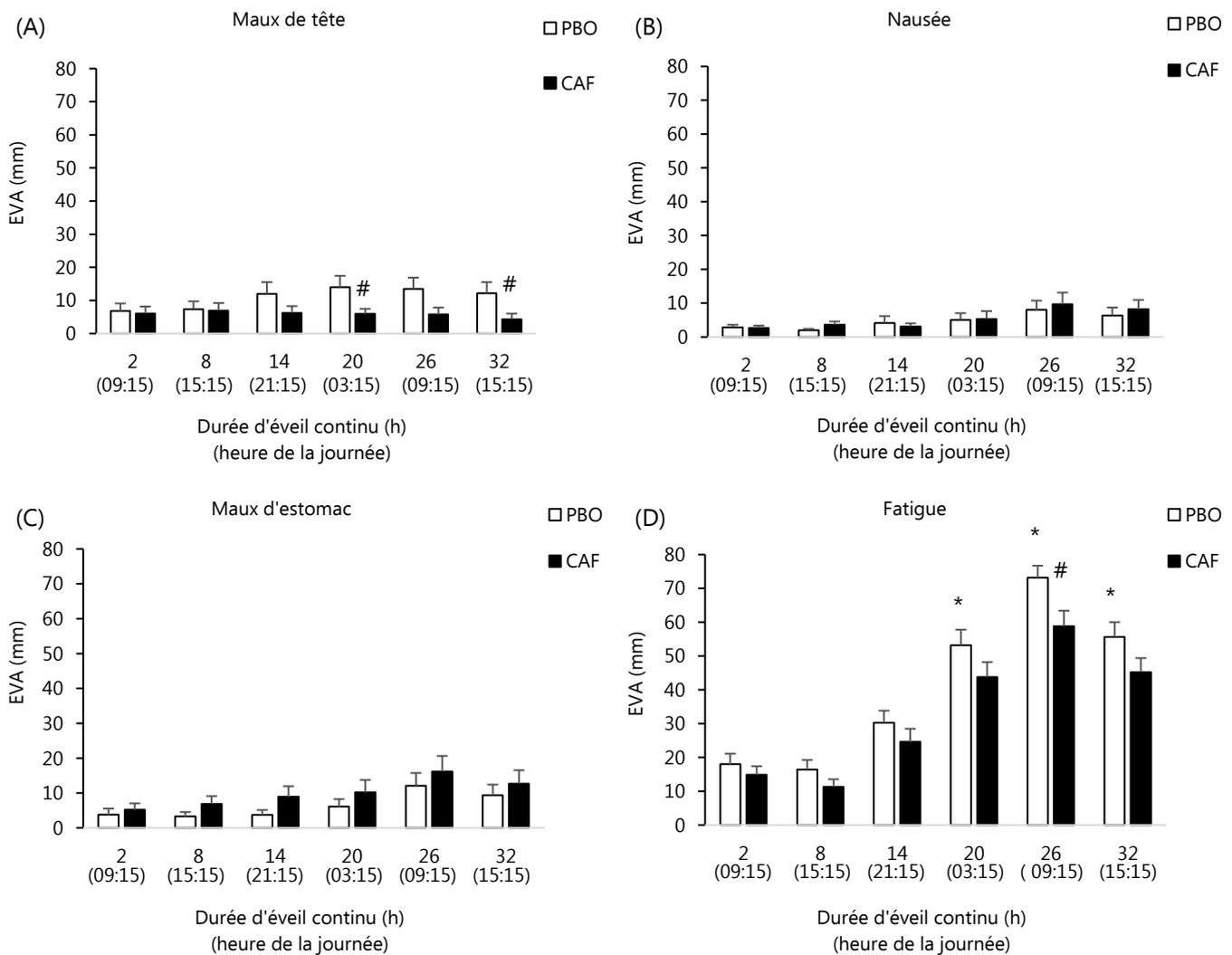


Figure 41. Moyennes des scores en EVA évalués toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) sur les maux de tête (A), les nausées (B), les douleurs intestinales (C), et la fatigue (D). * vs 2-h d'éveil continu (09 :15 à J1), # vs PBO ($p < 0,05$).

Nausées

Un effet significatif est observé pour le polymorphisme d'ADORA2A seul ($p=0,03$) et en interaction avec la durée d'éveil ($p<0,01$) (Tableau 26). Les porteurs du génotype C/C semblent avoir une augmentation des nausées par rapport aux porteurs de l'allèle T pendant l'augmentation de la durée d'éveil, cependant les post-hoc n'atteignent pas la significativité ($p>0,05$) (Figure 42).

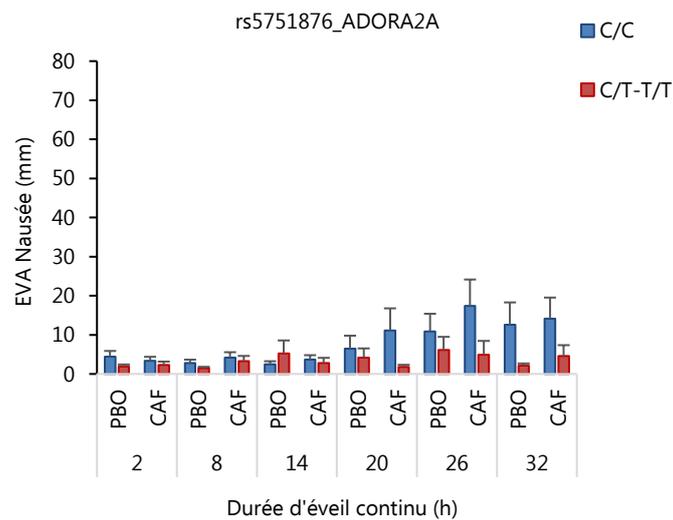


Figure 42. Moyennes des scores en EVA pour les nausées évaluées toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) pour le polymorphisme d'ADORA2A.

Maux d'estomac

Un effet significatif a été observé pour le polymorphisme de COMT en interaction avec le traitement ($p=0,03$) (Tableau 26). Nous observons que les porteurs du génotype G/G semblent avoir des maux d'estomac plus importants en condition caféine qu'en placebo, cependant les post-hocs n'ont pas atteint la significativité ($p>0,05$) (figure non représentée).

Fatigue

Un effet significatif a été observé pour le polymorphisme de PER3 en interaction avec le traitement ($p=0,04$) (Tableau 26). En condition caféine, les porteurs du génotype C/C ont un ressenti plus élevée de la fatigue que les porteurs de l'allèle G, à 2-h, 8-h et 14-h d'éveil continu (09 :15, 15 :15 et 21 :15 à J1) (Figure 43).

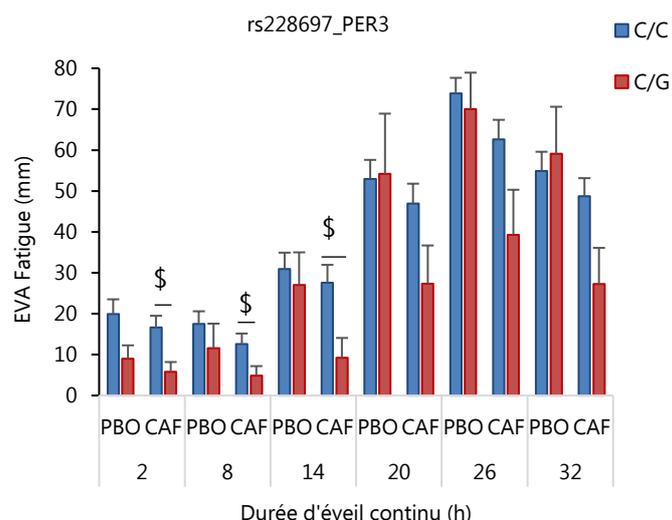


Figure 43. Moyennes des scores en EVA pour la fatigue évaluée toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) pour le polymorphisme de PER3. \$ vs génotype ($p < 0,05$).

Tableau 26. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur 4 symptômes spécifiques (Maux de tête, nausée, maux d'estomac et fatigue) évalués par échelle visuelle analogique (EVA)

| Paramètres Effets secondaires | SNPs | Eveil continu (PS) F _{1,74} (p) | Traitement (TRT) F _{1,35} (p) | Polymorphisme (SNP) F _{1,37} (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) F _{1,36} (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) F _{1,80} (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) F _{1,72} (p) | Interaction 3 facteurs (PS x TRT x SNP) F _{1,72} (p) |
|-------------------------------|-------------------------|---|---|--|--|---|---|--|
| Maux de tête | rs1800629_TNF- α | 1,09 (0,37) | 5,71 (0,02) | 0,50 (0,49) | 1,52 (0,18) | 0,23 (0,95) | 2,08 (0,16) | 0,58 (0,72) |
| | rs5751876_ADORA2A | 1,12 (0,35) | 5,54 (0,02) | 0,14 (0,71) | 1,54 (0,18) | 2,16 (0,06) | 0,95 (0,34) | 0,64 (0,67) |
| | rs73598374_ADA | 1,10 (0,36) | 5,41 (0,03) | 0,64 (0,43) | 1,54 (0,18) | 0,71 (0,62) | 0,09 (0,77) | 0,85 (0,52) |
| | rs4680_COMT | 1,10 (0,36) | 5,83 (0,02) | 0,76 (0,39) | 1,58 (0,16) | 0,88 (0,50) | 2,84 (0,10) | 1,02 (0,40) |
| | rs228697_PER3 | 1,09 (0,37) | 5,56 (0,02) | 0,05 (0,83) | 1,52 (0,18) | 0,59 (0,71) | 1,07 (0,31) | 0,40 (0,85) |
| Nausée | rs1800629_TNF- α | 4,21 (<0,01) | 0,05 (0,82) | 0,06 (0,81) | 0,24 (0,95) | 0,38 (0,86) | 0,00 (0,97) | 1,12 (0,35) |
| | rs5751876_ADORA2A | 4,34 (<0,01) | 0,05 (0,82) | 5,15 (0,03) | 0,27 (0,93) | 3,16 (<0,01) | 0,29 (0,59) | 0,72 (0,61) |
| | rs73598374_ADA | 4,31 (<0,01) | 0,05 (0,82) | 0,10 (0,75) | 0,25 (0,94) | 2,16 (0,06) | 0,76 (0,39) | 1,20 (0,31) |
| | rs4680_COMT | 4,20 (<0,01) | 0,05 (0,82) | 1,62 (0,21) | 0,23 (0,95) | 1,06 (0,38) | 0,13 (0,72) | 0,35 (0,88) |
| | rs228697_PER3 | 4,17 (<0,01) | 0,05 (0,82) | 2,74 (0,11) | 0,23 (0,95) | 0,77 (0,57) | 0,10 (0,76) | 0,04 (1,00) |
| Maux d'estomac | rs1800629_TNF- α | 6,28 (<0,01) | 1,76 (0,19) | 1,47 (0,23) | 0,18 (0,97) | 0,07 (1,00) | 0,32 (0,58) | 0,33 (0,90) |
| | rs5751876_ADORA2A | 6,43 (<0,01) | 1,74 (0,20) | 0,00 (0,98) | 0,17 (0,97) | 1,62 (0,15) | 0,00 (0,99) | 0,58 (0,72) |
| | rs73598374_ADA | 6,53 (<0,01) | 1,80 (0,19) | 0,25 (0,62) | 0,19 (0,97) | 1,58 (0,17) | 1,16 (0,29) | 1,73 (0,13) |
| | rs4680_COMT | 6,46 (<0,01) | 2,01 (0,17) | 0,89 (0,35) | 0,20 (0,96) | 0,60 (0,70) | 5,33 (0,03) | 1,86 (0,10) |
| | rs228697_PER3 | 6,34 (<0,01) | 1,75 (0,20) | 1,70 (0,20) | 0,18 (0,97) | 0,66 (0,65) | 0,03 (0,85) | 0,42 (0,84) |
| Fatigue | rs1800629_TNF- α | 126,19 (<0,01) | 10,97 (<0,01) | 0,08 (0,77) | 1,23 (0,29) | 0,65 (0,66) | 0,01 (0,92) | 0,69 (0,63) |
| | rs5751876_ADORA2A | 128,02 (<0,01) | 11,47 (<0,01) | 0,43 (0,52) | 1,21 (0,30) | 1,44 (0,21) | 1,61 (0,21) | 1,03 (0,40) |
| | rs73598374_ADA | 126,76 (<0,01) | 10,99 (<0,01) | 0,63 (0,43) | 1,24 (0,29) | 1,38 (0,23) | 0,06 (0,81) | 0,31 (0,91) |
| | rs4680_COMT | 127,26 (<0,01) | 10,97 (<0,01) | 0,11 (0,74) | 1,27 (0,27) | 0,23 (0,95) | 0,01 (0,94) | 1,72 (0,13) |
| | rs228697_PER3 | 126,16 (<0,01) | 12,34 (<0,01) | 2,00 (0,17) | 1,24 (0,29) | 0,21 (0,96) | 4,38 (0,04) | 1,11 (0,35) |

En gras ($p < 0,05$)

Somnolence subjective (KSS)

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil et du traitement sur le score au KSS pour les 5 polymorphismes génétiques ($p < 0,01$) mais aucun effet des polymorphismes n'a été observé (Tableau 27). En comparaison avec 2-h d'éveil continu, le score au KSS était significativement plus élevé dans la condition placebo à 20-h, 26-h et 32-h d'éveil continu (Figure 44 A). Aucun post-hoc n'a montré de significativité en fonction du traitement.

Nous observons une interaction significative entre le polymorphisme d'ADA et la durée d'éveil ($p = 0,03$) (Tableau 27). Pour le polymorphisme d'ADA, en condition placebo, les porteurs du génotype C/C ont un score de somnolence plus élevé que les porteurs du génotype C/G à 14-h, 20-h et 26-h d'éveil continu (Figure 44 B).

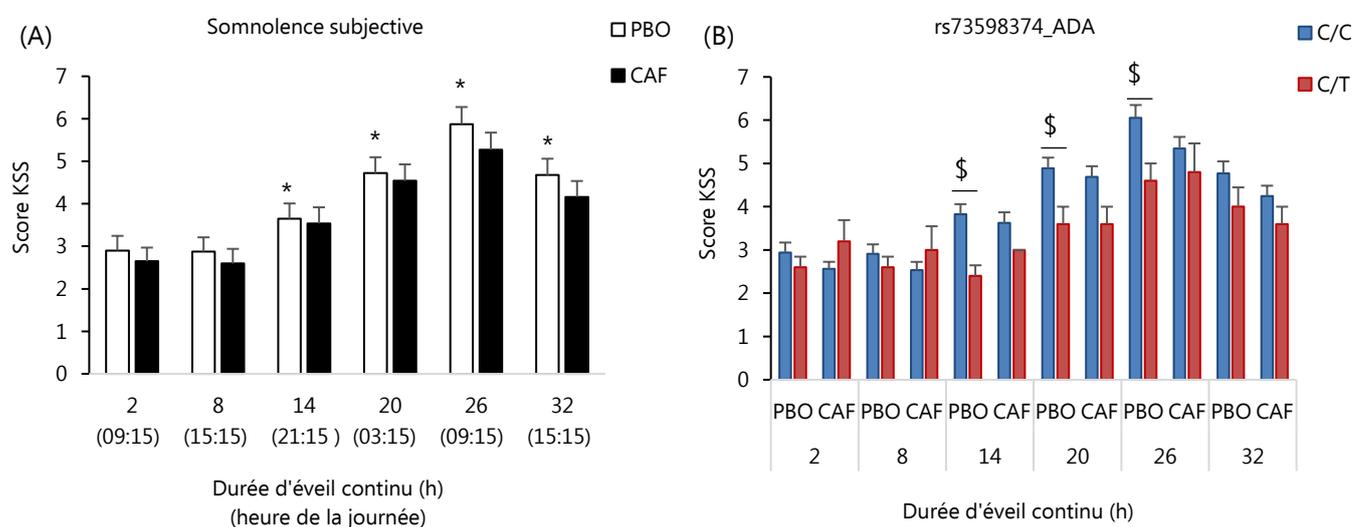


Figure 44. Moyennes des scores de somnolence subjective (Karolinska subjective sleepiness - KSS) évalués toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) (A) et en fonction du polymorphisme de d'ADA (B). La caféine était consommée 45-min avant le PVT de 09 :15 et 15 :15 à J1 et J2. * vs J1, \$ vs génotypes ($p < 0,05$).

Tableau 27. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur le score de l'échelle de somnolence Karolinska (KSS).

| Paramètre KSS | SNPs | Eveil continu (PS) $F_{1,74}$ (p) | Traitement (TRT) $F_{1,35}$ (p) | Polymorphisme (SNP) $F_{1,37}$ (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) $F_{1,36}$ (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) $F_{1,80}$ (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) $F_{1,72}$ (p) | Interaction 3 facteurs (PS x TRT x SNP) $F_{1,72}$ (p) |
|---------------|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|---|
| KSS score | rs1800629_TNF- α | 215,65 (<0,01) | 8,45 (<0,01) | 0,25 (0,62) | 0,94 (0,33) | 1,89 (0,35) | 0,75 (0,39) | 0,48 (0,49) |
| | rs5751876_ADORA2A | 216,57 (<0,01) | 8,45 (<0,01) | 0,40 (0,53) | 0,87 (0,35) | 2,83 (0,09) | 0,76 (0,39) | 0,24 (0,62) |
| | rs73598374_ADA | 217,67 (<0,01) | 9,13 (<0,01) | 2,44 (0,13) | 0,89 (0,35) | 4,62 (0,03) | 3,66 (0,06) | 0,39 (0,53) |
| | rs4680_COMT | 215,95 (<0,01) | 8,36 (<0,01) | 0,02 (0,89) | 0,98 (0,32) | 0,41 (0,52) | 0,38 (0,54) | 1,45 (0,23) |
| | rs228697_PER3 | 216,95 (<0,01) | 8,67 (<0,01) | 2,18 (0,15) | 0,94 (0,33) | 0,02 (0,90) | 1,70 (0,20) | 3,67 (0,06) |

En gras ($p < 0,05$)

Paramètres cardio-vasculaires :

Fréquence cardiaque

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil sur la fréquence cardiaque ($p < 0,01$) mais pas d'effet traitement ni d'interaction (Tableau 28). La fréquence cardiaque semble plus élevée après la privation de sommeil quand elle est comparée aux mêmes heures dans la condition placebo (2-h vs 26-h ou 8-h vs 32-h d'éveil continu) cependant, les post-hocs n'ont pas atteint la significativité ($p > 0,05$). Une interaction significative a été observée entre le polymorphisme de TNF- α et le traitement ($p < 0,01$) (Tableau 28). Cependant, aucun post-hoc n'a atteint la significativité (figure non représentée).

Pression diastolique

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil et du traitement sur la pression diastolique ($p < 0,01$) (Tableau 28). La diastolique augmente significativement en condition caféine par rapport à la condition placebo particulièrement à 2-h, 8-h et 14-h d'éveil continu (09 :15, 15 :15 et 21 :15 à J1) et elle semble augmenter après la privation de sommeil, cependant aucun post-hoc sur la durée d'éveil n'a atteint la significativité (Figure 45). Un effet significatif du polymorphisme a été observé ($p = 0,05$) (Tableau 28). Pour le polymorphisme de TNF- α , nous observons, en condition placebo, que les porteurs de l'allèle A ont une pression diastolique plus élevée que les porteurs du génotype G/G à 14-h (21 :15 à J1) et 26-h (09 :15 à J2) d'éveil continu (Figure 46 A), ainsi qu'à 32-h (15 :15 à J2) d'éveil continu en condition caféine (Figure 46 B).

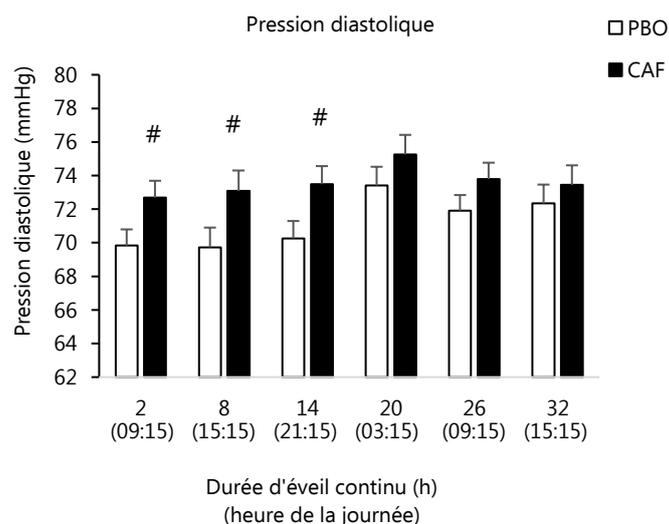


Figure 45. Pression diastolique évaluée toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en condition placebo (PBO) et caféine (CAF). # vs traitements ($p < 0,05$).

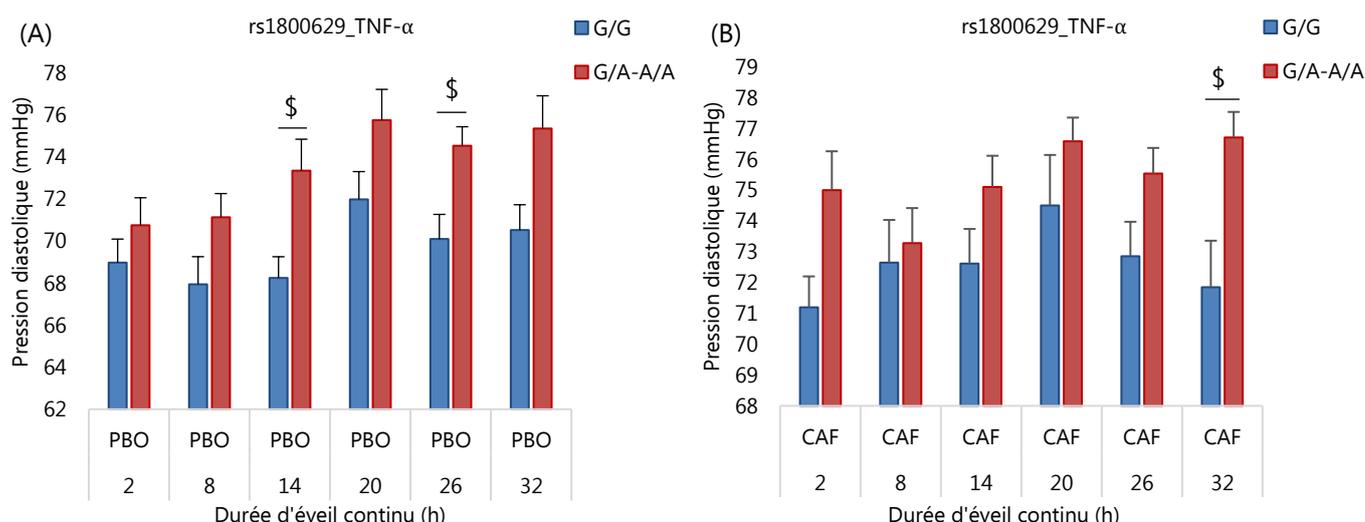


Figure 46. Pression diastolique évaluée toutes les 6-h pendant 38-h d'éveil continu en fonction du polymorphisme de *TNF-α* en condition placebo (PBO) (A) et caféine (CAF) (B). \$ vs génotypes ($p < 0,05$).

Pression systolique

Nous observons un effet significatif de la durée d'éveil et du traitement sur la pression systolique ($p < 0,01$) (Tableau 28). La durée d'éveil continu et la condition caféine semblent augmenter la pression systolique quand elle est comparée aux mêmes heures et à la condition placebo (2-h vs 26-h ou 8-h vs 32-h d'éveil continu) cependant, les post-hocs n'ont pas atteint la significativité ($p > 0,05$).

Tableau 28. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur les paramètres cardio-vasculaires (fréquence cardiaque, pressions diastolique et systolique).

| Paramètres Effets secondaires | SNPs | Eveil continu (PS) $F_{1,74}$ (p) | Traitement (TRT) $F_{1,35}$ (p) | Polymorphisme (SNP) $F_{1,37}$ (p) | Eveil continu x Traitement (PS x TRT) $F_{1,36}$ (p) | Polymorphisme x Eveil continu (SNP x PS) $F_{1,80}$ (p) | Polymorphisme x Traitement (SNP x TRT) $F_{1,72}$ (p) | Interaction 3 facteurs (PS x TRT x SNP) $F_{1,72}$ (p) |
|-------------------------------|-------------------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|---|
| Fréquence cardiaque | rs1800629_TNF-α | 39,96 (<0,01) | 0,80 (0,38) | 0,16 (0,69) | 0,59 (0,71) | 0,48 (0,79) | 9,23 (<0,01) | 1,11 (0,36) |
| | rs5751876_ADORA2A | 40,89 (<0,01) | 0,63 (0,43) | 0,02 (0,90) | 0,56 (0,73) | 2,20 (0,06) | 0,29 (0,59) | 1,20 (0,31) |
| | rs73598374_ADA | 40,20 (<0,01) | 0,63 (0,43) | 1,11 (0,30) | 0,56 (0,73) | 1,73 (0,13) | 0,01 (0,91) | 0,35 (0,88) |
| | rs4680_COMT | 40,16 (<0,01) | 0,65 (0,43) | 0,00 (1,00) | 0,59 (0,71) | 0,66 (0,66) | 1,12 (0,30) | 1,31 (0,26) |
| | rs228697_PER3 | 40,40 (<0,01) | 0,63 (0,43) | 0,33 (0,79) | 0,60 (0,70) | 1,50 (0,19) | 0,01 (0,92) | 0,92 (0,47) |
| Pression diastolique | rs1800629_TNF-α | 6,41 (<0,01) | 17,29 (<0,01) | 4,20 (0,05) | 0,88 (0,50) | 1,58 (0,17) | 0,48 (0,49) | 0,76 (0,58) |
| | rs5751876_ADORA2A | 6,38 (<0,01) | 17,08 (<0,01) | 0,80 (0,38) | 0,92 (0,47) | 1,37 (0,24) | 0,06 (0,80) | 0,59 (0,70) |
| | rs73598374_ADA | 6,40 (<0,01) | 18,64 (<0,01) | 0,75 (0,39) | 0,88 (0,50) | 1,17 (0,32) | 3,16 (0,08) | 1,05 (0,39) |
| | rs4680_COMT | 6,34 (<0,01) | 17,05 (<0,01) | 1,13 (0,30) | 0,91 (0,47) | 0,42 (0,84) | 0,00 (0,99) | 1,07 (0,37) |
| | rs228697_PER3 | 6,37 (<0,01) | 17,23 (<0,01) | 1,34 (0,25) | 0,88 (0,50) | 0,49 (0,78) | 0,35 (0,56) | 1,46 (0,20) |
| Pression systolique | rs1800629_TNF-α | 5,60 (<0,01) | 11,49 (<0,01) | 1,24 (0,27) | 1,67 (0,14) | 1,66 (0,14) | 0,09 (0,77) | 0,34 (0,89) |
| | rs5751876_ADORA2A | 5,67 (<0,01) | 11,78 (<0,01) | 0,73 (0,40) | 1,77 (0,12) | 1,54 (0,18) | 0,95 (0,34) | 1,22 (0,30) |
| | rs73598374_ADA | 5,61 (<0,01) | 11,76 (<0,01) | 0,49 (0,49) | 1,70 (0,13) | 0,84 (0,52) | 0,88 (0,35) | 1,22 (0,30) |
| | rs4680_COMT | 5,58 (<0,01) | 11,74 (<0,01) | 0,27 (0,60) | 1,71 (0,13) | 0,85 (0,52) | 0,84 (0,37) | 0,71 (0,62) |
| | rs228697_PER3 | 5,68 (<0,01) | 11,54 (<0,01) | 1,40 (0,24) | 1,64 (0,15) | 1,37 (0,24) | 0,23 (0,63) | 1,77 (0,12) |

En gras ($p < 0,05$)

V.3.i. Paramètres du sommeil

Nous observons un effet significatif de de la nuit (NT) sur le temps total de sommeil (TST), l'efficacité du sommeil (SEI), sur la latence d'endormissement (SOL), le temps passé en stade 1 (N1), en stade 3 (N3) et en REM ($p < 0,05$). Nous observons également un effet traitement (TRT) sur le temps total de sommeil (TST) et sur le temps d'éveil après endormissement (WASO) ($p < 0,05$) et une interaction nuit x traitement (NT x TRT) sur le temps passé en stade 3 (N3) ($p < 0,02$) (Tableau 29). Aucun effet significatif n'a été observé sur le temps passé en stade 2 (N2). Malheureusement, suite à une perte de nombreuses données du bandeau Dreem[®], uniquement 21 sujets ont été exploités pour réaliser les tests statistiques.

Le temps total de sommeil est significativement augmenté lors de la nuit de récupération (N REC) par rapport à la nuit normale (N0) dans les deux conditions, mais le temps total de sommeil était significativement plus long en condition placebo qu'en condition caféine (Figure 47 A).

Le temps d'éveil après endormissement est significativement plus élevé lors de la nuit de récupération (N REC) en condition caféine qu'en condition placebo (Figure 47 B)

L'efficacité du sommeil est significativement plus élevée lors de la nuit de récupération (N REC) par rapport à la nuit normale (N0) dans les deux conditions (Figure 47 C).

La latence d'endormissement était significativement plus courte en N REC par rapport à la N0 dans les deux conditions (Figure 47 D)

Le temps passé en stade 1 était significativement plus faible en N REC par rapport à N0 dans les deux conditions (Figure 47 E).

Le temps passé en stade 3 était significativement plus élevé en N REC par rapport à N0 dans les deux conditions, cependant, le temps passé en stade 3 en N REC était plus élevé dans la condition placebo que dans la condition caféine (Figure 47 F).

Sur le temps passé en REM, les post-hocs n'ont pas atteint la significativité.

Nous observons une interaction significative entre le polymorphisme de COMT et le traitement sur l'efficacité du sommeil et la latence d'endormissement, ainsi qu'entre le polymorphisme de PER3 et le traitement sur le temps passé en REM (Tableau 29). Cependant, aucun post-hocs n'a atteint la significativité.

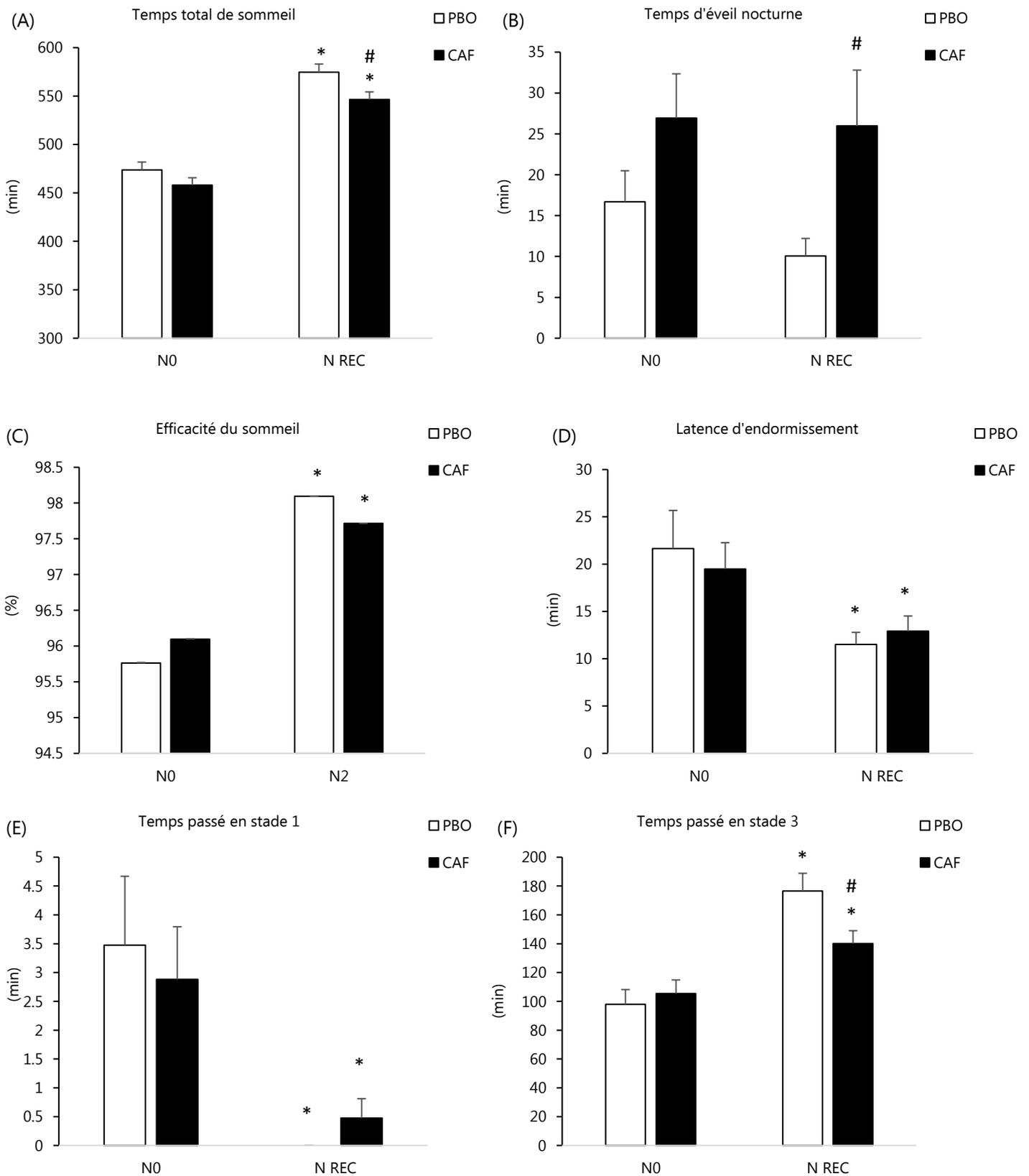


Figure 47. Comparaison entre la nuit normale (N0) et la nuit de récupération (N REC) après 38-h d'éveil continu, en condition placebo (PBO) et caféine (CAF) pour le temps total de sommeil (TST) (A), la fréquence cardiaque nocturne (FC nocturne) (B), la latence d'endormissement (SOL) (C), la latence en N3 (SOL N3) (D). * vs nuit normale, # vs placebo ($p < 0,05$)

Tableau 29. Analyse ANOVA des polymorphismes génétiques (SNP) en interaction avec la durée d'éveil (PS) et le traitement (TRT) sur les paramètres du sommeil.

| Paramètres Sommeil | SNPs | Nuits NT F _{1,74} (p) | Traitement TRT F _{1,35} (p) | Polymorphisme SNP F _{1,37} (p) | Nuits x Traitement NT x TRT F _{1,37} (p) | Nuits x Polymorphisme NT x SNP F _{1,80} (p) | Traitement x Polymorphisme TRT x SNP F _{1,72} (p) | Interaction 3 facteurs (SNP x NT x TRT) F _{1,72} (p) |
|--------------------|-------------------------|-----------------------------------|---|--|--|---|---|--|
| TST | rs1800629_TNF- α | 169,30 (<0,01) | 14,89 (<0,01) | 0,09 (0,77) | 0,73 (0,40) | 1,18 (0,28) | 3,36 (0,08) | 0,21 (0,65) |
| | rs5751876_ADORA2A | 164,40 (<0,01) | 14,20 (<0,01) | 0,00 (0,95) | 0,71 (0,41) | 0,23 (0,63) | 2,32 (0,14) | 0,02 (0,89) |
| | rs73598374_ADA | 166,18 (<0,01) | 14,07 (<0,01) | 0,21 (0,65) | 0,72 (0,40) | 0,62 (0,44) | 2,12 (0,16) | 0,05 (0,83) |
| | rs4680_COMT | 164,90 (<0,01) | 14,77 (<0,01) | 0,86 (0,36) | 0,73 (0,40) | 1,53 (0,22) | 3,17 (0,09) | 0,01 (0,94) |
| | rs228697_PER3 | 174,86 (<0,01) | 12,70 (<0,01) | 1,12 (0,30) | 0,75 (0,39) | 2,41 (0,13) | 0,00 (0,95) | 0,27 (0,61) |
| WASO | rs1800629_TNF- α | 0,61 (0,44) | 7,92 (0,01) | 1,77 (0,20) | 0,34 (0,56) | 1,55 (0,22) | 0,30 (0,59) | 2,05 (0,16) |
| | rs5751876_ADORA2A | 0,57 (0,46) | 8,08 (0,01) | 0,03 (0,86) | 0,32 (0,58) | 0,00 (0,99) | 0,70 (0,41) | 0,43 (0,52) |
| | rs73598374_ADA | 0,61 (0,44) | 8,53 (0,01) | 0,88 (0,36) | 0,34 (0,56) | 2,76 (0,10) | 1,79 (0,20) | 0,82 (0,37) |
| | rs4680_COMT | 0,57 (0,46) | 8,08 (0,01) | 0,05 (0,83) | 0,32 (0,58) | 0,36 (0,55) | 0,70 (0,41) | 0,19 (0,66) |
| | rs228697_PER3 | 0,57 (0,45) | 8,06 (0,01) | 2,29 (0,15) | 0,32 (0,57) | 0,00 (0,97) | 0,63 (0,44) | 0,87 (0,36) |
| SEI | rs1800629_TNF- α | 18,46 (<0,01) | 0,01 (0,94) | 1,70 (0,21) | 0,60 (0,44) | 1,93 (0,17) | 0,61 (0,45) | 1,21 (0,28) |
| | rs5751876_ADORA2A | 19,81 (<0,01) | 0,01 (0,94) | 1,02 (0,32) | 0,65 (0,43) | 2,12 (0,15) | 1,45 (0,24) | 4,05 (0,06) |
| | rs73598374_ADA | 17,51 (<0,01) | 0,01 (0,94) | 0,79 (0,38) | 0,57 (0,45) | 0,49 (0,49) | 0,41 (0,53) | 0,55 (0,46) |
| | rs4680_COMT | 18,85 (<0,01) | 0,01 (0,91) | 0,32 (0,58) | 0,62 (0,44) | 0,02 (0,88) | 18,60 (<0,01) | 3,99 (0,06) |
| | rs228697_PER3 | 17,50 (<0,01) | 0,01 (0,94) | 0,12 (0,73) | 0,57 (0,45) | 0,03 (0,87) | 0,06 (0,80) | 0,98 (0,33) |
| SOL | rs1800629_TNF- α | 12,99 (<0,01) | 0,06 (0,81) | 1,80 (0,20) | 0,58 (0,45) | 1,48 (0,23) | 0,94 (0,34) | 0,87 (0,36) |
| | rs5751876_ADORA2A | 14,18 (<0,01) | 0,06 (0,81) | 0,90 (0,36) | 0,64 (0,43) | 2,60 (0,11) | 1,53 (0,23) | 3,45 (0,07) |
| | rs73598374_ADA | 12,50 (<0,01) | 0,06 (0,81) | 0,79 (0,39) | 0,56 (0,46) | 0,19 (0,67) | 0,05 (0,82) | 0,63 (0,43) |
| | rs4680_COMT | 13,33 (<0,01) | 0,10 (0,75) | 0,52 (0,48) | 0,60 (0,44) | 0,01 (0,92) | 16,20 (<0,01) | 3,40 (0,07) |
| | rs228697_PER3 | 12,52 (<0,01) | 0,06 (0,81) | 0,22 (0,65) | 0,56 (0,46) | 0,08 (0,77) | 0,04 (0,85) | 0,80 (0,38) |
| N1 | rs1800629_TNF- α | 14,57 (<0,01) | 0,01 (0,91) | 0,27 (0,61) | 0,48 (0,49) | 1,22 (0,28) | 1,53 (0,23) | 0,13 (0,72) |
| | rs5751876_ADORA2A | 15,13 (<0,01) | 0,02 (0,90) | 0,70 (0,42) | 0,50 (0,48) | 1,69 (0,20) | 4,56 (0,46) | 1,19 (0,28) |
| | rs73598374_ADA | 14,07 (<0,01) | 0,01 (0,91) | 0,09 (0,76) | 0,47 (0,50) | 0,02 (0,89) | 0,12 (0,73) | 0,00 (0,99) |
| | rs4680_COMT | 15,14 (<0,01) | 0,01 (0,91) | 2,01 (0,17) | 0,50 (0,48) | 2,87 (0,10) | 0,18 (0,68) | 0,04 (0,84) |
| | rs228697_PER3 | 15,02 (<0,01) | 0,01 (0,91) | 2,17 (0,16) | 0,50 (0,48) | 2,50 (0,12) | 0,00 (0,96) | 0,08 (0,77) |
| N2 | rs1800629_TNF- α | 2,46 (0,13) | 0,08 (0,79) | 0,00 (0,95) | 2,70 (0,11) | 0,00 (0,96) | 2,91 (0,10) | 0,66 (0,42) |
| | rs5751876_ADORA2A | 2,46 (0,13) | 0,07 (0,80) | 0,04 (0,85) | 2,70 (0,11) | 0,43 (0,52) | 0,01 (0,93) | 0,24 (0,63) |
| | rs73598374_ADA | 2,45 (0,13) | 0,07 (0,80) | 1,33 (0,26) | 2,70 (0,11) | 0,38 (0,54) | 0,49 (0,49) | 0,19 (0,67) |
| | rs4680_COMT | 2,47 (0,12) | 0,07 (0,80) | 1,82 (0,19) | 2,72 (0,11) | 0,83 (0,37) | 0,00 (0,99) | 0,10 (0,76) |
| | rs228697_PER3 | 2,49 (0,12) | 0,08 (0,79) | 0,02 (0,89) | 2,73 (0,11) | 0,20 (0,66) | 3,12 (0,09) | 0,93 (0,34) |
| N3 | rs1800629_TNF- α | 64,30 (<0,01) | 2,45 (0,13) | 0,42 (0,52) | 9,66 (<0,01) | 0,82 (0,37) | 0,07 (0,80) | 0,19 (0,67) |
| | rs5751876_ADORA2A | 63,88 (<0,01) | 2,49 (0,13) | 0,02 (0,89) | 9,60 (<0,01) | 0,72 (0,40) | 0,38 (0,54) | 0,04 (0,85) |
| | rs73598374_ADA | 69,67 (<0,01) | 2,57 (0,13) | 0,34 (0,57) | 10,47 (<0,01) | 3,11 (0,09) | 1,02 (0,33) | 1,16 (0,29) |
| | rs4680_COMT | 63,75 (<0,01) | 2,45 (0,13) | 2,86 (0,11) | 9,58 (<0,01) | 0,66 (0,42) | 0,11 (0,75) | 0,01 (0,92) |
| | rs228697_PER3 | 68,18 (<0,01) | 2,51 (0,13) | 0,00 (0,97) | 10,24 (<0,01) | 1,60 (0,21) | 0,55 (0,47) | 1,76 (0,19) |
| REM | rs1800629_TNF- α | 4,79 (0,03) | 0,16 (0,69) | 0,59 (0,45) | 0,11 (0,74) | 0,03 (0,87) | 0,17 (0,68) | 0,79 (0,38) |
| | rs5751876_ADORA2A | 4,74 (0,04) | 0,16 (0,70) | 0,03 (0,87) | 0,11 (0,74) | 0,01 (0,92) | 0,07 (0,79) | 0,46 (0,50) |
| | rs73598374_ADA | 4,84 (0,03) | 0,16 (0,69) | 0,14 (0,72) | 0,12 (0,74) | 1,08 (0,30) | 0,33 (0,57) | 0,14 (0,71) |
| | rs4680_COMT | 4,73 (0,04) | 0,17 (0,68) | 0,23 (0,64) | 0,11 (0,74) | 0,29 (0,59) | 1,47 (0,24) | 0,11 (0,74) |
| | rs228697_PER3 | 4,99 (0,03) | 0,20 (0,66) | 0,19 (0,67) | 0,12 (0,73) | 2,40 (0,13) | 5,53 (0,03) | 0,04 (0,84) |

En gras (p<0,05)

V.4. Discussion

Les résultats principaux de cette étude montrent (i) une dégradation des performances induites par la privation totale de sommeil, (ii) un effet de la caféine qui permet de limiter cette dégradation des performances et plus particulièrement des performances cognitives, des performances de conduite et de tir, (iii) des polymorphismes génétiques de TNF- α , ADORA2A, ADA, COMT et PER3 impliqués dans la réponse à la privation totale de sommeil et/ou des effets de la caféine.

V.4.a. Effet de la privation de sommeil

Comme attendu, nos résultats ont montré un effet majeur de la privation de sommeil sur les différents paramètres évalués dans cette étude, bien que l'effet de la privation de sommeil sur les performances physiques reste très limité.

Attention soutenue

Nos résultats ont montré une dégradation des performances de l'attention soutenue liée à la privation totale de sommeil, montrant l'influence du processus homéostatique du sommeil qui augmente au cours de la période d'éveil (Doran et al., 2001). Cette dégradation des performances est illustrée par une augmentation du nombre de lapses et une diminution de la vitesse sur le PVT évaluant l'attention soutenue (Arnal et al., 2015 ; Sauvet et al., 2020).

Performances physiques

Dans cette étude, aucune différence significative n'a été observée après la privation totale de sommeil que ce soit sur les paramètres évalués de la détente verticale ou pour les paramètres évalués de l'épreuve charge-vitesse. Seule une augmentation de la perception de l'effort après la privation totale de sommeil a été observée. L'augmentation de la perception de l'effort semble être l'une des raisons probables de la dégradation des performances physiques observée dans d'autres études (Arnal et al., 2016a). Souissi et al. (2003) ont observé que la P_{max} , le V_0 , et la F_0 lors d'un test de force-vitesse ne diminuent pas après 24 heures d'éveil continu mais plutôt après 36 heures (Souissi et al., 2003). Dans notre étude, les évaluations de performances physiques étaient effectuées entre 33-h et 34-h d'éveil continu, ce qui pourrait expliquer l'absence de nos résultats. La privation partielle de sommeil semble dégrader la performance de la détente verticale en contre mouvement (CMJ) mais pas celle de la détente verticale en squat (SJ), ce qui peut être expliqué par une sensibilité plus accrue du CMJ à la fatigue neuromusculaire par rapport au SJ (Daaloul et al., 2018). Cependant, comme pour nos résultats, toutes

les études n'observent pas d'effet de la privation totale de sommeil sur les performances de détente verticale (Moore et al., 2018).

Performances de conduite et de tir

Dans notre étude, des augmentations du nombre de franchissements inappropriés de ligne et de la déviation standard de la conduite sur simulateur ont été observées, confirmant d'autres études (Sagaspe et al., 2008 ; Rupp et al., 2004). La conduite sur simulateur a été corrélée avec les capacités de maintien d'éveil chez des sujets en dette chronique de sommeil (Sagaspe et al., 2007). Pour la performance en tir, nos résultats ont montré un effet significatif de la privation de sommeil, mais les post-hocs n'ont pas atteint la significativité ($p=0,06$). Il a été décrit que la performance au tir est dégradée mais après 73 heures de privation totale de sommeil combinée à d'autres conditions de stress (Tharion et al., 2003).

Effets secondaires

Les résultats confirment l'augmentation de la somnolence et de la fatigue subjective induites par la privation de sommeil (Åkerstedt et Guillberg, 1990 ; Arnal et al., 2015 ; Sauvet et al., 2020). Malgré les effets significatifs des ANOVAs sur les paramètres cardiovasculaires et les symptômes de nausées et de maux d'estomac, aucun post-hoc n'a atteint la significativité. Une augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression systolique a pourtant été décrite après une privation totale de sommeil (Sauvet et al. 2010). L'augmentation des troubles gastro-intestinaux, des nausées, et douleurs a plutôt été décrite mais sur de la dette chronique de sommeil (Cremonini et al., 2009).

Paramètres du sommeil

Dans notre étude, la privation totale de sommeil a entraîné des modifications électrophysiologiques sur le sommeil de récupération en comparaison à la nuit avant privation de sommeil. Nous avons confirmé la diminution de la latence d'endormissement et du temps passé en stade 1 ainsi que l'augmentation du temps total de sommeil, de l'efficacité du sommeil et du temps passé en stade 3 (signe de rebond de sommeil) observée précédemment (Arnal et al., 2015). Ce stade 3 est particulièrement connu pour être sous la régulation homéostatique (Dijk, 2009).

V.4.b Effet de la caféine

Dans notre étude, la prise de 2,5 mg/kg de caféine par dose (2 x 2,5 mg/kg/j) a permis de limiter la dégradation des performances, particulièrement sur celles d'attention soutenue, de conduite et de tir. Aucun effet de la caféine n'a été observé sur les performances physiques.

Attention soutenue

Les effets de la caféine ont permis de limiter la dégradation des performances au PVT mais pas de l'effacer. En effet, la caféine va avoir un effet éveillant sur les performances au PVT en limitant : l'augmentation du nombre de lapses (Hansen et al., 2018 ; Spaeth et al., 2014), et la diminution de la vitesse (Wesensten et al., 2005). La caféine, qu'elle soit consommée à fortes doses (600 mg) (Wesensten et al., 2005), à dose modérée (200-300 mg) (Hansen et al., 2018) ou à faibles doses répétées (0,3mg/kg/h) va limiter la dégradation des performances au PVT induite par la privation totale de sommeil. Killgore et al. (2020) ont montré que la consommation répétée de 200 mg toutes les 2-h la nuit (total de 800 mg/nuit) a permis de limiter la dégradation de l'attention durant 77-h d'éveil continu mais elle ne restaure pas la performance normale pendant la privation (Killgore et al., 2020). Il est émise l'hypothèse qu'au cours de l'éveil continu, l'accumulation d'adénosine augmente et que la dose de caféine utilisée pourrait être insuffisante pour bloquer les récepteurs de l'adénosine ou que la consommation de dose répétée de caféine pourrait entraîner une régulation positive des récepteurs à l'adénosine et le développement d'une tolérance à la caféine (Killgore et al., 2020).

Performances physiques et perception de l'effort

Nos résultats ne montrent aucun effet de la caféine sur les performances physiques ou sur la perception à l'effort. Ce défaut de résultat peut être expliqué par l'absence d'une dégradation des performances physiques par la privation de sommeil, et également par la quantité limitée de caféine. En effet, dans une revue, une forte dose de caféine (comprise entre 8,0 mg/kg et 10,7 mg/kg) ou une dose de 2,7 mg/kg répétée toutes les 2-h pendant une privation totale de sommeil est nécessaire pour observer un effet efficace de la caféine sur différentes performances physiques comme l'exercice d'endurance ou anaérobie (McLellan et al., 2016). De plus, la caféine était consommée 1h30 avant le début des tests de performances physiques, alors que le pic d'efficacité de la caféine est généralement observé environ 30 min à 1-h après absorption, ce qui pourrait en limiter ses effets.

Performances de conduite et de tir

Nos résultats ont montré un effet de la caféine sur les paramètres évalués de la conduite sur simulateur. Une limitation de la dégradation des performances sur le nombre de franchissements de lignes inappropriés et sur la déviation standard est observée même 15-h après la dernière consommation de caféine. Il est connu que les conducteurs routiers, particulièrement la nuit, consomment de la caféine pendant leur pause avant de reprendre la route. La consommation de caféine permet de diminuer le nombre de franchissements de ligne (Horne et Reyner., 1996), mais également de maintenir le véhicule au centre de la voie (Biggs et al., 2007).

Dans notre étude, le tir et la performance de conduite sont effectués à environ 8-h et 15-h après la dernière consommation de caféine. Nous avons observé un effet de la caféine sur la performance au tir avec une meilleure performance pendant la privation de sommeil. Lieberman et al. (2002) ont observé des effets de la caféine (300 mg) qui persistaient jusqu'à 8-h après sa consommation. Cet effet prolongé de la caféine peut potentiellement être expliqué par l'accumulation de la caféine ($2 \times 2.5\text{mg/kg}$), par sa consommation avec le repas, ou encore par le rythme circadien. Les cytochromes P450 sont particulièrement impliqués dans le métabolisme de la caféine et eux-mêmes sont modulés par les variations circadiennes (Kosir et al., 2013). La caféine va amener une modification dans le rythme circadien, ce qui va entraîner un changement dans le modèle d'expression pour le cytochrome P450. Cette modification de l'expression du cytochrome P450 va induire potentiellement un prolongement des effets de la caféine (Temple et al., 2017). De plus, la demi-vie de la caféine peut être également modulée par différents facteurs comme la prise de caféine pendant un repas (Nehlig, 2018). Dans notre étude, la caféine a été consommée à 8:30 pendant une prise alimentaire (petit-déjeuner) et à 14 :30 après un repas, le premier jour et le deuxième jour. Nous pouvons émettre l'hypothèse que la caféine, dans notre étude, a eu une durée de demi-vie augmentée ce qui pourrait expliquer que les effets éveillant de la caféine persistent jusqu'à 15-h après sa consommation.

Effets secondaires

Dans notre étude, nous observons un effet de la caféine sur la somnolence et sur les paramètres cardiovasculaires. La caféine a aussi permis de diminuer les maux de tête et la fatigue pendant la privation de sommeil. Dans notre étude, la population étudiée consomme en moyenne 247 ± 23 mg de caféine par jour et n'a pas eu d'abstinence à la caféine excepté pendant la condition placebo. Des consommateurs habituels de caféine, après 24-h d'abstinence de caféine ressentent habituellement des maux de tête (Juliano et Griffiths., 2004). Il est donc possible que dans notre étude, l'arrêt de la consommation de caféine en condition placebo ait pu augmenter la perception de maux de tête, bien

que non significatif, et que la caféine ait réduit cette sensation. De plus, nos résultats ont montré un effet de la caféine sur la fatigue et la somnolence, cependant, bien qu'on aperçoive une diminution de la somnolence subjective en condition caféine, les post-hocs n'ont pas atteint la significativité. Il est connu que la caféine est une contremesure à l'augmentation de la somnolence et de la fatigue liées à la dette de sommeil, à l'inertie du sommeil, au rythme circadien ou encore à l'effet temps passé à la tâche (Spaeth et al., 2014). Ces symptômes restent cependant des évaluations subjectives et peuvent être également liés à d'autres facteurs.

De plus, nous observons une augmentation de la pression diastolique en condition caféine, par rapport à la condition placebo et en période reposée du sujet (entre 2-h à 14-h d'éveil continu). Les post-hocs sur la pression systolique n'ont pas atteint la significativité et aucun effet de la caféine n'a été observé sur la fréquence cardiaque. Il a été montré que la consommation de caféine était associée à une augmentation de la pression sanguine (Green et al., 1996). Comme pour nos résultats, Green et al. (1996) montrent que la consommation de caféine va induire une augmentation de la pression diastolique, la journée et la nuit, et une augmentation de la pression systolique, uniquement pendant la journée, avec aucun effet sur la fréquence cardiaque. Ces résultats démontrent bien une implication de la caféine dans le système cardiovasculaire.

Paramètres du sommeil

Dans notre étude, le temps total de sommeil et le temps passé en stade 3 en nuit de récupération, après la privation totale de sommeil, était plus court en condition caféine qu'en condition placebo, alors que le temps d'éveil pendant la nuit de récupération était plus long en condition caféine qu'en condition placebo. Il a été déjà observé que la prise de caféine atténue la puissance spectrale du NREM lors d'une nuit de récupération après une dette de sommeil (Rétey et al., 2006), ce qui est également observé dans notre étude. Il est connu que la consommation de caféine est associée avec une réduction du temps total de sommeil (Chaudhary et al., 2016) et du temps passé en sommeil lent, mais également une augmentation du temps d'éveil après endormissement (Nicholson et Stone, 1980) qui peut être expliqué par son action antagoniste des récepteurs ADORA2A : la caféine bloque l'accès de l'adénosine à ces récepteurs et retarde ainsi le sommeil.

V.4.c Effet des polymorphismes génétiques

Dans notre étude, nous avons sélectionné 5 SNPs précédemment identifiés comme mécanismes génétiques potentiels de vulnérabilité à la privation de sommeil et/ou à la caféine : la cytokine pro-inflammatoire TNF- α , impliquée dans le système immunitaire et en lien avec le sommeil, ADORA2A et ADA, les gènes liés à l'adénosine, PER3, le gène circadien et COMT le gène de la catéchol-O-méthyltransférase, une enzyme qui dégrade les catécholamines (Tkachenko et Dingess, 2018 ; Bodenmann et al., 2012 ; Satterfield et al., 2015 ; Mazzotti et al., 2011)

Dans notre étude, le polymorphisme de TNF- α a été particulièrement associé à la modulation des performances neurocomportementales en réponse à la privation totale de sommeil et à la prise de caféine, à la réponse cardiovasculaire, et à la durée d'éveil nocturnes. L'influence du polymorphisme d'ADORA2A a été observée uniquement sur les performances neurocomportementales en réponse à la privation totale de sommeil. Le polymorphisme d'ADA influence la somnolence subjective. L'influence du polymorphisme de COMT a été observé uniquement sur les performances de tir. Enfin, le polymorphisme de PER3 a été associé à la modulation des performances neurocomportementales en réponse à la privation totale de sommeil, à la performance de conduite mais également à la sensation de fatigue.

Attention soutenue et EEG

Concernant le nombre de lapses, nous observons une interaction du polymorphisme de TNF- α avec le traitement et la durée d'éveil, et d'ADORA2A avec la durée d'éveil. Concernant la vitesse, TNF- α et ADA interagissent avec la durée d'éveil et PER3 avec le traitement. Cependant, pour les polymorphismes de TNF- α et d'ADA, les post hocs n'ont pas atteint la significativité sur la vitesse au PVT. Le polymorphisme de COMT n'est associé ni à la modulation des performances d'attention soutenue ni à la consommation de caféine.

Le polymorphisme de TNF- α (rs1800629) altère l'activité transcriptionnelle du gène TNF- α (Wilson et al., 1997) et augmente la production stimulée (par du LPS) de TNF- α dans des cellules de sang total chez des sujets sains (Louis et al., 1998). TNF- α a été suggéré comme cause d'instabilité cognitive, observée par une augmentation des déficits d'attention au PVT (Jewett et al., 2012). Nous avons précédemment montré une augmentation du nombre de lapses à partir de 24-h d'éveil continu et des taux sanguin de TNF- α après 36-h d'éveil continu chez des sujets sains (Arnal et al., 2015 ; Chennaoui et al., 2011).

Dans notre étude, le polymorphisme de TNF- α interagit significativement avec la durée d'éveil et la caféine seulement sur le nombre de lapses, mais les post-hocs ne donnent pas de différences significatives entre les génotypes pendant la privation totale de sommeil quelle que soit la condition caféine ou placebo. Cependant, un effet significatif de la caféine pendant la privation de sommeil a été observé. Les porteurs de l'allèle A ont un effet atténuant de la caféine sur la dégradation des performances lors de quatre tests PVT pendant la privation de sommeil alors que cet effet est présent uniquement sur deux tests pour les porteurs du génotype G/G. Cela suggère que les porteurs de l'allèle A bénéficient davantage de l'effet stimulant de la caféine que les porteurs du génotype G/G probablement parce qu'ils semblent plus dégradés, mais leurs performances n'en sont pas meilleures pour autant.

Concernant la vitesse du PVT, le polymorphisme du TNF- α interagit significativement uniquement avec l'éveil mais sans post-hoc significatif. Nos résultats sur les performances au PVT contredisent en partie ceux de Satterfield et al. (2015) qui montrent que les porteurs du génotype TNF- α G/G sont plus vulnérables à la privation de sommeil que les porteurs de l'allèle A. Néanmoins, ils n'ont pas étudié l'interaction avec l'administration de la caféine comme nous l'avons fait. D'un autre côté, Satterfield et al. (2015) n'ont trouvé aucun effet du polymorphisme de TNF- α sur la vitesse de traitement cognitif au PVT en utilisant le temps de réaction médian. De plus, dans leur étude, les sujets étaient sevrés de la caféine dans la semaine précédant chaque expérience de laboratoire, alors que nous avons fait le choix de ne pas priver nos sujets de caféine avant la privation de sommeil afin d'être le plus proche possible des conditions réelles. Or, il faut généralement un à deux mois de retrait de caféine chez les consommateurs réguliers pour créer un "profil de non-consommateur" (Dager et al., 1999).

Dans notre étude, nous n'avons pas de différence significative sur la consommation habituelle de caféine entre les génotypes de TNF- α . Nous pouvons donc suggérer dans l'étude Satterfield et al. (2015) que les consommateurs réguliers de caféine peuvent avoir présenté des symptômes de sevrage susceptibles de modifier leur réponse neurocomportementale à la privation de sommeil (Rogers et al., 2012). La variance des écarts de PVT n'étant que de 6,4% pour le polymorphisme du TNF- α (Satterfield et al., 2015), l'effet de la consommation habituelle de caféine et du sevrage peut avoir été plus prononcé sur les réponses à la privation de sommeil que la variabilité induite par le polymorphisme du TNF- α . Une autre explication de la différence de nos résultats de Satterfield et al. (2015) peut être la méthode de génotypage du TNF- α rs1800629. Dans notre étude, ce génotypage a été réalisé en double avec deux méthodes, la méthode LAMP-MC et la méthode Taqman de référence, et la concordance était élevée (Drogou et al., 2020). Les fréquences des génotypes dans notre étude ont été comparées et sont

cohérentes à la base internationale de données 1000 Genomes Project (Auton et Salcedo., 2015), alors qu'elles ont uniquement été comparées à des études antérieures chez Satterfield et al. (2015).

L'analyse de la distribution topographique de la puissance EEG lors du test PVT à 9h15 du matin après 24 heures d'éveil (J2 / J1) a montré une activation thêta plus élevée chez les porteurs de l'allèle A par rapport aux porteurs du génotype G/G dans les conditions placebo et caféine. De plus, le rapport thêta-sur-alpha en réponse à la privation de sommeil (c'est-à-dire à J2) est plus élevé dans la région centro-temporale, dans la condition placebo uniquement. Ce résultat illustre également la sensibilité des porteurs de l'allèle A à la privation de sommeil, liée à l'augmentation de la somnolence pendant le test PVT. Nos résultats ont confirmé qu'une augmentation de l'activité thêta peut être la principale cause des lapses après la privation de sommeil comme décrit précédemment (Gorgoni et al., 2014). Ceci est renforcé par la corrélation positive observée entre la fréquence thêta dans la région centro-temporale et le nombre de lapses après 24 heures de privation de sommeil pour les cinq polymorphismes et quelle que soit la condition placebo ou caféine.

Dans notre étude, nous avons montré que les porteurs de l'allèle A semblent être plus sensibles que les porteurs du génotype ancestral G/G aux effets atténuant de la caféine sur les troubles neurocomportementaux liés à la privation de sommeil. Cette observation est expliquée uniquement parce qu'ils semblent plus dégradés, mais ils ne fonctionnent pas mieux en conséquence. Comme il a été démontré que des concentrations de caféine, correspondant à une consommation appropriée pour l'humain, suppriment systématiquement la production de TNF- α dans le sang humain (Horrigan et al., 2004), il serait prudent de considérer la génétique du TNF- α face à la privation de sommeil. Nos résultats soulignent également la nécessité d'évaluer l'expression de la protéine TNF- α dans le sang en fonction des sous-groupes de génotypes de rs1800629 TNF- α , ainsi que ses changements en réponse à la privation de sommeil et à la prise de caféine.

Le rôle des récepteurs A2A est prédominant dans la régulation du sommeil et la caféine favorise l'éveil principalement en les antagonisant dans le cerveau. L'influence génétique du gène ADORA2A, codant pour le récepteur A2A, sur les performances neurocomportementales et l'EEG du sommeil pendant la privation de sommeil associée à l'administration de caféine n'a été décrite que par l'analyse des haplotypes (Bodenmann et al., 2012). Nous avons précédemment indiqué une expression accrue de l'ARNm des récepteurs A2A après une privation totale de sommeil dans les leucocytes de sujets sains et une augmentation du nombre de lapses au PVT (Arnal et al., 2015, Chennaoui et al., 2017). Dans notre étude et pour les lapses au PVT uniquement, le SNP ADORA2A rs5751876 interagit de manière significative avec l'éveil mais pas avec la caféine. Les porteurs de l'allèle T font plus de lapses à 32-h

d'éveil continu en condition placebo. Nous faisons l'hypothèse que les porteurs de l'allèle T présentent des différences structurelles de leurs récepteurs A2A par rapport à ceux des porteurs de génotypes C/C, les rendant ainsi sensibles à une veille prolongée. Dans tous les cas, nos résultats semblent difficiles à comparer avec ceux de Bodenmann et al. (2012) qui montrent que l'haplotype appelé porteurs « HT4 » (qui comprenait l'allèle rs5751876 T) était plus rapide que les non-HT4 sur la vitesse au PVT pendant la privation totale de sommeil et semblent résistants à l'effet éveillant de la caféine sur la détérioration des performances du PVT.

Notre étude épidémiologique sur 1023 participants a montré que l'influence du polymorphisme ADORA2A sur le temps de total sommeil quotidien n'est présent que chez les sujets consommant habituellement peu de caféine (0-50 mg / jour) : les porteurs de génotypes C/C dormant plus que les porteurs de l'allèle T (Erblang et al., 2019). Dans cette étude, nous avons suggéré que les porteurs de génotypes C/C semblent être très sensibles à la consommation de caféine et que leur temps de sommeil quotidien sera similaire à celui des porteurs d'allèle T dès que leur consommation quotidienne de caféine dépassera 50 mg/jour (environ un expresso par jour). Dans notre protocole de privation de sommeil sur 41 sujets, bien que les porteurs du génotype C/C montrent une consommation quotidienne de caféine significativement plus faible que les porteurs d'allèle T (177 mg/jour vs 293), ces 177 mg/jour sont de loin inférieurs à l'administration de caféine pendant le protocole expérimental (350 mg avec deux administrations). Ainsi, les porteurs C/C peuvent avoir eu un effet important dès 350 mg de la caféine sur la pression du sommeil par rapport aux porteurs de l'allèle T pendant la privation totale de sommeil, leur permettant d'être moins dégradés.

Nos résultats ont mis en évidence une activation plus élevée de la puissance thêta sur la distribution topographique de l'EEG après 24 heures de privation de sommeil chez les porteurs de l'allèle T que chez les homozygote C/C dans la condition placebo, qui indique la somnolence. Cependant, le polymorphisme ADORA2A n'a interagi ni avec l'éveil ni avec la caféine pour l'activation thêta-sur-alpha liée à la privation de sommeil dans la région cérébrale centro-temporale.

Dans notre étude l'absence d'interaction du polymorphisme ADORA2A avec la caféine souligne que d'autres polymorphismes pourraient être impliqués. En effet, une étude récente démontre que c'est le polymorphisme de CYP1A2 et pas celui d'ADORA2A qui influence l'effet de la caféine sur les performances cognitives au PVT chez des adultes en bonne santé faisant de l'exercice (Carswell et al., 2020). Il serait donc intéressant d'effectuer d'autres études sur l'influence du polymorphisme du CYP1A2 sur les réponses neurocomportementales à la privation de sommeil.

Il est connu que PER3 est un gène circadien qui est fortement associé aux préférences diurnes, à l'humeur et aux niveaux d'anxiété (Archer et al., 2018 ; Liberman et al., 2018). Il module les caractéristiques du sommeil, et en conséquence, les performances pendant l'éveil (Viola et al., 2007). Il a été démontré qu'il interagit avec l'homéostasie du sommeil et la phase circadienne pendant les réponses cérébrales fonctionnelles à une tâche exécutive (Vandewalle et al., 2009). Dans notre étude, le polymorphisme de PER3 rs228697 est en interaction significative avec le traitement à la caféine sur les lapses et la vitesse au PVT. Dans le cas de la caféine par rapport au placebo, les porteurs du génotype C/C ont effectué moins de lapses à 14, 20 et 32 heures d'éveil continu et étaient plus rapides (à 26 heures), tandis que la significativité pour les porteurs de l'allèle G était uniquement à 20-h. Cela peut suggérer un effet plus important de la caféine chez les porteurs C/C, tandis que l'effet plus faible de la caféine chez les porteurs de l'allèle G peut être lié à leur niveau d'anxiété plus élevé que celui des porteurs C/C trouvés dans une grande population étudiante (Liberman et al., 2018). Les informations supplémentaires que nous pouvons fournir sur les indices de somnolence au réveil sont la puissance EEG de la bande de fréquence thêta qui était plus élevée après 24 heures de privation de sommeil chez les porteurs de l'allèle G que dans les porteurs du génotype C/C en condition placebo.

Les principales conclusions concernant l'influence du polymorphisme PER3 sur les performances cognitives des individus en bonne santé soumis à une privation aiguë de sommeil de 40 heures concernaient le polymorphisme VNTR (rs57875989) PER3^{4/4} et le PER3^{5/5} (Maire et al., 2014), et il n'y a pas de données à notre connaissance sur l'influence combinée de la caféine pendant la privation totale de sommeil. Les individus avec le génotype 5/5 ont plus de difficulté à maintenir leurs performances au PVT que ceux du génotype 4/4, avec une pression de sommeil homéostatique élevée liée à la veille prolongée (Maire et al., 2014). Le polymorphisme VNTR (variable number tandem repeat) correspond à des séquences du génome répétées en tandem dont la taille du motif unitaire est comprise entre 10 et 60 nucléotides. Nous avons fait le choix d'évaluer le rs228697 parce que la méthode LAMP-MC et même celle de référence Taqman sont moins longues que la méthode PCR utilisée pour le VNTR PER3 à partir des primers décrits par Ebisawa et al. (2001). De plus Turco et al. (2017) ont montré que les rs57875989 et rs228697 sont presque en linkage complet dans une large population de Caucasiens vivant en Nord Italie. Dans cette étude, aucune relation significative n'a été observée entre le polymorphisme PER3 rs57875989 et la préférence diurne, tandis qu'une association significative a été observée entre la mutation rs228697 G et le chronotype du matin. En ce qui concerne la relation entre PER3 et la caféine, les données sont rares, mais Gamble et al. (2011) ont démontré que trois polymorphismes de PER3 étaient associés à une augmentation de la consommation de caféine et à une diminution de la probabilité de somnolence chez les infirmières de nuit. Des études avec de grands groupes de sujets sains sont donc nécessaires afin d'améliorer la connaissance de l'influence du polymorphisme PER3

rs228697 sur les effets de la caféine sur les performances neurocomportementales pendant la privation de sommeil.

Performances physiques et perception de l'effort

Concernant les performances de détente verticale, nous observons une interaction entre le polymorphisme d'ADORA2A avec le traitement et la durée d'éveil, et du polymorphisme de PER3 avec le traitement, cependant les post-hocs n'ont pas atteint la significativité. Aucun effet de la génétique n'a été observé sur le test de charge-vitesse et une interaction avec le polymorphisme d'ADA a été observé pour la perception de l'effort, cependant les post-hocs n'ont pas atteint la significativité. Une étude récente montre un effet ergogénique de la caféine (3 mg/kg vs un placebo) sur la vitesse, la détente verticale, et la puissance développée au test de Wingate chez des sujets masculins (entraînés sur des sports de force) porteurs de l'allèle C (C/C et C/T) d'ADORA2A (Grgic et al., 2020) ; les bénéfices de la caféine (hors prise en compte de la génétique) sur le Wingate rejoignant ceux décrits dans une méta-analyse (Grgic et al., 2018). Par contre, le polymorphisme d'ADORA2A n'influence pas la performance en endurance (Carswell et al., 2020).

Performances de conduite

Concernant les deux paramètres de la conduite, nous observons une interaction significative du polymorphisme de PER3 avec la durée d'éveil. Les porteurs du génotype C/C étaient dégradés par la privation de sommeil avec une augmentation du nombre de franchissements inappropriés et de la déviation standard, alors que pour les porteurs du génotype C/G, la dégradation n'a été observée que sur la déviation standard. Ces résultats semblent montrer une influence du phénotype circadien sur les performances de conduite. Cependant, dans notre étude, le génotype de PER3 n'a pas été associé à une préférence diurne à cause de la faible proportion de la population (33 C/C vs 8 C/G). Le rs228697 de PER3 a été beaucoup associé à une préférence circadienne, à l'humeur ou à l'anxiété (Lieberman et al., 2018 ; Anderson et al., 2018 ; Hida et al., 2014 ; Turco et al., 2017). Anderson et al. (2018) a montré que les sujets avec un chronotype du soir effectuaient une performance sur 200 m de nage de 6,3% inférieure le matin (7-h) par rapport au soir (19-h) ; à l'inverse, ceux du matin fournissaient plus d'efforts le soir pour atteindre leur niveau de performance du matin. Ces résultats suggèrent une difficulté matinale pour les chronotypes du soir. Dans leur étude, les porteurs du génotype PER3^{4/4} (rs57875989) ou ceux porteurs de l'allèle G du rs228697 étaient considérés comme chronotype du soir et ont effectué une performance moins bonne le matin (Anderson et al., 2018). A l'inverse, Turco et al. (2017) ont montré, dans une population du nord de l'Italie, une association entre les porteurs de l'allèle G et le chronotype du matin. Cette dernière étude se rapproche de notre population. Ce qui pourrait expliquer dans notre

étude que les porteurs du génotype C/C subissent une pression homéostatique plus élevée et soient plus dégradés à 5-h du matin que les porteurs du génotype C/G (Turco et al., 2017).

Pour rappel, les résultats du polymorphisme de PER3 restent à prendre avec du recul du fait d'hétérogénéité élevée entre les génotypes. De plus, il est possible qu'à cause de cette faible proportion de sujets pour le génotype C/G, des effets ne soient pas observés. Pour PER3, une population plus élevée de sujets mériterait d'être étudiée sur la performance neurocomportementale et les effets de la caféine pendant une privation totale de sommeil.

De plus, aucun autre polymorphisme de cette étude n'était impliqué dans la modulation des performances de conduite sur simulateur, excepté ADA, cependant ces résultats restent incertains du fait de leur forte hétérogénéité (36 C/C vs 5 C/T). Les porteurs du génotype C/C avaient une déviation standard plus élevée pendant la privation totale de sommeil dans les deux conditions. Ces résultats peuvent être expliqués par une somnolence subjective plus élevée chez les porteurs du génotype C/C par rapport aux porteurs du génotype C/T.

Performances de tir

Aucune étude n'a observé l'influence de nos polymorphismes génétiques sur les performances au tir. Dans notre étude, nous avons uniquement observé une influence du polymorphisme de COMT, en interaction avec le traitement, et de PER3, en interaction avec la durée d'éveil. Pendant la privation totale de sommeil, les porteurs du génotype G/G du polymorphisme de COMT ont effectué une meilleure performance au tir en condition caféine par rapport à la condition placebo. Nous pouvons émettre donc l'hypothèse que le polymorphisme de COMT G/G semble être plus sensible aux effets de la caféine que le polymorphisme de COMT G/A-A/A. Par contre, les post-hocs, pour l'interaction avec PER3, n'ont pas atteint la significativité.

Le polymorphisme rs4680 COMT affecte fortement l'activité enzymatique, la quantité et la stabilité de la protéine (Tunbridge et al., 2019). De plus, la consommation de caféine augmente le taux plasmatique des catécholamines (adrénaline et noradrénaline) (Robertson et al., 1978). Bien que nos résultats ne montrent pas de différence de génotype de COMT face à la privation de sommeil, d'autres études ont observé que les porteurs de l'allèle Val étaient plus dégradés sur des performances cognitives en réponse à la privation de sommeil (Satterfield et al., 2017 ; Satterfield et al., 2018 ; Valomon et al., 2018). Par contre, il n'y a pas à notre connaissance d'étude sur l'influence de COMT sur les réponses neurocomportementales à la privation de sommeil combinée à la caféine. La question a été investiguée plutôt sur le polymorphisme du transporteur DAT1 de la dopamine en relation avec la régulation de

l'homéostasie du sommeil uniquement, il serait donc intéressant d'étudier également le polymorphisme de DAT1 sur nos tests réalisés (Holst et al., 2014). Il est important de prendre en compte également qu'une revue systématique récente a montré que la caféine améliorerait le temps de réaction au tir et non sa précision chez les militaires (Torres et al., 2019).

Effets secondaires

Nous avons observé un effet des polymorphismes d'ADORA2A sur les nausées, de COMT sur les maux d'estomac et de PER3 sur la fatigue. Cependant, les post-hocs pour le polymorphisme d'ADORA2A et de COMT n'ont pas atteint la significativité, et aucun effet du polymorphisme n'a été observé sur les maux de tête. Pour le symptôme de la fatigue, nous avons observé une interaction entre le polymorphisme de PER3 et le traitement. Les porteurs du génotypes C/C se sentaient plus fatigués que les porteurs du génotype C/G en condition caféine à 2-h, 8-h et 14-h d'éveil continu.

Sur la somnolence subjective, nous avons observé un effet significatif uniquement du polymorphisme d'ADA en interaction avec l'éveil. Le polymorphisme d'ADA G22A (rs73598374) est impliqué dans la variabilité interindividuelle de la structure du sommeil, de la réponse à la dette de sommeil et aux effets de la caféine sur le sommeil (Retey et al., 2005 ; Bachmann et al., 2012a ; Mazzotti et al., 2011, 2012). Dans notre étude, les porteurs du génotype ancestral C/C étaient plus somnolents que les porteurs du génotype C/T. Cependant, l'étude de Bachmann et al. (2012a) montre l'inverse de nos résultats avec les porteurs du génotype G/A qui semblaient plus somnolents que les porteurs du génotype ancestral G/G particulièrement après la privation de sommeil. La somnolence observée dans notre génotype peut être liée à la différence d'âge entre nos deux groupes de génotype. Il a été montré qu'une population de sujets jeunes était plus vulnérable à la dette de sommeil que les sujets âgés (Adam et al., 2006 ; Rabat et al., 2016). Notre groupe de génotype C/C était en moyenne plus jeune ($31,6 \pm 1,0$) alors que le groupe du génotype C/T était en moyenne plus âgé ($45,5 \pm 4,7$), ce qui pourrait expliquer une plus grande somnolence chez les porteurs du génotype C/C.

Paramètres cardiovasculaires

Dans notre étude, le polymorphisme de TNF- α avait un effet significatif sur la fréquence cardiaque et la pression diastolique, cependant les post-hocs n'ont pas atteint la significativité pour la fréquence cardiaque. Par contre, les porteurs de l'allèle A ont une pression diastolique plus élevée que les porteurs du génotype G/G. Cette différence aurait pu être expliquée par l'effet caféine qui semble plus élevée chez les porteurs de l'allèle A, cependant, cet effet a également été observé en condition

placebo. A notre connaissance, le lien entre la réponse cardiovasculaire et le polymorphisme de TNF a été décrit uniquement en pathologie, et non chez le sujet sain en situation de privation de sommeil.

V.4.d. Limites générales de l'étude

L'étude comporte plusieurs limites. D'autres facteurs que la génétique peut moduler la variabilité interindividuelle de la réponse neurocomportementale et les effets de la caféine pendant une privation totale de sommeil. Des co-facteurs tels que l'âge ou le sexe influencent les performances cognitives pendant une dette de sommeil (Adam et al., 2006 ; Santhi et al., 2016). De plus, notre taille d'échantillon reste relativement faible mais avec l'avantage d'une diversité raciale et ethnique limitée. En plus de notre petite taille d'échantillon, lorsque celui-ci est divisé en fonction des génotypes par polymorphismes, cela réduit d'autant plus la population comme pour ADA avec sa forte hétérogénéité (36 C/C vs 5 C/T).

V.4.e. Conclusion et perspectives

L'objectif global de cette étude était d'évaluer l'influence de cinq polymorphismes génétiques (TNF- α , ADORA2A, ADA, COMT et PER3) sur l'efficacité de la caféine pour prévenir la dégradation des performances cognitives, physiques et psychomotrices au cours de la privation totale de sommeil. Nous montrons plus particulièrement l'influence du polymorphisme de TNF- α sur les performances d'attention soutenue pendant une privation de sommeil qui semble être atténuée par la consommation de caféine. Alors que l'effet d'effacement de la caféine est observé sur les facteurs homéostasique et circadien du sommeil ADORA2A et PER3. Le polymorphisme COMT semble également influencer sur les performances de tir lors de la consommation de caféine. Le polymorphisme de TNF- α , impliqué dans l'inflammation et le sommeil, le polymorphisme de PER3, impliqué dans le rythme circadien, le polymorphisme de COMT, impliqué dans le système catécholaminergique, sont associés pour la première fois aux effets de la caféine pendant une privation totale de sommeil.

La prise en compte du facteur génétique permettrait d'individualiser les conseils en matière de consommation de caféine et de maintien des performances opérationnelles chez les militaires privés de sommeil. De futures études pourraient porter sur des populations plus élevées (> 100 sujets) avec un profil plus diversifié (âge, habitudes de vie, consommation de caféine) et des périodes d'éveil supérieures à 36-h ou une exposition de restriction de sommeil répétée (Hansen et al., 2018).

DISCUSSION GENERALE

Les résultats principaux de ce travail de thèse ont montré (i) l'influence de plusieurs polymorphismes génétiques sur le temps total de sommeil et/ou les troubles du sommeil en fonction de la consommation de caféine, notamment le polymorphisme du récepteur A2A de l'adénosine (ADORA2A), de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α , des cytochromes P450, de BDNF et de PER3, et (ii) l'influence des polymorphismes d'ADORA2A, TNF- α , ADA, COMT et PER3 sur l'efficacité de la caféine à améliorer les performances lors d'une privation totale de sommeil, particulièrement les performances cognitives (Figure 48).

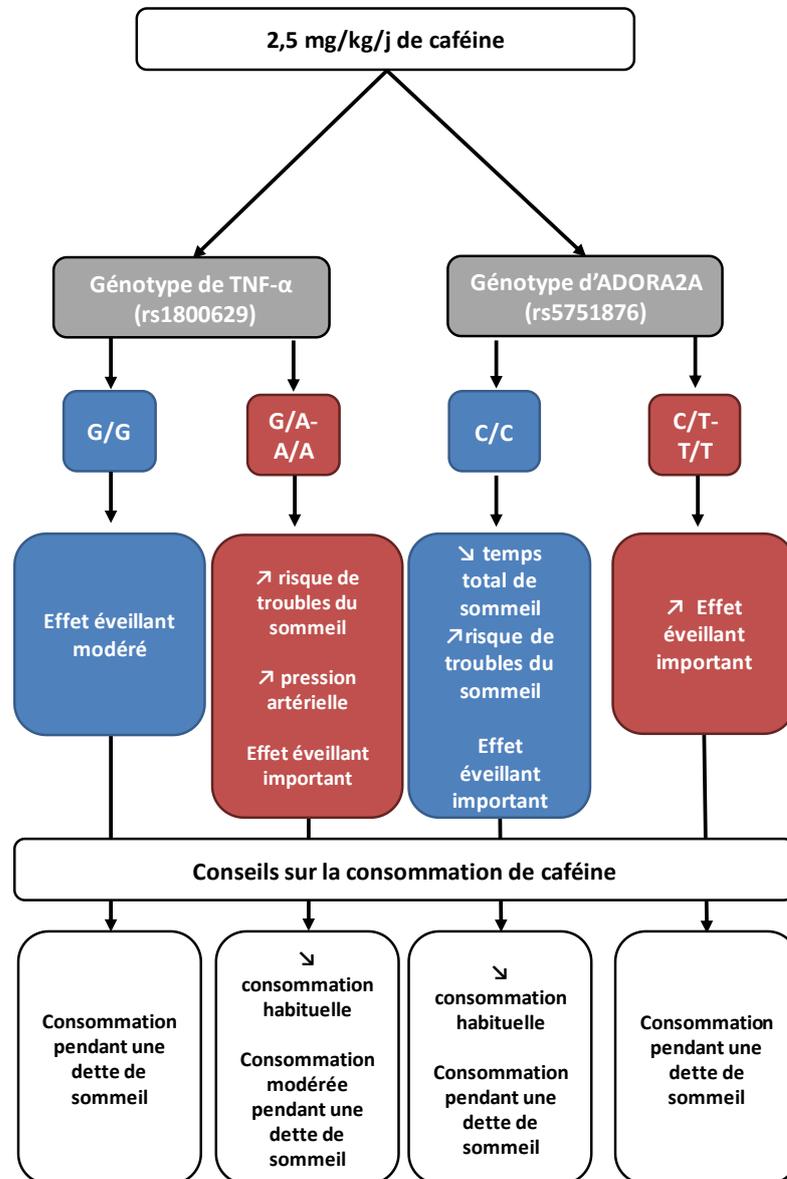


Figure 48. Résumé des résultats de la thèse et recommandations individuelles sur les deux principaux polymorphismes.

Le polymorphisme de TNF- α

Dans nos deux études, nous avons observé une influence majeure du polymorphisme de TNF- α sur les risques de troubles du sommeil et sur les réponses à la dette de sommeil chez un individu en bonne santé. Dans la première étude, les porteurs du génotype G/A avaient un risque plus élevé de troubles du sommeil par rapport aux porteurs du génotype G/G, particulièrement chez les forts consommateurs de caféine. Dans la deuxième étude, nous avons observé une différence de réponse à la privation totale de sommeil entre les génotypes, sur les performances d'attention soutenue et les réponses cardiovasculaires. Les porteurs de l'allèle A semblent être plus vulnérables à la privation de sommeil et aux effets de la caféine. Dans nos deux études, nous avons observé, chez des sujets sains, un effet majeur du polymorphisme TNF- α avec les porteurs de l'allèle A qui semblent plus vulnérables aux troubles du sommeil induits par la caféine, mais également à la dégradation de l'attention soutenue en réponse à la privation totale de sommeil avec administration de caféine, et aux réponses cardiovasculaires associées. Une étude antérieure a montré une différence de réponses entre les génotypes de TNF- α sur l'attention soutenue en situation de privation totale de sommeil (Satterfield et al., 2015).

Pour Krueger (2008), TNF- α fait partie des substances impliquées dans la régulation du cycle veille/sommeil). Cet auteur a émis l'hypothèse que l'augmentation de cette cytokine pro-inflammatoire pouvait, même à bas niveau, induire une instabilité cognitive en induisant un état de sommeil (Jewett et al., 2012). Les travaux du laboratoire vont dans ce sens car ils ont montré l'augmentation des concentrations circulantes de TNF- α lors d'une privation totale de sommeil chez des sujets sains (Chennaoui et al., 2011), ainsi que la diminution de la performance cognitive autant sur l'attention soutenue que sur les fonctions exécutives telles que l'inhibition et la mémoire de travail (Arnal et al., 2015, Rabat et al., 2019). Notre travail de thèse souligne l'intérêt de voir si les différences sur les génotypes de TNF- α aux réponses neurocomportementales à la privation de sommeil et aux effets de la caféine se traduisent aussi sur le phénotype, en étudiant l'expression du TNF- α dans le sang en fonction des génotypes.

Le polymorphisme d'ADORA2A

L'adénosine régule principalement l'équilibre entre le système du sommeil et de l'éveil (Porkka-Heiskanen, 2011). Dans nos deux études, nous avons observé une influence majeure des polymorphismes d'ADORA2A, et particulièrement du rs5751876 (une mutation synonyme), sur les réponses à la dette de sommeil et à la consommation de caféine. La première étude de notre thèse a montré une différence entre les génotypes sur le temps total de sommeil uniquement chez les faibles

consommateurs de caféine, avec les porteurs du génotype C/C qui dormaient plus que les porteurs de l'allèle T (rs5751876). Cette différence disparaît dès que la consommation de caféine dépasse 50 mg par jour (consommateurs modérés et forts de caféine) avec un temps total de sommeil qui devient similaire entre les génotypes. Dans la seconde étude, nous avons observé une différence entre les génotypes sur les réponses de l'attention soutenue pendant une privation totale de sommeil en condition placebo, avec les porteurs de l'allèle T qui étaient plus dégradés que les porteurs C/C. Cette différence n'est pas observée en condition caféine.

Il existe peu d'études montrant le lien entre le polymorphisme d'ADORA2A et l'expression du récepteur A2A. Andreassi et al. (2011) ont montré chez des sujets contrôles que les porteurs hétérozygotes C/T et homozygotes T/T ont une concentration du récepteur A2A plus élevée que les C/C. Les travaux précédents du laboratoire ont montré, sensiblement comme pour TNF- α , une augmentation des concentrations des ARN messagers du récepteur A2A dans les leucocytes après 24 heures de privation de sommeil (Chennaoui et al., 2017), et aussi la diminution de la performance cognitive autant sur l'attention soutenue que sur les fonctions exécutives telles que l'inhibition et la mémoire de travail (Arnal et al., 2015, Rabat et al., 2019). Sachant que la mutation synonyme peut tout de même être associée à une modification du récepteur fonctionnel en termes de conformation (Hunt et al., 2014), il sera intéressant d'étudier l'expression d'ADORA2A dans le sang en fonction des génotypes et des réponses neurocomportementales à la privation de sommeil et aux effets de la caféine. Concernant des liens potentiels entre les variants d'ADORA2A et la caféine, Rétey et al. (2007) ont montré que les porteurs du génotype C/C ont plus de signes d'insomnie après prise de caféine comparés aux porteurs C/T et T/T. De plus, les porteurs de l'allèle T seraient plus enclins à l'anxiété induite par la caféine (Alsene et al., 2003) et ont des réactions de sursaut plus élevées après la consommation de caféine (Domschke et al., 2012). Bodenmann et al. (2012) sont les seuls à avoir montré un lien entre le polymorphisme d'ADORA2A et les réponses neurocomportementales à la privation de sommeil, mais en étudiant uniquement différents haplotypes. Ces auteurs ont notamment montré que les porteurs de l'haplotype HT4 (contenant l'allèle T du rs5751876) sont plus résistants aux effets de la caféine et plus performants sur un PVT pendant la privation de sommeil que les porteurs non-HT4. Enfin, il a récemment été montré que les porteurs C/C ont une réponse glycémique post-prandiale plus forte après absorption d'un repas liquide contenant du glucose plus caféine par rapport à une prise avec du glucose seul (Banks et al., 2019). Nos résultats montrent qu'en ce qui concerne la performance d'attention soutenue au PVT, le polymorphisme d'ADORA2A n'interagit pas avec la caféine mais avec la durée d'éveil. Carswell et al., (2020) ont récemment montré que les performances au PVT pendant une activité physique sont influencées par le polymorphisme CYP1A2 et pas ADORA2A. Pour observer l'efficacité de la caféine, l'étude du polymorphisme CYP1A2 semble donc être plus pertinente. D'après l'étude de Banks et al.,

(2019) il serait également intéressant d'étudier si un café consommé avec ou sans sucre modifie les performances en fonction des génotypes d'ADORA2A.

Le polymorphisme d'ADA

Dans nos études, le polymorphisme d'ADA semble être impliqué particulièrement dans la somnolence. La première étude n'a montré aucune association entre ce polymorphisme et le temps total de sommeil et les troubles du sommeil en fonction de la consommation de caféine. Dans la seconde étude, le SNP d'ADA a particulièrement été associé à la somnolence subjective pendant la privation totale de sommeil. Cependant, à cause de la répartition génétique de ce polymorphisme (similaire à la base de données 1000 Génomes) et de la rareté des porteurs de la mutation, ainsi qu'à la différence d'âge entre les deux génotypes, nos résultats concernant la réponse d'attention soutenue en privation de sommeil restent à confirmer sur une grande population. ADA est l'enzyme qui convertit l'adénosine en inosine, et qui est ainsi particulièrement impliquée dans la régulation de l'homéostasie du sommeil. Il a été montré que l'activité d'ADA diminue dans les érythrocytes et les lymphocytes des porteurs du génotype G/A (Rixsen et al., 2008), que les porteurs G/A ont un sommeil nocturne plus profond (Rétey et al., 2005, Mazzotti et al., 2011) et sont plus somnolents pendant la privation de sommeil (Bachmann et al., 2012a). Plus d'études sur l'implication du polymorphisme d'ADA dans les réponses neurocomportementales à la privation de sommeil sous caféine seraient intéressantes mais après sélection des génotypes, et couplées à l'évaluation de l'activité d'ADA.

Le polymorphisme de COMT

Le polymorphisme de COMT a eu une influence limitée dans nos études par rapport aux autres polymorphismes. Il n'a pas été associé à une modification du temps total de sommeil et du risque de troubles du sommeil dans notre première étude, et pas non plus associé avec la durée d'éveil pendant la privation de sommeil dans notre seconde étude. Cependant le polymorphisme COMT est en interaction avec la caféine pendant la privation de sommeil sur la performance de tir, épreuve impliquant de l'attention ou de la vigilance. Une méta-analyse de 2019 montre bien que la caféine améliore les performances au tir chez les militaires US (Torres et al., 2019). Dans notre étude, les porteurs du génotype ancestral G/G semblent avoir un effet bénéfique de la caféine qui n'est pas observé chez les G/A. Le SNP de COMT a déjà été associé à une substance éveillante notamment le modafinil pendant la privation de sommeil (Bodenmann et al., 2009a, 2009b), mais c'est la première fois, à notre connaissance, qu'une étude a évalué son influence sur les performances lors d'une privation totale de sommeil avec supplémentation en caféine. Le polymorphisme de COMT (rs4680) a été associé à une modulation des performances cognitives pendant une dette de sommeil (Satterfield et al., 2017 ; Satterfield et al., 2018 ;

Valomon et al., 2018), ce qui n'a pas été observé dans notre étude. Les polymorphismes de DAT1 ou de DRD2, transporteur et récepteur de la dopamine respectivement, semblent être plus impliqués dans la modulation des performances et des effets de la caféine pendant une dette de sommeil (Satterfield et al., 2017 ; Childs et al., 2008 ; Holst et al., 2014 ; Holst et al., 2017). Il serait intéressant d'étudier l'influence de COMT sur des groupes de sujets plus élevées, ou encore de privilégier des polymorphismes tels que DAT1 ou DRD2.

Le polymorphisme de PER3

PER3 est un gène circadien qui est fortement associé aux préférences diurnes, à l'humeur et aux niveaux d'anxiété (Archer et al., 2018 ; Liberman et al., 2018). Dans la première étude, nous avons observé un risque de troubles du sommeil plus élevé chez les porteurs du génotype ancestral C/C par rapport aux porteurs du génotype C/G, chez les forts consommateurs de caféine. Dans la deuxième étude, les porteurs du génotype C/C semblaient avoir une efficacité de la caféine plus élevée que les porteurs du génotype C/G sur les performances cognitives pendant la privation totale de sommeil. Des études avec de grands groupes de sujets sont donc nécessaires afin d'améliorer la connaissance de l'influence du polymorphisme PER3 rs228697 sur les effets de la caféine sur les performances neurocomportementales pendant la privation de sommeil.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les altérations du cycle veille/sommeil sont fréquentes dans le milieu militaire et peuvent conduire à une dégradation des performances. L'une des contre-mesures les plus utilisées pour limiter cette altération est la caféine. Cependant, nous ne sommes pas tous égaux face aux réponses à la dette de sommeil et aux effets de la caféine, qui peuvent être influencées par de nombreux facteurs, et en particulier la génétique.

Dans ce travail, nous avons rappelé l'importance du patrimoine génétique dans la variabilité interindividuelle. En effet, nos résultats montrent l'influence des polymorphismes du gène de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α et du récepteur à l'adénosine A2A (ADORA2A) sur le risque de troubles du sommeil, sur la durée du sommeil, sur la dégradation des performances en situation de privation de sommeil et sur l'efficacité de la caféine. En conclusion, nos résultats soulignent que (i) l'influence des polymorphismes d'ADORA2A sur le temps total de sommeil et/ou le risque de troubles du sommeil s'efface dès que la consommation de caféine dépasse 50 mg par jour et que (ii) la prise aigüe de caféine en situation de privation de sommeil module l'influence du polymorphisme de TNF- α sur l'altération de la performance cognitive, notamment l'attention soutenue.

Ce travail a permis d'apporter des éléments d'intérêt pour la modélisation de futures études et la sélection des sujets, et pour la caractérisation de sportifs de haut niveau avec personnalisation de conseils pour la performance, la santé et l'utilisation de la caféine. Ces résultats pourront être exposés également au profit des forces armées afin d'individualiser et d'optimiser les stratégies de consommation de caféine dans le but de limiter les dégradations des performances induites par la dette de sommeil. Plus particulièrement, nous recommandons la diminution de la consommation chronique de café. En effet, quelque soit le polymorphisme génétique, la forte consommation de café (> 300 mg) favorise les troubles du sommeil et n'est donc pas recommandée (Erblang et al., 2020).

Concernant la performance physique et en particulier la performance anaérobie, nous avons montré que l'influence des polymorphismes était limitée. De plus, la consommation aigüe de 2,5mg/j de caféine tel qu'étudiée dans notre étude n'est pas efficace sur ces performances. Une consommation plus élevée de caféine est nécessaire pour améliorer les performances physiques mais avec un risque élevé d'effets secondaires, en particulier sur le sommeil.

C'est pourquoi des recommandations globales sur la consommation de caféine devraient être apportées en prenant en compte la dose et la durée d'efficacité ainsi que la consommation quotidienne

de caféine. Il serait donc intéressant d'observer les effets de différentes doses de caféine en fonction des polymorphismes étudiés dans ce travail. Il est également pertinent d'évaluer ces effets lors de restrictions de sommeil ou de décalages horaires, qui sont plus représentatives des missions en opération soutenue des militaires déployés ou de sportifs lors de compétitions internationales.

Dans notre étude, d'autres paramètres d'intérêt n'ont pas été évalués. Ils pourraient compléter et affiner ces résultats. En particulier, nous avons principalement évalué les effets de la dette de sommeil et de la caféine sur les processus attentionnels (temps de réaction). Or la privation de sommeil altère de nombreux processus exécutifs (mémoire de travail, flexibilité mentale, prise de décision, inhibition) qui sont des capacités nécessaires à la réalisation d'une activité professionnelle et au maintien d'un haut niveau de performance. Les substances éveillantes sont connues pour avoir des effets différents sur ces fonctions (Sauvet et al., 2019, Wesensten et al., 2005). L'impact des polymorphismes génétiques sur les réponses de ces processus lors d'une dette de sommeil est très peu connu. Au cours de cette thèse, nous avons réalisé d'autres tâches cognitives qui font l'objets d'analyses dans ce sens.

De même, les dettes chroniques ou répétées de sommeil peuvent favoriser la survenue de pathologies chroniques telles que de pathologies cardiovasculaires, des cancers ou des troubles métaboliques (Von Ruesten et al., 2012 ; Lin et al., 2018). Les travaux du laboratoire ont montré une réponse immuno-inflammatoire et une dysfonction endothéliale à l'issue d'une privation de sommeil qui pourraient favoriser ces pathologies. L'impact de la caféine et du patrimoine génétique sur ces réponses est peu connu. Des études en laboratoire et en milieu écologique avec des travailleurs de nuit seraient intéressantes. De plus, notre travail montre que la consommation de caféine module l'influence du polymorphisme de TNF- α sur les performances en situation de privation de sommeil. Pour cela, il serait pertinent, dans le futur, d'observer les réponses immuno-inflammatoires au cours d'une privation totale de sommeil et après supplémentation en caféine en fonction des génotypes de TNF- α .

Enfin, il paraît évident que les facteurs environnementaux et nos habitudes de vie influencent beaucoup la variabilité des performances face à la dette de sommeil et à la sensibilité aux contre-mesures. Cette variabilité serait liée à l'épigénétique, c'est-à-dire qu'elles vont modifier de manière réversible l'expression des gènes. L'importance de ces co-facteurs individuels pourrait modérer l'impact des polymorphismes génétiques. En particulier, l'impact de la consommation chronique de café qui peut être un facteur déterminant dans les troubles du sommeil et sur les performances exécutées (Erblang et al., 2020 ; Rogers et al., 2013). En utilisant les capacités nouvelles en bases de données issues de recueil en situation écologique, nous proposons d'évaluer l'impact des polymorphismes génétiques sur les effets de la consommation chronique de caféine dans des populations spécifiquement exposées à des

dettes répétées de sommeil afin de modéliser et de prédire la survenue de troubles du sommeil ou de défaillances. En effet, la consommation habituelle de caféine pourrait moduler les performances cognitives et plus particulièrement les processus exécutifs au cours d'une dette de sommeil.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adam, M., Rétey, J.V., Khatami, R., and Landolt, H.-P. (2006). Age-Related Changes in the Time Course of Vigilant Attention During 40 Hours Without Sleep in Men. *Sleep* 29, 55–57.
- Åkerstedt, T., and Gillberg, M. (1990). Subjective and Objective Sleepiness in the Active Individual. *International Journal of Neuroscience* 52, 29–37.
- Åkerstedt, T., Anund, A., Axelsson, J., and Kecklund, G. (2014). Subjective sleepiness is a sensitive indicator of insufficient sleep and impaired waking function. *J Sleep Res* 23, 242–254.
- Alsene, K., Deckert, J., Sand, P., and de Wit, H. (2003). Association Between A2A Receptor Gene Polymorphisms and Caffeine-Induced Anxiety. *Neuropsychopharmacol* 28, 1694–1702.
- Anderson, A., Murray, G., Herlihy, M., Weiss, C., King, J., Hutchinson, E., Albert, N., and Ingram, K.K. (2018). Circadian Effects on Performance and Effort in Collegiate Swimmers. *Journal of Circadian Rhythms* 16, 8.
- Andreassi, M.G., Laghi Pasini, F., Picano, E., Capecchi, P.L., Pompella, G., Foffa, I., Borghini, A., and Sicari, R. (2011). Adenosine A2A receptor gene polymorphism (1976C>T) affects coronary flow reserve response during vasodilator stress testing in patients with non-ischemic-dilated cardiomyopathy: *Pharmacogenetics and Genomics* 21, 469–475.
- Aouizerat, B.E., Dodd, M., Lee, K., West, C., Paul, S.M., Cooper, B.A., Wara, W., Swift, P., Dunn, L.B., and Miaskowski, C. (2009). Preliminary Evidence of a Genetic Association Between Tumor Necrosis Factor Alpha and the Severity of Sleep Disturbance and Morning Fatigue. *Biological Research For Nursing* 11, 27–41.
- Archer, S.N., Schmidt, C., Vandewalle, G., and Dijk, D.-J. (2018). Phenotyping of PER3 variants reveals widespread effects on circadian preference, sleep regulation, and health. *Sleep Medicine Reviews* 40, 109–126.
- Arnal, P.J., Sauvet, F., Leger, D., van Beers, P., Bayon, V., Bougard, C., Rabat, A., Millet, G.Y., and Chennaoui, M. (2015). Benefits of Sleep Extension on Sustained Attention and Sleep Pressure Before and During Total Sleep Deprivation and Recovery. *Sleep* 38, 1935–1943.
- Arnal, P.J., Lapole, T., Erblang, M., Guillard, M., Bourrilhon, C., Léger, D., Chennaoui, M., and Millet, G.Y. (2016a). Sleep Extension before Sleep Loss: Effects on Performance and Neuromuscular Function. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 48, 1595–1603.
- Arnal, P.J., Drogou, C., Sauvet, F., Regnaud, J., Dispersyn, G., Faraut, B., Millet, G.Y., Leger, D., Gomez-Merino, D., and Chennaoui, M. (2016b). Effect of Sleep Extension on the Subsequent Testosterone, Cortisol and Prolactin Responses to Total Sleep Deprivation and Recovery. *J Neuroendocrinol* 28, n/a-n/a.
- Arnaud, M.J. (2011). Pharmacokinetics and Metabolism of Natural Methylxanthines in Animal and Man. In *Methylxanthines*, (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 33–91.
- Auton, A., and Salcedo, T. (2015). The 1000 Genomes Project. in *Assessing Rare Variation in Complex Traits: Design and Analysis of Genetic Studies*. (eds. Zeggini, E. & Morris, A.) 71–85 (Springer International Publishing).

- Ayday, E., Raisaro, J.L., Hubaux, J.-P., and Rougemont, J. (2013). Protecting and evaluating genomic privacy in medical tests and personalized medicine. In Proceedings of the 12th ACM Workshop on Workshop on Privacy in the Electronic Society - WPES '13, (Berlin, Germany: ACM Press), pp. 95–106.
- Azevedo, R., Silva-Cavalcante, M.D., Gualano, B., Lima-Silva, A.E., and Bertuzzi, R. (2016). Effects of caffeine ingestion on endurance performance in mentally fatigued individuals. *Eur J Appl Physiol* *116*, 2293–2303.
- Bachmann, V., Klaus, F., Bodenmann, S., Schäfer, N., Brugger, P., Huber, S., Berger, W., and Landolt, H.-P. (2012a). Functional ADA Polymorphism Increases Sleep Depth and Reduces Vigilant Attention in Humans. *Cerebral Cortex* *22*, 962–970.
- Bachmann, V., Klein, C., Bodenmann, S., Schäfer, N., Berger, W., Brugger, P., and Landolt, H.-P. (2012b). The BDNF Val66Met Polymorphism Modulates Sleep Intensity: EEG Frequency- and State-Specificity. *SLEEP*.
- Banks, N.F., Tomko, P.M., Colquhoun, R.J., Muddle, T.W.D., Emerson, S.R., and Jenkins, N.D.M. (2019). Genetic Polymorphisms in ADORA2A and CYP1A2 Influence Caffeine's Effect on Postprandial Glycaemia. *Sci Rep* *9*, 10532.
- Banks, S., Van Dongen, H.P.A., Maislin, G., and Dinges, D.F. (2010). Neurobehavioral Dynamics Following Chronic Sleep Restriction: Dose-Response Effects of One Night for Recovery. *Sleep* *33*, 1013–1026.
- Barrett, L.W., Fletcher, S., and Wilton, S.D. (2012). Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. *Cell. Mol. Life Sci.* *69*, 3613–3634.
- Barry, R.J., Johnstone, S.J., Clarke, A.R., Rushby, J.A., Brown, C.R., and McKenzie, D.N. (2007). Caffeine effects on ERPs and performance in an auditory Go/NoGo task. *Clinical Neurophysiology* *118*, 2692–2699.
- Basheer, R., Strecker, R.E., Thakkar, M.M., and McCarley, R.W. (2004). Adenosine and sleep-wake regulation. *Progress in Neurobiology* *73*, 379–396.
- Basner, M., and Dinges, D.F. (2011). Maximizing Sensitivity of the Psychomotor Vigilance Test (PVT) to Sleep Loss. *Sleep* *34*, 581–591.
- Bayon, V., Leger, D., Gomez-Merino, D., Vecchierini, M.-F., and Chennaoui, M. (2014). Sleep debt and obesity. *Annals of Medicine* *46*, 264–272.
- Bazzucchi, I., Felici, F., Montini, M., Figura, F., and Sacchetti, M. (2011). Caffeine improves neuromuscular function during maximal dynamic exercise. *Muscle Nerve* *43*, 839–844.
- Beaumont, M., Batejat, D., Pierard, C., Coste, O., Doireau, P., Van Beers, P., Chauffard, F., Chassard, D., Enslin, M., Denis, J.B., et al. (2001). Slow release caffeine and prolonged (64-h) continuous wakefulness: effects on vigilance and cognitive performance. *J Sleep Res* *10*, 265–276.
- Beaumont, M., Batéjat, D., Piérard, C., Van Beers, P., Denis, J.B., Coste, O., Doireau, P., Chauffard, F., French, J., and Lagarde, D. (2004). Caffeine or melatonin effects on sleep and sleepiness after rapid eastward transmeridian travel. *Journal of Applied Physiology* *96*, 50–58.
- Beaumont, M., Batéjat, D., Coste, O., Doireau, P., Chauffard, F., Enslin, M., Lagarde, D., and Pierard, C. (2005). Recovery after Prolonged Sleep Deprivation: Residual Effects of Slow-Release Caffeine on Recovery Sleep, Sleepiness and Cognitive Functions. *Neuropsychobiology* *51*, 16–27.

- Bechara, A., Damasio, A.R., Damasio, H., and Anderson, S.W. (1994). Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition* *50*, 7–15.
- Beersma, D.G.M., and Gordijn, M.C.M. (2007). Circadian control of the sleep–wake cycle. *Physiology & Behavior* *90*, 190–195.
- Benington, J.H., and Heller, H.C. (1995). Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep. *Progress in Neurobiology* *45*, 347–360.
- Benowitz, N.L. (1990). Clinical Pharmacology of Caffeine. *Annual Review of Medicine* *41*, 277–88.
- Besedovsky, L., Lange, T., and Born, J. (2012). Sleep and immune function. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* *463*, 121–137.
- Besedovsky, L., Lange, T., and Haack, M. (2019). The Sleep-Immune Crosstalk in Health and Disease. *Physiological Reviews* *99*, 1325–1380.
- Biggs, S.N., Smith, A., Dorrian, J., Reid, K., Dawson, D., van den Heuvel, C., and Balk, S. (2007). Perception of simulated driving performance after sleep restriction and caffeine. *Journal of Psychosomatic Research* *63*, 573–577.
- Birkett, D., and Miners, J. (1991). Caffeine renal clearance and urine caffeine concentrations during steady state dosing. Implications for monitoring caffeine intake during sports events. *British Journal of Clinical Pharmacology* *31*, 405–408.
- Blanchard, J., and Sawers, S.J.A. (1983). Comparative pharmacokinetics of caffeine in young and elderly men. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* *11*, 109–126.
- Blatter, K., Graw, P., Münch, M., Knoblauch, V., Wirz-Justice, A., and Cajochen, C. (2006). Gender and age differences in psychomotor vigilance performance under differential sleep pressure conditions. *Behavioural Brain Research* *168*, 312–317.
- Bodenmann, S., and Landolt, H.-P. (2010). Effects of Modafinil on the Sleep EEG Depend on Val158Met Genotype of COMT. *Sleep* *33*, 1027–1035.
- Bodenmann, S., Rusterholz, T., Durr, R., Stoll, C., Bachmann, V., Geissler, E., Jaggi-Schwarz, K., and Landolt, H.-P. (2009a). The Functional Val158Met Polymorphism of COMT Predicts Interindividual Differences in Brain Oscillations in Young Men. *Journal of Neuroscience* *29*, 10855–10862.
- Bodenmann, S., Xu, S., Luhmann, U., Arand, M., Berger, W., Jung, H., and Landolt, H. (2009b). Pharmacogenetics of Modafinil After Sleep Loss: Catechol-O-Methyltransferase Genotype Modulates Waking Functions But Not Recovery Sleep. *Clin Pharmacol Ther* *85*, 296–304.
- Bodenmann, S., Hohoff, C., Freitag, C., Deckert, J., Rétey, J.V., Bachmann, V., and Landolt, H.-P. (2012). Polymorphisms of *ADORA2A* modulate psychomotor vigilance and the effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation: *ADORA2A* haplotypes, vigilance and CNS stimulants. *British Journal of Pharmacology* *165*, 1904–1913.
- Bonanno, L., Metro, D., Papa, M., Finzi, G., Maviglia, A., Sottile, F., Corallo, F., and Manasseri, L. (2019). Assessment of sleep and obesity in adults and children: Observational study. *Medicine* *98*, e17642.
- Bonnet, M.H., and Arand, D.L. (1994). The use of prophylactic naps and caffeine to maintain performance during a continuous operation. *Ergonomics* *37*, 1009–1020.

- Borbély, A.A. (1982). A Two Process Model of Sleep Regulation. *Human Neurobiology* *1*, 195-204.
- Borges-Martins, V.P.P., Ferreira, D.D.P., Souto, A.C., Oliveira Neto, J.G., Pereira-Figueiredo, D., da Costa Calaza, K., de Jesus Oliveira, K., Manhães, A.C., de Melo Reis, R.A., and Kubrusly, R.C.C. (2019). Caffeine regulates GABA transport via A1R blockade and cAMP signaling. *Neurochemistry International* *131*, 104550.
- Boyle, P.J., Scott, J.C., Krentz, A.J., Nagy, R.J., Comstock, E., and Hoffman, C. (1994). Diminished brain glucose metabolism is a significant determinant for falling rates of systemic glucose utilization during sleep in normal humans. *J. Clin. Invest.* *93*, 529–535.
- Brookes, A.J. (1999). The essence of SNPs. *Gene* *234*, 177–186.
- Burgess, H.J., Revell, V.L., Molina, T.A., and Eastman, C.I. (2010). Human Phase Response Curves to Three Days of Daily Melatonin: 0.5 mg *Versus* 3.0 mg. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* *95*, 3325–3331.
- Buxton, O.M., Pavlova, M., Reid, E.W., Wang, W., Simonson, D.C., and Adler, G.K. (2010). Sleep Restriction for 1 Week Reduces Insulin Sensitivity in Healthy Men. *Diabetes* *59*, 2126–2133.
- Buysse, D.J., Reynolds, C.F., Monk, T.H., Berman, S.R., and Kupfer, D.J. (1989). The Pittsburgh sleep quality index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research* *28*, 193–213.
- Byrne, E.M., Johnson, J., McRae, A.F., Nyholt, D.R., Medland, S.E., Gehrman, P.R., Heath, A.C., Madden, P.A.F., Montgomery, G.W., Chenevix-Trench, G., et al. (2012). A Genome-Wide Association Study of Caffeine-Related Sleep Disturbance: Confirmation of a Role for a Common Variant in the Adenosine Receptor. *Sleep* *35*, 967–975.
- Cappelletti, S., Daria, P., Sani, G., and Aromatario, M. (2015). Caffeine: Cognitive and Physical Performance Enhancer or Psychoactive Drug? *CN* *13*, 71–88.
- Carswell, A.T., Howland, K., Martinez-Gonzalez, B., Baron, P., and Davison, G. (2020). The effect of caffeine on cognitive performance is influenced by CYP1A2 but not ADORA2A genotype, yet neither genotype affects exercise performance in healthy adults. *Eur J Appl Physiol* *120*, 1495–1508.
- Cesareo, K.R., Mason, J.R., Saracino, P.G., Morrissey, M.C., and Ormsbee, M.J. (2019). The effects of a caffeine-like supplement, TeaCrine®, on muscular strength, endurance and power performance in resistance-trained men. *J Int Soc Sports Nutr* *16*, 47.
- Chaudhary, N.S., Grandner, M.A., Jackson, N.J., and Chakravorty, S. (2016). Caffeine consumption, insomnia, and sleep duration: Results from a nationally representative sample. *Nutrition* *32*, 1193–1199.
- Chennaoui, M., Sauvet, F., Drogou, C., Van Beers, P., Langrume, C., Guillard, M., Gourby, B., Bourrilhon, C., Florence, G., and Gomez-Merino, D. (2011). Effect of one night of sleep loss on changes in tumor necrosis factor alpha (TNF- α) levels in healthy men. *Cytokine* *56*, 318–324.
- Chennaoui, M., Drogou, C., Sauvet, F., Gomez-Merino, D., Scofield, D.E., and Nindl, B.C. (2014). Effect of acute sleep deprivation and recovery on Insulin-like Growth Factor-I responses and inflammatory gene expression in healthy men. *European Cytokine Network* *25*, 52–57.
- Chennaoui, M., Arnal, P.J., Drogou, C., Leger, D., Sauvet, F., and Gomez-Merino, D. (2017). Leukocyte Expression of Type 1 and Type 2 Purinergic Receptors and Pro-Inflammatory Cytokines during Total Sleep Deprivation and/or Sleep Extension in Healthy Subjects. *Front. Neurosci.* *11*, 240.

- Childs, E., Hohoff, C., Deckert, J., Xu, K., Badner, J., and de Wit, H. (2008). Association between ADORA2A and DRD2 Polymorphisms and Caffeine-Induced Anxiety. *Neuropsychopharmacol* *33*, 2791–2800.
- Clark, I., and Landolt, H.P. (2016). Coffee, caffeine, and sleep: A systematic review of epidemiological studies and randomized controlled trials. *Sleep Medicine Reviews* *31*, 70–78.
- Cohen, S., Doyle, W.J., Alper, C.M., Janicki-Deverts, D., and Turner, R.B. (2009). Sleep Habits and Susceptibility to the Common Cold. *Arch Intern Med* *169*, 62.
- Colten, H.R., Altevogt, B.M., Institute of Medicine (U.S.), and Committee on Sleep Medicine and Research (2006). *Sleep disorders and sleep deprivation: an unmet public health problem* (Washington, D.C.: Institute of Medicine: National Academies Press).
- Connor, J., Norton, R., Ameratunga, S., Robinson, E., Wigmore, B., and Jackson, R. (2001). Prevalence of Driver Sleepiness in a Random Population-based Sample of Car Driving. *Sleep* *24*, 688–694.
- Cornelis, M.C., Monda, K.L., Yu, K., Paynter, N., Azzato, E.M., Bennett, S.N., Berndt, S.I., Boerwinkle, E., Chanock, S., Chatterjee, N., et al. (2011). Genome-Wide Meta-Analysis Identifies Regions on 7p21 (AHR) and 15q24 (CYP1A2) As Determinants of Habitual Caffeine Consumption. *PLoS Genet* *7*, e1002033.
- Cornelis, M.C., Kacprowski, T., Menni, C., Gustafsson, S., Pivin, E., Adamski, J., Artati, A., Eap, C.B., Ehret, G., Friedrich, N., et al. (2016). Genome-wide association study of caffeine metabolites provides new insights to caffeine metabolism and dietary caffeine-consumption behavior. *Hum. Mol. Genet.* *ddw334*.
- Coroenne, M., Sauvet, S., Van Beers, P., Bougard, C., Guillard, M., Perrier, E., Chennaoui, M., Lely, L. (2013). Etude des facteurs de risque individuels d'hypovigilance chez les personnels de la patrouille maritime. *Médecine aéronautique et spatiale* *53*, 129-37.
- Cremonini, F., Camilleri, M., Zinsmeister, A.R., Herrick, L. M., Beebe, T., and Talley, N.J. (2009). Sleep disturbances are linked to both upper and lower gastrointestinal symptoms in the general population. *Neurogastroenterology & Motility* *21*, 128–135.
- Crooks, E., Hansen, D.A., Satterfield, B.C., Layton, M.E., and Van Dongen, H.P.A. (2019). Cardiac autonomic activity during sleep deprivation with and without caffeine administration. *Physiology & Behavior* *210*, 112643.
- Cullen, T., Thomas, G., Wadley, A.J., and Myers, T. (2019). The effects of a single night of complete and partial sleep deprivation on physical and cognitive performance: A Bayesian analysis. *Journal of Sports Sciences* *37*, 2726–2734.
- Cunningham, F., Amode, M.R., Barrell, D., Beal, K., Billis, K., Brent, S., Carvalho-Silva, D., Clapham, P., Coates, G., Fitzgerald, S., et al. (2015). Ensembl 2015. *Nucleic Acids Research* *43*, D662–D669.
- Daaloul, H., Souissi, N., and Davenne, D. (2019). Effects of Napping on Alertness, Cognitive, and Physical Outcomes of Karate Athletes: *Medicine & Science in Sports & Exercise* *51*, 338–345.
- Daan, S., Beersma, D.G., and Borbely, A.A. (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* *246*, R161–R183.
- Dager, S.R., Richards, T.L., and Artru, A.A. (1999). Human Brain Metabolic Response to Caffeine and the Effects of Tolerance. *Am J Psychiatry* *9*.

- Dauvilliers, Y., Tafti, M., and Landolt, H.P. (2015). Catechol-O-methyltransferase, dopamine, and sleep-wake regulation. *Sleep Medicine Reviews* *22*, 47–53.
- Davenne, D., Lericollais, R., Sagaspe, P., Taillard, J., Gauthier, A., Espié, S., and Philip, P. (2012). Reliability of simulator driving tool for evaluation of sleepiness, fatigue and driving performance. *Accident Analysis & Prevention* *45*, 677–682.
- De Valck, E., and Cluydts, R. (2001). Slow-release caffeine as a countermeasure to driver sleepiness induced by partial sleep deprivation. *J Sleep Res* *10*, 203–209.
- Desbrow, B., and Leveritt, M. (2006). Awareness and Use of Caffeine by Athletes Competing at the 2005 Ironman Triathlon World Championships. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* *16*, 545–558.
- Desbrow, B., Barrett, C.M., Minahan, C.L., Grant, G.D., and Leveritt, M.D. (2009). Caffeine, Cycling Performance, and Exogenous CHO Oxidation: A Dose-Response Study. *Medicine & Science in Sports & Exercise* *41*, 1744–1751.
- Diaz-Lara, F.J., Del Coso, J., García, J.M., Portillo, L.J., Areces, F., and Abián-Vicén, J. (2016). Caffeine improves muscular performance in elite Brazilian Jiu-jitsu athletes. *European Journal of Sport Science* *16*, 1079–1086.
- Diekelmann, S., and Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci* *11*, 114–126.
- Dijk, D.-J. (2009). Regulation and Functional Correlates of Slow Wave Sleep. *Journal of Clinical Sleep Medicine* *5*.
- Dimitrov, S., Besedovsky, L., Born, J., and Lange, T. (2015). Differential acute effects of sleep on spontaneous and stimulated production of tumor necrosis factor in men. *Brain, Behavior, and Immunity* *47*, 201–210.
- Dmitrzak-Węglarz, M., Pawlak, J., Wiłkość, M., Miechowicz, I., Maciukiewicz, M., Ciarkowska, W., Zaremba, D., and Hauser, J. (2016). Chronotype and sleep quality as a subphenotype in association studies of clock genes in mood disorders. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* *76*, 32–42.
- Doherty, M., and Smith, P.M. (2005). Effects of caffeine ingestion on rating of perceived exertion during and after exercise: a meta-analysis. *Scand J Med Sci Sports* *15*, 69–78.
- Domschke, K., Gajewska, A., Winter, B., Herrmann, M.J., Warrings, B., Mühlberger, A., Wosnitza, K., Glotzbach, E., Conzelmann, A., Dlugos, A., et al. (2012). ADORA2A Gene Variation, Caffeine, and Emotional Processing: A Multi-level Interaction on Startle Reflex. *Neuropsychopharmacol* *37*, 759–769.
- Doran, S.M., Van Dongen, H.P.A., Dinges, D.F. (2001). Sustained attention performance during sleep deprivation-evidence of state instability. *Archives Italiennes de Biologie* *139*, 253–267.
- Dorrian, J., Roach, G.D., Fletcher, A., and Dawson, D. (2007). Simulated train driving: Fatigue, self-awareness and cognitive disengagement. *Applied Ergonomics* *38*, 155–166.
- Drake, C., Roehrs, T., Shambroom, J., and Roth, T. (2013). Caffeine Effects on Sleep Taken 0, 3, or 6 Hours before Going to Bed. *Journal of Clinical Sleep Medicine* *09*, 1195–1200.

Drapeau, C., Hamel-Hebert, I., Robillard, R., Selmaoui, B., Filipini, D., and Carrier, J. (2006). Challenging sleep in aging: the effects of 200 mg of caffeine during the evening in young and middle-aged moderate caffeine consumers. *J Sleep Res* *15*, 133–141.

Driss, T., and Vandewalle, H. (2013). The Measurement of Maximal (Anaerobic) Power Output on a Cycle Ergometer: A Critical Review. *BioMed Research International* *2013*, 1–40.

Drogou, C., Sauvet, F., Erblang, M., Detemmerman, L., Derbois, C., Erkel, M.C., Boland, A., Deleuze, J.F., Gomez-Merino, D., and Chennaoui, M. (2020). Genotyping on blood and buccal cells using loop-mediated isothermal amplification in healthy humans. *Biotechnology Reports* *26*, e00468.

Dworak, M., McCarley, R.W., Kim, T., Kalinchuk, A.V., and Basheer, R. (2010). Sleep and Brain Energy Levels: ATP Changes during Sleep. *Journal of Neuroscience* *30*, 9007–9016.

Dworak, M., Kim, T., McCarley, R.W., and Basheer, R. (2011). Sleep, brain energy levels, and food intake: Relationship between hypothalamic ATP concentrations, food intake, and body weight during sleep-wake and sleep deprivation in rats. *Somnologie* *15*, 111–117.

Ebisawa, T., Uchiyama, M., Kajimura, N., Mishima, K., Kamei, Y., Katoh, M., Watanabe, T., Sekimoto, M., Shibui, K., Kim, K., et al. (2001). Association of structural polymorphisms in the human *period3* gene with delayed sleep phase syndrome. *EMBO Rep* *2*, 342–346.

Echeverri, D., Montes, F.R., Cabrera, M., Galán, A., and Prieto, A. (2010). Caffeine's Vascular Mechanisms of Action. *International Journal of Vascular Medicine* *2010*, 1–10.

Egan, M.F., Kojima, M., Callicott, J.H., Goldberg, T.E., Kolachana, B.S., Bertolino, A., Zaitsev, E., Gold, B., Goldman, D., Dean, M., et al. (2003). The BDNF val66met Polymorphism Affects Activity-Dependent Secretion of BDNF and Human Memory and Hippocampal Function. *Cell* *112*, 257–269.

Elmenhorst, D., Meyer, P.T., Winz, O.H., Matusch, A., Ermert, J., Coenen, H.H., Basheer, R., Haas, H.L., Zilles, K., and Bauer, A. (2007). Sleep Deprivation Increases A1 Adenosine Receptor Binding in the Human Brain: A Positron Emission Tomography Study. *Journal of Neuroscience* *27*, 2410–2415.

Erblang, M., Drogou, C., Gomez-Merino, D., Metlaine, A., Boland, A., Deleuze, J.F., Thomas, C., Sauvet, F., and Chennaoui, M. (2019). The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association between Caffeine Consumption and Sleep. *Genes* *10*, 1021.

Faraut, B., Andriillon, T., Drogou, C., Gauriau, C., Dubois, A., Servonnet, A., Van Beers, P., Guillard, M., Gomez-Merino, D., Sauvet, F., et al. (2020). Daytime Exposure to Blue-Enriched Light Counters the Effects of Sleep Restriction on Cortisol, Testosterone, Alpha-Amylase and Executive Processes. *Front. Neurosci.* *13*, 1366.

Fastbom, J., and Palacios, J.M. (1987). The Distribution of Adenosine A₁ Receptors and S-nucleotidase in the Brain of some Commonly Used Experimental Animals. *Neuroscience* *22*, 813–26.

Ferré, S., Torvinen, M., Antoniou, K., Irenius, E., Civelli, O., Arenas, E., Fredholm, B.B., and Fuxe, K. (1998). Adenosine A₁ Receptor-mediated Modulation of Dopamine D₁ Receptors in Stably Cotransfected Fibroblast Cells. *J. Biol. Chem.* *273*, 4718–4724.

Ferre, S., Quiroz, C., Woods, A., Cunha, R., Popoli, P., Ciruela, F., Lluís, C., Franco, R., Azdad, K., and Schiffmann, S. (2008). An Update on Adenosine A_{2A}-Dopamine D₂ Receptor Interactions: Implications for the Function of G Protein-Coupled Receptors. *CPD* *14*, 1468–1474.

- Franken, P., and Dijk, D.-J. (2009). Circadian clock genes and sleep homeostasis. *European Journal of Neuroscience* *29*, 1820–1829.
- Frazer, K.A., Murray, S.S., Schork, N.J., and Topol, E.J. (2009). Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nat Rev Genet* *10*, 241–251.
- Fredholm, B.B., and Dunwiddie, T.V. (1988). How does adenosine inhibit transmitter release? *TIPS Reviews* *9*, 130-134
- Fredholm, B.B., Chen, J.-F., Cunha, R.A., Svenningsson, P., and Vaugeois, J.-M. (2005). Adenosine and Brain Function. In *International Review of Neurobiology*, (Elsevier), *63*, 191–270.
- Fredholm, B.B., Bättig, K., Holmén, J., Nehlig, A., and Zvartau, E.E. (1999). Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. *Pharmacological Reviews* *51*, 83-133.
- Frye, R.F., Schneider, V.M., Frye, C.S., and Feldman, A.M. (2002). Plasma levels of TNF- α and IL-6 are inversely related to cytochrome P450-dependent drug metabolism in patients with congestive heart failure. *Journal of Cardiac Failure* *8*, 315–319.
- Fuhr, U., Klittich, K., and Staib, A. (1993). Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man. *British Journal of Clinical Pharmacology* *35*, 431–436.
- Fullagar, H.H.K., Skorski, S., Duffield, R., Hammes, D., Coutts, A.J., and Meyer, T. (2015). Sleep and Athletic Performance: The Effects of Sleep Loss on Exercise Performance, and Physiological and Cognitive Responses to Exercise. *Sports Med* *45*, 161–186.
- Fulton, J., Dinas, P., Carrillo, A., Edsall, J., Ryan, E., and Ryan, E. (2018). Impact of Genetic Variability on Physiological Responses to Caffeine in Humans: A Systematic Review. *Nutrients* *10*, 1373.
- Gabriel, S.B. (2002). The Structure of Haplotype Blocks in the Human Genome. *Science* *296*, 2225–2229.
- Gamble, K.L., Motsinger-Reif, A.A., Hida, A., Borsetti, H.M., Servick, S.V., Ciarleglio, C.M., Robbins, S., Hicks, J., Carver, K., Hamilton, N., et al. (2011). Shift Work in Nurses: Contribution of Phenotypes and Genotypes to Adaptation. *PLoS ONE* *6*, e18395.
- Ganio, M.S., Klau, J.F., Casa, D.J., Armstrong, L.E., and Maresh, C.M. (2009). Effect of Caffeine on Sport-Specific Endurance Performance: A Systematic Review. *Journal of Strength and Conditioning Research* *23*, 315–324.
- Goel, N. (2017). Neurobehavioral Effects and Biomarkers of Sleep Loss in Healthy Adults. *Curr Neurol Neurosci Rep* *17*, 89.
- Goel, N., Rao, H., Durmer, J., and Dinges, D. (2009a). Neurocognitive Consequences of Sleep Deprivation. *Semin Neurol* *29*, 320–339.
- Goel, N., Banks, S., Mignot, E., and Dinges, D.F. (2009b). PER3 Polymorphism Predicts Cumulative Sleep Homeostatic but Not Neurobehavioral Changes to Chronic Partial Sleep Deprivation. *PLoS ONE* *4*, e5874.
- Goel, N., Banks, S., Lin, L., Mignot, E., and Dinges, D.F. (2011). Catechol-O-Methyltransferase Val158Met Polymorphism Associates with Individual Differences in Sleep Physiologic Responses to Chronic Sleep Loss. *PLoS ONE* *6*, e29283.

- Goldstein-Piekarski, A.N., Greer, S.M., Saletin, J.M., Harvey, A.G., Williams, L.M., and Walker, M.P. (2018). Sex, Sleep Deprivation, and the Anxious Brain. *Journal of Cognitive Neuroscience* *30*, 565–578.
- Good, C.H., Brager, A.J., Capaldi, V.F., and Mysliwiec, V. (2020). Sleep in the United States Military. *Neuropsychopharmacol.* *45*, 176–191.
- Gorgoni, M., Ferlazzo, F., Ferrara, M., Moroni, F., D’Atri, A., Fanelli, S., Gizzi Torriglia, I., Lauri, G., Marzano, C., Rossini, P.M., et al. (2014). Topographic electroencephalogram changes associated with psychomotor vigilance task performance after sleep deprivation. *Sleep Medicine* *15*, 1132–1139.
- Graham, T.E., Helge, J.W., MacLean, D.A., Kiens, B., and Ritche, E.A. (2000). Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. *Journal of Physiology* *529*, 837–847.
- Grant, L.K., Cain, S.W., Chang, A.-M., Saxena, R., Czeisler, C.A., and Anderson, C. (2018). Impaired cognitive flexibility during sleep deprivation among carriers of the Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Val66Met allele. *Behavioural Brain Research* *338*, 51–55.
- Green, P.J., and Suls, J. (1996). The effects of caffeine on ambulatory blood pressure, heart rate, and mood in coffee drinkers. *J Behav Med* *19*, 111–128.
- Grgic, J., Trexler, E.T., Lazinica, B., and Pedisic, Z. (2018). Effects of caffeine intake on muscle strength and power: a systematic review and meta-analysis. *J Int Soc Sports Nutr* *15*, 11.
- Grgic, J., Pickering, C., Bishop, D.J., Del Coso, J., Schoenfeld, B.J., Tinsley, G.M., and Pedisic, Z. (2020). ADORA2A C Allele Carriers Exhibit Ergogenic Responses to Caffeine Supplementation. *Nutrients* *12*, 741.
- Guest, N., Corey, P., Vescovi, J., and El-Soheily, A. (2018). Caffeine, CYP1A2 Genotype, and Endurance Performance in Athletes: *Medicine & Science in Sports & Exercise* *50*, 1570–1578.
- Hammond, D., Reid, J.L., and Zukowski, S. (2018). Adverse effects of caffeinated energy drinks among youth and young adults in Canada: a Web-based survey. *CMAJ Open* *6*, E19–E25.
- Hansen, D.A., Ramakrishnan, S., Satterfield, B.C., Wesensten, N.J., Layton, M.E., Reifman, J., and Van Dongen, H.P.A. (2018). Randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study of the effects of repeated-dose caffeine on neurobehavioral performance during 48 h of total sleep deprivation. *Psychopharmacology* *236*, 1313–1322.
- Happonen, P., Voutilainen, S., Tuomainen, T.-P., and Salonen, J.T. (2006). Catechol-O-Methyltransferase Gene Polymorphism Modifies the Effect of Coffee Intake on Incidence of Acute Coronary Events. *PLoS ONE* *1*, e117.
- Hawkes, T. (2017). Pulsed Geodesic Transcranial Electrical Neuromodulation (GTEN) effects on slow wave sleep power and its association with enhancement of declarative and procedural learning by BDNF allele in normally aging adults Project Proposal.
- Heyn, J., Ledderose, C., Hinske, L.C., Limbeck, E., Möhnle, P., Lindner, H.A., and Kreth, S. (2012). Adenosine A2A Receptor Upregulation in Human PMNs Is Controlled by miRNA-214, miRNA-15, and miRNA-16: *Shock* *37*, 156–163.

- Hida, A., Kitamura, S., Katayose, Y., Kato, M., Ono, H., Kadotani, H., Uchiyama, M., Ebisawa, T., Inoue, Y., Kamei, Y., et al. (2014). Screening of Clock Gene Polymorphisms Demonstrates Association of a PER3 Polymorphism with Morningness–Eveningness Preference and Circadian Rhythm Sleep Disorder. *Sci Rep* *4*, 6309.
- Higdon, J.V., and Frei, B. (2006). Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* *46*, 101–123.
- Hirshkowitz, M., Whiton, K., Albert, S.M., Alessi, C., Bruni, O., DonCarlos, L., Hazen, N., Herman, J., Adams Hillard, P.J., Katz, E.S., et al. (2015). National Sleep Foundation’s updated sleep duration recommendations: final report. *Sleep Health* *1*, 233–243.
- Hogervorst, E., Riedel, W., Kovacs, E., Brouns, F., and Jolles, J. (1999). Caffeine Improves Cognitive Performance After Strenuous Physical Exercise. *Int J Sports Med* *20*, 354–361.
- Hohoff, C., Mullings, E.L., Heatherley, S.V., Freitag, C.M., Neumann, L.C., Domschke, K., Krakowitzky, P., Rothermundt, M., Keck, M.E., Erhardt, A., et al. (2010). Adenosine A2A receptor gene: Evidence for association of risk variants with panic disorder and anxious personality. *Journal of Psychiatric Research* *44*, 930–937.
- Holst, S.C., Bersagliere, A., Bachmann, V., Berger, W., Achermann, P., and Landolt, H.-P. (2014). Dopaminergic Role in Regulating Neurophysiological Markers of Sleep Homeostasis in Humans. *Journal of Neuroscience* *34*, 566–573.
- Holst, S.C., Müller, T., Valomon, A., Seebauer, B., Berger, W., and Landolt, H.-P. (2017). Functional Polymorphisms in Dopaminergic Genes Modulate Neurobehavioral and Neurophysiological Consequences of Sleep Deprivation. *Sci Rep* *7*, 45982.
- Horne, J.A. and Osterg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *International Journal of Chronobiology* *4*, 97-110.
- Horne, J.A., and Reyner, L.A. (1996). Counteracting driver sleepiness: Effects of napping, caffeine, and placebo. *Psychophysiology* *33*, 306-309.
- Horrigan, L.A., Kelly, J.P., and Connor, T.J. (2004). Caffeine suppresses TNF- α production via activation of the cyclic AMP/protein kinase A pathway. *International Immunopharmacology* *4*, 1409–1417.
- Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Eguchi, N., Chen, J.-F., Schwarzschild, M.A., Fredholm, B.B., Urade, Y., and Hayaishi, O. (2005). Adenosine A2A, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat Neurosci* *8*, 858–859.
- Huang, Z.-L., Urade, Y., and Hayaishi, O. (2011). The Role of Adenosine in the Regulation of Sleep. *CTMC* *11*, 1047–1057.
- Huang, Z.-L., Zhang, Z., and Qu, W.-M. (2014). Roles of Adenosine and Its Receptors in Sleep–Wake Regulation. In *International Review of Neurobiology*, (Elsevier), pp. 349–371.
- Hudson, A.N., Van Dongen, H.P.A., and Honn, K.A. (2020). Sleep deprivation, vigilant attention, and brain function: a review. *Neuropsychopharmacol.* *45*, 21–30.
- Hunt, R.C., Simhadri, V.L., Iandoli, M., Sauna, Z.E., and Kimchi-Sarfaty, C. (2014). Exposing synonymous mutations. *Trends in Genetics* *30*, 308–321.

Iber, C., Ancoli-Israel, S., Chesson, A.L., and Quan, S.F. (2007). The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology, and technical specifications. Westchester, IL, American Academy of Sleep Medicine.

Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. (2001). *Caffeine for the Sustainment of Mental Operations*. Washington (DC): National Academies Press (US).

Irwin, M.R., and Cole, S.W. (2011). Reciprocal regulation of the neural and innate immune systems. *Nat Rev Immunol* *11*, 625–632.

Irwin, M.R., and Opp, M.R. (2017). Sleep Health: Reciprocal Regulation of Sleep and Innate Immunity. *Neuropsychopharmacol* *42*, 129–155.

Irwin, M.R., Olmstead, R., and Carroll, J.E. (2016). Sleep Disturbance, Sleep Duration, and Inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies and Experimental Sleep Deprivation. *Biological Psychiatry* *80*, 40–52.

Jaehne, A., Loessl, B., Bárkai, Z., Riemann, D., and Hornyak, M. (2009). Effects of nicotine on sleep during consumption, withdrawal and replacement therapy. *Sleep Medicine Reviews* *13*, 363–377.

James, J.E. (1998). Acute and Chronic Effects of Caffeine on Performance, Mood, Headache, and Sleep. *Neuropsychobiology* *38*, 32–41.

Jawinski, P., Tegelkamp, S., Sander, C., Häntzsch, M., Huang, J., Mauche, N., Scholz, M., Spada, J., Ulke, C., Burkhardt, R., et al. (2016). Time to wake up: No impact of COMT Val158Met gene variation on circadian preferences, arousal regulation and sleep. *Chronobiology International* *33*, 893–905.

Jewett, K.A., and Krueger, J.M. (2012). Humoral Sleep Regulation; Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor. In *Vitamins & Hormones*, (Elsevier), pp. 241–257.

Johansson, C., Willeit, M., Smedh, C., Ekholm, J., Paunio, T., Kieseppä, T., Lichtermann, D., Praschak-Rieder, N., Neumeister, A., Nilsson, L.-G., et al. (2003). Circadian Clock-Related Polymorphisms in Seasonal Affective Disorder and their Relevance to Diurnal Preference. *Neuropsychopharmacol* *28*, 734–739.

Johns, M.W. (1991). A New Method for Measuring Daytime Sleepiness: The Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* *14*, 540–545.

Johns, M.W. (1992). Reliability and Factor Analysis of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* *15*, 376–381.

Josse, A.R., Da Costa, L.A., Campos, H., and El-Sohemy, A. (2012). Associations between polymorphisms in the AHR and CYP1A1-CYP1A2 gene regions and habitual caffeine consumption. *The American Journal of Clinical Nutrition* *96*, 665–671.

Juliano, L.M., and Griffiths, R.R. (2004). A critical review of caffeine withdrawal: empirical validation of symptoms and signs, incidence, severity, and associated features. *Psychopharmacology* *176*, 1–29.

Kamimori, G.H., Penetar, D.M., Headley, D.B., Thorne, D.R., Otterstetter, R., and Belenky, G. (2000). Effect of three caffeine doses on plasma catecholamines and alertness during prolonged wakefulness. *Eur J Clin Pharmacol* *56*, 537–544.

Kamimori, G.H., Karyekar, C.S., Otterstetter, R., Cox, D.S., Balkin, T.J., Belenky, G.L., and Eddington, N.D. (2002). The rate of absorption and relative bioavailability of caffeine administered in chewing gum versus capsules to normal healthy volunteers. *International Journal of Pharmaceutics* *234*, 159–167.

- Khitrov, M.Y., Laxminarayan, S., Thorsley, D., Ramakrishnan, S., Rajaraman, S., Wesensten, N.J., and Reifman, J. (2014). PC-PVT: A platform for psychomotor vigilance task testing, analysis, and prediction. *Behav Res* *46*, 140–147.
- Killgore, W.D.S. (2010). Effects of sleep deprivation on cognition. In *Progress in Brain Research*, (Elsevier), pp. 105–129.
- Killgore, W.D.S., and Kamimori, G.H. (2020). Multiple caffeine doses maintain vigilance, attention, complex motor sequence expression, and manual dexterity during 77 hours of total sleep deprivation. *Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms* *9*, 100051.
- Killgore, W.D.S., Balkin, T.J., and Wesensten, N.J. (2006). Impaired decision making following 49 h of sleep deprivation. *J Sleep Res* *15*, 7–13.
- Killgore, W.D.S., Lipizzi, E.L., Kamimori, G.H., and Balkin, T.J. (2007). Caffeine Effects on Risky Decision Making After 75 Hours of Sleep Deprivation. *Asem* *78*, 957–962.
- Killgore, W.D.S., Rupp, T.L., Grugle, N.L., Reichardt, R.M., Lipizzi, E.L., and Balkin, T.J. (2008). Effects of dextroamphetamine, caffeine and modafinil on psychomotor vigilance test performance after 44 h of continuous wakefulness. *Journal of Sleep Research* *17*, 309–321.
- Knisely, M.R., Maserati, M., Heinsberg, L.W., Shah, L.L., Li, H., Zhu, Y., Ma, Y., Graves, L.Y., Merriman, J.D., and Conley, Y.P. (2019). Symptom Science: Advocating for Inclusion of Functional Genetic Polymorphisms. *Biological Research For Nursing* *21*, 349–354.
- Košir, R., Španinger, K., and Rozman, D. (2013). Circadian events in human diseases and in cytochrome P450-related drug metabolism and therapy. *IUBMB Life* *65*, 487–496.
- Kreth, S., Ledderose, C., Kaufmann, I., Groeger, G., and Thiel, M. (2008). Differential expression of 5'-UTR splice variants of the adenosine A_{2A} receptor gene in human granulocytes: identification, characterization, and functional impact on activation. *FASEB j.* *22*, 3276–3286.
- Kroeger, K.M., Carville, K.S., and Abraham, L.J. (1997). The -308 Tumor Necrosis Factor-Alpha Promoter Polymorphism Effects Transcription. *Molecular Immunology* *34*, 391–9.
- Krueger, J.M., Fang, J., Taishi, P., Chen, Z., Kushikata, T., Gardi, J. (1998). A Physiologic Role for IL-1 β and TNF- α . *Annals of the New York Academy of Sciences* *856*, 148–59.
- Krueger, J.M., Rector, D.M., and Churchill, L. (2007). Sleep and Cytokines. *Sleep Medicine Clinics* *2*, 161–169.
- Krueger, J. (2008). The Role of Cytokines in Sleep Regulation. *CPD* *14*, 3408–3416.
- Krueger, J.M., Rector, D.M., Roy, S., Van Dongen, H.P.A., Belenky, G., and Panksepp, J. (2008). Sleep as a fundamental property of neuronal assemblies. *Nat Rev Neurosci* *9*, 910–919.
- Krueger, J.M., Taishi, P., De, A., Davis, C.J., Winters, B.D., Clinton, J., Szentirmai, É., and Zielinski, M.R. (2010). ATP and the purine type 2 X7 receptor affect sleep. *Journal of Applied Physiology* *109*, 1318–1327.
- Kubo, T., Takeyama, H., Matsumoto, S., Ebara, T., Murata, K., Tachi, N., and Itani, T. (2007). Impact of Nap Length, Nap Timing and Sleep Quality on Sustaining Early Morning Performance. *Ind Health* *45*, 552–563.

- Lagarde, D., Batéjat, D., Sicard, B., Trocherie, S., Chassard, D., Enslin, M., and Chauffard, F. (2000). Slow-Release Caffeine: A New Response to the Effects of a Limited Sleep Deprivation. *Sleep* *23*, 1–11.
- Landolt, H.P., Dijk, D.J., Gaus, S.E., and Borbély, A.A. (1995). Caffeine Reduces Low-Frequency Delta Activity in the Human Sleep EEG. *Neuropsychopharmacology* *12*, 229–38.
- Lange, T., Dimitrov, S., and Born, J. (2010). Effects of sleep and circadian rhythm on the human immune system: Sleep, rhythms, and immune functions. *Annals of the New York Academy of Sciences* *1193*, 48–59.
- Lara, A.J., Abian, J., Alegre, L.M., Jimenez, L., and Aguado, X. (2006). Assessment of power output in jump tests for applicants to a sports sciences degree. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* *46*, 419–24.
- Lara, B., Gonzalez-Millán, C., Salinero, J.J., Abian-Vicen, J., Areces, F., Barbero-Alvarez, J.C., Muñoz, V., Portillo, L.J., Gonzalez-Rave, J.M., and Del Coso, J. (2014). Caffeine-containing energy drink improves physical performance in female soccer players. *Amino Acids* *46*, 1385–1392.
- Lauderdale, D.S., Knutson, K.L., Yan, L.L., Liu, K., and Rathouz, P.J. (2008). Self-Reported and Measured Sleep Duration: How Similar Are They? *Epidemiology* *19*, 838–845.
- Lee, C.-L., Cheng, C.-F., Lin, J.-C., and Huang, H.-W. (2012). Caffeine's effect on intermittent sprint cycling performance with different rest intervals. *Eur J Appl Physiol* *112*, 2107–2116.
- Léger, D., Bayon, V., Elbaz, M., Philip, P., and Choudat, D. (2011). Underexposure to light at work and its association to insomnia and sleepiness. *Journal of Psychosomatic Research* *70*, 29–36.
- Léger, D., Duforez, F., and Gronfier, C. (2018). Le traitement par la lumière des troubles circadiens du rythme veille-sommeil. *La Presse Médicale* *47*, 1003–1009.
- Léger, D., and Ogrizek, P. (2012). Troubles du sommeil et de l'éveil : mise au point. *La Revue de Médecine Interne* *33*, 525–531.
- Léger, D., Richard, J.-B., Collin, O., Sauvet, F., Faraut, B. (2020). Napping and weekend catchup sleep do not fully compensate for high rates of sleep debt and short sleep at a population level (in a representative nationwide sample of 12,637 adults). *Sleep Medicine* *74*, 278–88.
- Léger, D., Zeghnoun, A., Faraut B., Richard J.B. (2019). Le temps de sommeil, la dette de sommeil, la restriction de sommeil et l'insomnie chronique des 18-75 ans : résultats du Baromètre de Santé publique France2017. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 149–60.
- Lieberman, A.R., Halitjaha, L., Ay, A., and Ingram, K.K. (2018). Modeling Strengthens Molecular Link between Circadian Polymorphisms and Major Mood Disorders. *J Biol Rhythms* *33*, 318–336.
- Lieberman, H., Tharion, W., Shukitt-Hale, B., Speckman, K., and Tulley, R. (2002). Effects of caffeine, sleep loss, and stress on cognitive performance and mood during U.S. Navy SEAL training. *Psychopharmacology* *164*, 250–261.
- Lieberman, H.R., Bathalon, G.P., Falco, C.M., Kramer, F.M., Morgan, C.A., and Niro, P. (2005). Severe decrements in cognition function and mood induced by sleep loss, heat, dehydration, and undernutrition during simulated combat. *Biological Psychiatry* *57*, 422–429.

- Lieberman, H.R., Stavinoha, T., McGraw, S., White, A., Hadden, L., and Marriott, B.P. (2012). Caffeine Use among Active Duty US Army Soldiers. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* *112*, 902-912.e4.
- Lim, J., and Dinges, D.F. (2008). *Sleep Deprivation and Vigilant Attention*. *Annals of the New York Academy of Sciences* *1129*, 305–322.
- Lin, C.-L., Chien, W.-C., Chung, C.-H., and Wu, F.-L. (2018). Risk of type 2 diabetes in patients with insomnia: A population-based historical cohort study. *Diabetes Metab Res Rev* *34*, e2930.
- Lo, J.C., Groeger, J.A., Santhi, N., Arbon, E.L., Lazar, A.S., Hasan, S., von Schantz, M., Archer, S.N., and Dijk, D.-J. (2012). Effects of Partial and Acute Total Sleep Deprivation on Performance across Cognitive Domains, Individuals and Circadian Phase. *PLoS ONE* *7*, e45987.
- Louis, E., Franchimont, D., Piron, A., Gevaert, Y., Schaaf-Lafontaine, N., Roland, S., Mahieu, P., and Malaise, M. (1998). Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF- α production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clinical and Experimental Immunology* *6*.
- Lu, J., Greco, M.A., Shiromani, P., and Saper, C.B. (2000). Effect of Lesions of the Ventrolateral Preoptic Nucleus on NREM and REM Sleep. *J. Neurosci.* *20*, 3830–3842.
- Magill, R.A., Waters, W.F., Bray, G.A., Volaufova, J., Smith, S.R., Lieberman, H.R., McNevin, N., and Ryan, D.H. (2003). Effects of Tyrosine, Phentermine, Caffeine α -amphetamine, and Placebo on Cognitive and Motor Performance Deficits During Sleep Deprivation. *Nutritional Neuroscience* *6*, 237–246.
- Mah, C.D., Mah, K.E., Kezirian, E.J., and Dement, W.C. (2011). The Effects of Sleep Extension on the Athletic Performance of Collegiate Basketball Players. *Sleep* *34*, 943–950.
- Mah, C.D., Kezirian, E.J., Marcello, B.M., and Dement, W.C. (2018). Poor sleep quality and insufficient sleep of a collegiate student-athlete population. *Sleep Health* *4*, 251–257.
- Mahoney, C.R., Brunyé, T.T., Giles, G.E., Ditman, T., Lieberman, H.R., and Taylor, H.A. (2012). Caffeine increases false memory in nonhabitual consumers. *Journal of Cognitive Psychology* *24*, 420–427.
- Maire, M., Reichert, C.F., Gabel, V., Viola, A.U., Strobel, W., Krebs, J., Landolt, H.P., Bachmann, V., Cajochen, C., and Schmidt, C. (2014). Sleep ability mediates individual differences in the vulnerability to sleep loss: Evidence from a PER3 polymorphism. *Cortex* *52*, 47–59.
- Mander, B.A., Marks, S.M., Vogel, J.W., Rao, V., Lu, B., Saletin, J.M., Ancoli-Israel, S., Jagust, W.J., and Walker, M.P. (2015). β -amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nat Neurosci* *18*, 1051–1057.
- Markovic, D., and Challiss, R.A.J. (2009). Alternative splicing of G protein-coupled receptors: physiology and pathophysiology. *Cell. Mol. Life Sci.* *66*, 3337–3352.
- Marques, S., Batalha, V.L., Lopes, L.V., and Outeiro, T.F. (2011). Modulating Alzheimer's Disease Through Caffeine: A Putative Link to Epigenetics. *JAD* *24*, 161–171.
- Marshall, L., and Born, J. (2002). Brain-Immune interactions in sleep. In *International Review of Neurobiology*, (Elsevier), pp. 93–131.
- Martin, B.J. (1981). Effect of sleep deprivation on tolerance of prolonged exercise. *Europ. J. Appl. Physiol.* *47*, 345–354.

- Matthews, R.W., Ferguson, S.A., Zhou, X., Kosmadopoulos, A., Kennaway, D.J., and Roach, G.D. (2012). Simulated driving under the influence of extended wake, time of day and sleep restriction. *Accident Analysis & Prevention* *45*, 55–61.
- Mazzotti, D.R., Guindalini, C., Pellegrino, R., Barrueco, K.F., Santos-Silva, R., Bittencourt, L.R.A., and Tufik, S. (2011). Effects of the Adenosine Deaminase Polymorphism and Caffeine Intake on Sleep Parameters in a Large Population Sample. *Sleep* *34*, 399–402.
- Mazzotti, D.R., Guindalini, C., de Souza, A.A.L., Sato, J.R., Santos-Silva, R., Bittencourt, L.R.A., and Tufik, S. (2012). Adenosine Deaminase Polymorphism Affects Sleep EEG Spectral Power in a Large Epidemiological Sample. *PLoS ONE* *7*, e44154.
- McLellan, T.M., Caldwell, J.A., and Lieberman, H.R. (2016). A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *71*, 294–312.
- McLellan, M.T., Riviere, L.A., Williams, K.W., McGurk, D., and Lieberman, H.R. (2019). Caffeine and energy drink use by combat arms soldiers in Afghanistan as a countermeasure for sleep loss and high operational demands. *Nutrition Neuroscience* *22*, 768–777.
- McMahon, G., Taylor, A.E., Davey Smith, G., and Munafò, M.R. (2014). Phenotype Refinement Strengthens the Association of AHR and CYP1A1 Genotype with Caffeine Consumption. *PLoS ONE* *9*, e103448.
- Meerlo, P., Sgoifo, A., and Suchecki, D. (2008). Restricted and disrupted sleep: Effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. *Sleep Medicine Reviews* *12*, 197–210.
- Meissner, G. (2017). The structural basis of ryanodine receptor ion channel function. *Journal of General Physiology* *149*, 1065–1089.
- Mendrek, A., Monterosso, J., Simon, S.L., Jarvik, M., Brody, A., Olmstead, R., Domier, C.P., Cohen, M.S., Ernst, M., and London, E.D. (2006). Working memory in cigarette smokers: Comparison to non-smokers and effects of abstinence. *Addictive Behaviors* *31*, 833–844.
- Miaskowski, C., Dodd, M., Lee, K., West, C., Paul, S.M., Cooper, B.A., Wara, W., Swift, P.S., Dunn, L.B., and Aouizerat, B.E. (2010). Preliminary Evidence of an Association Between a Functional Interleukin-6 Polymorphism and Fatigue and Sleep Disturbance in Oncology Patients and Their Family Caregivers. *Journal of Pain and Symptom Management* *40*, 531–544.
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., and Caron, M.G. (1998). Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiological Reviews* *78*, 189–225.
- Moore, J., McDonald, C., McIntyre, A., Carmody, K., and Donne, B. (2018). Effects of acute sleep deprivation and caffeine supplementation on anaerobic performance. *Sleep Science* *11*, 2–7.
- Morgan, D., and Tsai, S.C. (2015). Sleep and the Endocrine System. *Critical Care Clinics* *31*, 403–418.
- Morris, C., Viriot, S.M., Farooq Mirza, Q.U.A., Morris, G.A., and Lynn, A. (2019). Caffeine release and absorption from caffeinated gums. *Food Funct.* *10*, 1792–1796.
- Nehlig, A. (2018). Interindividual Differences in Caffeine Metabolism and Factors Driving Caffeine Consumption. *Pharmacol Rev* *70*, 384–411.
- Nicholson, A.N., and Stone, B.M. (1980). Heterocyclic amphetamine derivatives and caffeine on sleep in man. *British Journal of Clinical Pharmacology* *9*, 195–203.

- Nordestgaard, A.T., and Nordestgaard, B.G. (2016). Coffee intake, cardiovascular disease and all-cause mortality: observational and Mendelian randomization analyses in 95 000–223 000 individuals. *Int. J. Epidemiol.* *45*, 325.
- Nowrangi, M.A., Lyketsos, C., Rao, V., and Munro, C.A. (2014). Systematic Review of Neuroimaging Correlates of Executive Functioning: Converging Evidence From Different Clinical Populations. *JNP* *26*, 114–125.
- Numakawa, T., Suzuki, S., Kumamaru, E., Adachi, N., Richards, M., and Kunugi, H. (2010). BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histology and Histopathology* *25*, 237–258.
- Oliveira, S., Ardais, A.P., Bastos, C.R., Gazal, M., Jansen, K., de Mattos Souza, L., da Silva, R.A., Kaster, M.P., Lara, D.R., and Ghisleni, G. (2019). Impact of genetic variations in ADORA2A gene on depression and symptoms: a cross-sectional population-based study. *Purinergic Signalling* *15*, 37–44.
- Oostenveld, R., Fries, P., Maris, E., and Schoffelen, J.-M. (2011). FieldTrip: Open Source Software for Advanced Analysis of MEG, EEG, and Invasive Electrophysiological Data. *Computational Intelligence and Neuroscience* *2011*, 1–9.
- Paiva, C., Beserra, B., Reis, C., Dorea, J., Da Costa, T., and Amato, A. (2019). Consumption of coffee or caffeine and serum concentration of inflammatory markers: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* *59*, 652–663.
- Pavlova, M.K., and Latreille, V. (2019). Sleep Disorders. *The American Journal of Medicine* *132*, 292–299.
- Pepin, E., Gillet, P., Sauvet, F., Gomez-Merino, D., Thaon, I., Chennaoui, M., and Leger, D. (2018). Shift work, night work and sleep disorders among pastry cooks and shopkeepers in France: a cross-sectional survey. *BMJ Open* *8*, e019098.
- Petit, J.-M., Bulet-Godinot, S., Magistretti, P.J., and Allaman, I. (2015). Glycogen metabolism and the homeostatic regulation of sleep. *Metab Brain Dis* *30*, 263–279.
- Pierres, V., Lefloch, H., Sauvet, F., and Chennaoui, M. (2016). Évaluation de l'impact des troubles du sommeil au sein de la Brigade des sapeurs-pompiers de Paris (BSPP). *Médecine du Sommeil* *13*, 19–20.
- Porkka-Heiskanen, T., and Kalinchuk, A.V. (2011). Adenosine, energy metabolism and sleep homeostasis. *Sleep Medicine Reviews* *15*, 123–135.
- Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R.E., and McCarley, R.W. (2000). Brain site-specificity of extracellular adenosine concentration changes during sleep deprivation and spontaneous sleep: an in vivo microdialysis study. *Neuroscience* *99*, 507–517.
- Porkka-Heiskanen, T., Zitting, K.-M., and Wigren, H.-K. (2013). Sleep, its regulation and possible mechanisms of sleep disturbances. *Acta Physiol* *208*, 311–328.
- Prather, A.A., Hall, M., Fury, J.M., Ross, D.C., Muldoon, M.F., Cohen, S., and Marsland, A.L. (2012). Sleep and Antibody Response to Hepatitis B Vaccination. *SLEEP*.
- Qu, W.-M., Xu, X.-H., Yan, M.-M., Wang, Y.-Q., Urade, Y., and Huang, Z.-L. (2010). Essential Role of Dopamine D2 Receptor in the Maintenance of Wakefulness, But Not in Homeostatic Regulation of Sleep, in Mice. *Journal of Neuroscience* *30*, 4382–4389.

- Rabat, A., Gomez-Merino, D., Roca-Paixao, L., Bougard, C., Van Beers, P., Dispersyn, G., Guillard, M., Bourrilhon, C., Drogou, C., Arnal, P.J., et al. (2016). Differential Kinetics in Alteration and Recovery of Cognitive Processes from a Chronic Sleep Restriction in Young Healthy Men. *Front. Behav. Neurosci.* *10*.
- Rabat, A., Arnal, P.J., Monnard, H., Erblang, M., Van Beers, P., Bougard, C., Drogou, C., Guillard, M., Sauvet, F., Leger, D., et al. (2019). Limited Benefit of Sleep Extension on Cognitive Deficits During Total Sleep Deprivation: Illustration With Two Executive Processes. *Front. Neurosci.* *13*, 591.
- Reichert, C.F., Maire, M., Gabel, V., Hofstetter, M., Viola, A.U., Kolodyazhniy, V., Strobel, W., Goetz, T., Bachmann, V., Landolt, H.-P., et al. (2014). The Circadian Regulation of Sleep: Impact of a Functional ADA-Polymorphism and Its Association to Working Memory Improvements. *PLoS ONE* *9*, e113734.
- Reissig, C.J., Strain, E.C., and Griffiths, R.R. (2009). Caffeinated energy drinks—A growing problem. *Drug and Alcohol Dependence* *99*, 1–10.
- Reitey, J.V., Adam, M., Honegger, E., Khatami, R., Luhmann, U.F.O., Jung, H.H., Berger, W., and Landolt, H.-P. (2005). A functional genetic variation of adenosine deaminase affects the duration and intensity of deep sleep in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *102*, 15676–15681.
- Rétey, J.V., Adam, M., Khatami, R., Luhmann, U.F.O., Jung, H.H., Berger, W., and Landolt, H.-P. (2007). A Genetic Variation in the Adenosine A2A Receptor Gene (ADORA2A) Contributes to Individual Sensitivity to Caffeine Effects on Sleep. *Clin Pharmacol Ther* *81*, 692–698.
- Ribeiro, J.A., and Sebastião, A.M. (2010). Caffeine and Adenosine. *JAD* *20*, S3–S15.
- Riksen, N.P., Franke, B., van den Broek, P., Naber, M., Smits, P., and Rongen, G.A. (2008). The 22G>A polymorphism in the adenosine deaminase gene impairs catalytic function but does not affect reactive hyperaemia in humans in vivo: Pharmacogenetics and Genomics *18*, 843–846.
- Robertson, D., Frölich, J.C., Carr, R.K., Watson, J.T., Hollifield, J.W., Shand, D.G., and Oates, J.A. (1978). Effects of caffeine on plasma renin activity, catecholamines and blood pressure. *The New England Journal of Medicine* *298*, 181–186.
- Rochat, C., Eap, C.B., Bochud, M., and Chatelan, A. (2019). Caffeine Consumption in Switzerland: Results from the First National Nutrition Survey MenuCH. *Nutrients* *12*, 28.
- Rockstrom, M.D., Chen, L., Taishi, P., Nguyen, J.T., Gibbons, C.M., Veasey, S.C., and Krueger, J.M. (2018). Tumor necrosis factor alpha in sleep regulation. *Sleep Medicine Reviews* *40*, 69–78.
- Rogers, P.J., Hohoff, C., Heatherley, S.V., Mullings, E.L., Maxfield, P.J., Evershed, R.P., Deckert, J., and Nutt, D.J. (2010). Association of the Anxiogenic and Alerting Effects of Caffeine with ADORA2A and ADORA1 Polymorphisms and Habitual Level of Caffeine Consumption. *Neuropsychopharmacol* *35*, 1973–1983.
- Rogers, P.J., Heatherley, S.V., Mullings, E.L., and Smith, J.E. (2013). Faster but not smarter: effects of caffeine and caffeine withdrawal on alertness and performance. *Psychopharmacology* *226*, 229–240.
- Rosenbloom, C. (2014). Energy Drinks, Caffeine, and Athletes: *Nutrition Today* *49*, 49–54.
- Rudolph, T., and Knudsen, K. (2010). A case of fatal caffeine poisoning. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* *54*, 521–523.

- Rupp, T., Arnedt, J.T., Acebo, C., and Carskadon, M.A. (2004). PERFORMANCE ON A DUAL DRIVING SIMULATION AND SUBTRACTION TASK FOLLOWING SLEEP RESTRICTION. *Perceptual and Motor Skills* *99*, 739-53.
- Rupp, T.L., Wesensten, N.J., Bliese, P.D., and Balkin, T.J. (2009). Banking Sleep: Realization of Benefits During Subsequent Sleep Restriction and Recovery. *32*, 11.
- Rupp, T.L., Wesensten, N.J., Newman, R., and Balkin, T.J. (2013). *PER3* and *ADORA2A* polymorphisms impact neurobehavioral performance during sleep restriction. *J Sleep Res* *22*, 160–165.
- Saadat, H., Bissonnette, B., Tumin, D., Thung, A., Rice, J., Barry, N., and Tobias, J. (2016). Time to talk about work-hour impact on anesthesiologists: The effects of sleep deprivation on Profile of Mood States and cognitive tasks. *Paediatr Anaesth* *26*, 66–71.
- Sachse, C., Brockmöller, J., Bauer, S., and Roots, I. (1999). Functional significance of a C→A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine: Short report. *British Journal of Clinical Pharmacology* *47*, 445–449.
- Sagaspe, P., Taillard, J., Chaumet, G., Guilleminault, C., Coste, O., Moore, N., Bioulac, B., and Philip, P.(2007). Maintenance of Wakefulness Test as a Predictor of Driving Performance in Patients With Untreated Obstructive Sleep Apnea. *Sleep*. *Sleep* *30*, 327-330.
- Sagaspe, P., Taillard, J., Åkerstedt, T., Bayon, V., Espié, S., Chaumet, G., Bioulac, B., and Philip, P. (2008). Extended Driving Impairs Nocturnal Driving Performances. *PLoS ONE* *3*, e3493.
- Santhi, N., Lazar, A.S., McCabe, P.J., Lo, J.C., Groeger, J.A., and Dijk, D.-J. (2016). Sex differences in the circadian regulation of sleep and waking cognition in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* *113*, E2730–E2739.
- Saper, C.B., Scammell, T.E., and Lu, J. (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* *437*, 1257–1263.
- Sateia, M.J. (2014). International Classification of Sleep Disorders-Third Edition. *Chest* *146*, 1387–1394.
- Satoh, S., Matsumura, H., Suzuki, F., and Hayaishi, O. (1996). Promotion of sleep mediated by the A2A-adenosine receptor and possible involvement of this receptor in the sleep induced by prostaglandin D2 in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *93*, 5980–5984.
- Satterfield, B.C., Wisor, J.P., Field, S.A., Schmidt, M.A., and Van Dongen, H.P. (2015). TNF α G308A polymorphism is associated with resilience to sleep deprivation-induced psychomotor vigilance performance impairment in healthy young adults. *Brain, Behavior, and Immunity* *47*, 66-74.
- Satterfield, B.C., Wisor, J.P., Schmidt, M.A., and Van Dongen, H.P.A. (2017). Time-on-Task Effect During Sleep Deprivation in Healthy Young Adults Is Modulated by Dopamine Transporter Genotype. *Sleep* *40*.
- Satterfield, B.C., Hinson, J.M., Whitney, P., Schmidt, M.A., Wisor, J.P., and Van Dongen, H.P.A. (2018). Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotype affects cognitive control during total sleep deprivation. *Cortex* *99*, 179–186.
- Satterfield, B.C., Stucky, B., Landolt, H.-P., and Van Dongen, H.P.A. (2019). Unraveling the genetic underpinnings of sleep deprivation-induced impairments in human cognition. In *Progress in Brain Research*, (Elsevier), pp. 127–158.

- Sauvet, F., Leftheriotis, G., Gomez-Merino, D., Langrume, C., Drogou, C., Van Beers, P., Bourrilhon, C., Florence, G., and Chennaoui, M. (2010). Effect of acute sleep deprivation on vascular function in healthy subjects. *Journal of Applied Physiology* *108*, 68–75.
- Sauvet, F., Drogou, C., Bougard, C., Arnal, P.J., Dispersyn, G., Bourrilhon, C., Rabat, A., Van Beers, P., Gomez-Merino, D., Faraut, B., et al. (2015). Vascular response to 1 week of sleep restriction in healthy subjects. A metabolic response? *International Journal of Cardiology* *190*, 246–255.
- Sauvet, F., Erblang, M., Gomez-Merino, D., Rabat, A., Guillard, M., Dubourdieu, D., Lefloch, H., Drogou, C., Van Beers, P., et al. (2019). Efficacy of THN102 (a combination of modafinil and flecainide) on vigilance and cognition during 40-hour total sleep deprivation in healthy subjects: Glial connexins as a therapeutic target. *British Journal of Clinical Pharmacology* *85*, 2623–33.
- Sauvet, F., Arnal, P.J., Tardo-Dino, P.-E., Drogou, C., Van Beers, P., Erblang, M., Guillard, M., Rabat, A., Malgoyre, A., Bourrilhon, C., et al. (2020). Beneficial effects of exercise training on cognitive performances during total sleep deprivation in healthy subjects. *Sleep Medicine* *65*, 26–35.
- Scammell, T.E., Gerashchenko, D.Y., Mochizuki, T., McCarthy, M.T., Estabrooke, I.V., Sears, C.A., Saper, C.B., Urade, Y., and Hayaishi, O. (2001). An adenosine A_{2A} agonist increases sleep and induces Fos in ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience* *107*, 653–663.
- Schmitz, R., and Peigneux, P. (2016). Plasticité cérébrale et processus mnésiques au cours du sommeil. In *Bienfaits et troubles du sommeil : Comprendre pour mieux prendre en charge*. (eds. Vanderheyden, S., and Noël, S). De Boeck Supérieur, 113–158.
- Shearer, W.T., Reuben, J.M., Mullington, J.M., Price, N.J., Lee, B.-N., Smith, E.O., Szuba, M.P., Van Dongen, H.P.A., and Dinges, D.F. (2001). Soluble TNF- α receptor 1 and IL-6 plasma levels in humans subjected to the sleep deprivation model of spaceflight. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* *107*, 165–170.
- Skein, M., Duffield, R., Edge, J., Short, M.J., and Mündel, T. (2011). Intermittent-Sprint Performance and Muscle Glycogen after 30 h of Sleep Deprivation: *Medicine & Science in Sports & Exercise* *43*, 1301–1311.
- Slavich, G.M., and Irwin, M.R. (2014). From stress to inflammation and major depressive disorder: A social signal transduction theory of depression. *Psychological Bulletin* *140*, 774–815.
- Smirmaul, B.P.C., de Moraes, A.C., Angius, L., and Marcora, S.M. (2017). Effects of caffeine on neuromuscular fatigue and performance during high-intensity cycling exercise in moderate hypoxia. *Eur J Appl Physiol* *117*, 27–38.
- Souissi, M., Chtourou, H., Abedelmalek, S., Ghozlane, I.B., and Sahnoun, Z. (2014). The effects of caffeine ingestion on the reaction time and short-term maximal performance after 36h of sleep deprivation. *Physiology & Behavior* *131*, 1–6.
- Souissi, N., Sesboüé, B., Gauthier, A., Larue, J., and Davenne, D. (2003). Effects of one night's sleep deprivation on anaerobic performance the following day. *Eur J Appl Physiol* *89*, 359–366.
- Spaeth, A.M., Goel, N., and Dinges, D.F. (2014). Cumulative neurobehavioral and physiological effects of chronic caffeine intake: individual differences and implications for the use of caffeinated energy products. *Nutr Rev* *72*, 34–47.
- Spiegel, K., Leproult, R., and Van Cauter, E. (1999). Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *The Lancet* *354*, 1435–1439.

Sulem, P., Gudbjartsson, D.F., Geller, F., Prokopenko, I., Feenstra, B., Aben, K.K.H., Franke, B., den Heijer, M., Kovacs, P., Stumvoll, M., et al. (2011). Sequence variants at CYP1A1–CYP1A2 and AHR associate with coffee consumption. *Human Molecular Genetics* *20*, 2071–2077.

Sutherland, E.W., and Rall, T.W. (1958). Fractionation and characterization of cyclic adenosine ribonucleotide formed by tissue particles. *Journal of biological chemistry* *232*, 1077-91.

Taillard, J., Philip, P., Claustrat, B., Capelli, A., Coste, O., Chaumet, G., and Sagaspe, P. (2011). Time Course of Neurobehavioral Alertness During Extended Wakefulness in Morning- and Evening-Type Healthy Sleepers. *Chronobiology International* *28*, 520–527.

Tallis, J., Duncan, M.J., and James, R.S. (2015). What can isolated skeletal muscle experiments tell us about the effects of caffeine on exercise performance?: Effects of caffeine on skeletal muscle contractility. *Br J Pharmacol* *172*, 3703–3713.

Temesi, J., Arnal, P.J., Davranche, K., Bonnefoy, R., Levy, P., Verges, S., and Millet, G.Y. (2013). Does Central Fatigue Explain Reduced Cycling after Complete Sleep Deprivation?: *Medicine & Science in Sports & Exercise* *45*, 2243–2253.

Temple, J.L., Bernard, C., Lipshultz, S.E., Czachor, J.D., Westphal, J.A., and Mestre, M.A. (2017). The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Front. Psychiatry* *8*, 80.

Tharion, W.J., Shukitt-Hale, B., and Lieberman, H.R. (2003). Caffeine Effects on Marksmanship During High-Stress Military Training with 72 Hours Sleep Deprivation. *Aviation Space and Environmental Medicine* *74*, 309-14.

The Coffee and Caffeine Genetics Consortium, International Parkinson's Disease Genomics Consortium (IPDGC), North American Brain Expression Consortium (NABEC), UK Brain Expression Consortium (UKBEC), Cornelis, M.C., Byrne, E.M., Esko, T., Nalls, M.A., Ganna, A., Paynter, N., et al. (2015). Genome-wide meta-analysis identifies six novel loci associated with habitual coffee consumption. *Mol Psychiatry* *20*, 647–656.

Thomas, M., Sing, H., Belenky, G., Holcomb, H., Mayberg, H., Dannals, R., Wagner, H., Thorne, D., Popp, K., Rowland, L., et al. (2000). Neural basis of alertness and cognitive performance impairments during sleepiness. I. Effects of 24 h of sleep deprivation on waking human regional brain activity. *J Sleep Res* *9*, 335–352.

Tkachenko, O., and Dinges, D.F. (2018). Interindividual variability in neurobehavioral response to sleep loss: A comprehensive review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *89*, 29–48.

Tononi, G., and Cirelli, C. (2006). Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Medicine Reviews* *10*, 49–62.

Tononi, G., and Cirelli, C. (2014). Sleep and the Price of Plasticity: From Synaptic and Cellular Homeostasis to Memory Consolidation and Integration. *Neuron* *81*, 12–34.

Torres, C., and Kim, Y. (2019). The effects of caffeine on marksmanship accuracy and reaction time: a systematic review. *Ergonomics* *62*, 1023–1032.

Tunbridge, E.M., Narajos, M., Harrison, C.H., Beresford, C., Cipriani, A., and Harrison, P.J. (2019). Which Dopamine Polymorphisms Are Functional? Systematic Review and Meta-analysis of COMT, DAT, DBH, DDC, DRD1–5, MAOA, MAOB, TH, VMAT1, and VMAT2. *Biological Psychiatry* *86*, 608–620.

- Turco, M., Biscontin, A., Corrias, M., Caccin, L., Bano, M., Chiaromanni, F., Salamanca, M., Mattei, D., Salvoro, C., Mazzotta, G., et al. (2017). Diurnal preference, mood and the response to morning light in relation to polymorphisms in the human clock gene PER3. *Sci Rep* *7*, 6967.
- Urry, E., and Landolt, H.-P. (2014). Adenosine, Caffeine, and Performance: From Cognitive Neuroscience of Sleep to Sleep Pharmacogenetics. In *Sleep, Neuronal Plasticity and Brain Function*, P. Meerlo, R.M. Benca, and T. Abel, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 331–366.
- Vaara, J.P., Oksanen, H., Kyröläinen, H., Virravirta, M., Koski, H., and Finni, T. (2018). 60-Hour Sleep Deprivation Affects Submaximal but Not Maximal Physical Performance. *Front. Physiol.* *9*, 1437.
- Valomon, A., Holst, S.C., Bachmann, V., Viola, A.U., Schmidt, C., Zürcher, J., Berger, W., Cajochen, C., and Landolt, H.-P. (2014). Genetic polymorphisms of *DAT1* and *COMT* differentially associate with actigraphy-derived sleep–wake cycles in young adults. *Chronobiology International* *31*, 705–714.
- Valomon, A., Holst, S.C., Borrello, A., Weigend, S., Müller, T., Berger, W., Sommerauer, M., Baumann, C.R., and Landolt, H.-P. (2018). Effects of COMT genotype and tolcapone on lapses of sustained attention after sleep deprivation in healthy young men. *Neuropsychopharmacol* *43*, 1599–1607.
- Van Cauter, E., Blackman, J.D., Roland, D., Spire, J.P., Refetoff, S., and Polonsky, K.S. (1991). Modulation of glucose regulation and insulin secretion by circadian rhythmicity and sleep. *J. Clin. Invest.* *88*, 934–942.
- Van Dongen, H.P.A., Price, N.J., Mullington, J.M., Szuba, M.P., Kapoor, S.C., and Dinges, D.F. (2001). Caffeine Eliminates Psychomotor Vigilance Deficits from Sleep Inertia. *Sleep* *24*, 813–819.
- Van Dongen, H.P.A., Maislin, G., Mullington, J.M., and Dinges, D.F. (2003). The Cumulative Cost of Additional Wakefulness: Dose-Response Effects on Neurobehavioral Functions and Sleep Physiology From Chronic Sleep Restriction and Total Sleep Deprivation. *Sleep* *26*, 117–126.
- Vandewalle, G., Archer, S.N., Wuillaume, C., Balteau, E., Degueldre, C., Luxen, A., Maquet, P., and Dijk, D.-J. (2009). Functional Magnetic Resonance Imaging-Assessed Brain Responses during an Executive Task Depend on Interaction of Sleep Homeostasis, Circadian Phase, and PER3 Genotype. *Journal of Neuroscience* *29*, 7948–7956.
- Vardar, S.A., Öztürk, L., Kurt, C., Bulut, E., Sut, N., and Vardar, E. (2007). Sleep deprivation induced anxiety and anaerobic performance. *Journal of Sports Science and Medicine* *6*, 532–37.
- Vgontzas, A.N., Papanicolaou, D.A., Bixler, E.O., Kales, A., Tyson, K., and Chrousos, G.P. (1997). Elevation of Plasma Cytokines in Disorders of Excessive Daytime Sleepiness: Role of Sleep Disturbance and Obesity. *82*, 4.
- Viola, A.U., Archer, S.N., James, L.M., Groeger, J.A., Lo, J.C.Y., Skene, D.J., von Schantz, M., and Dijk, D.-J. (2007). PER3 Polymorphism Predicts Sleep Structure and Waking Performance. *Current Biology* *17*, 613–618.
- Volkow, N.D., Wang, G.-J., Telang, F., Fowler, J.S., Logan, J., Wong, C., Ma, J., Pradhan, K., Tomasi, D., Thanos, P.K., et al. (2008). Sleep Deprivation Decreases Binding of [11C]Raclopride to Dopamine D2/D3 Receptors in the Human Brain. *Journal of Neuroscience* *28*, 8454–8461.
- Volkow, N.D., Wang, G.-J., Logan, J., Alexoff, D., Fowler, J.S., Thanos, P.K., Wong, C., Casado, V., Ferre, S., and Tomasi, D. (2015). Caffeine increases striatal dopamine D2/D3 receptor availability in the human brain. *Transl Psychiatry* *5*, e549–e549.

- Von Ruesten, A., Weikert, C., Fietze, I., and Boeing, H. (2012). Association of Sleep Duration with Chronic Diseases in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *PLoS ONE* *7*, e30972.
- Vorona, R.D., Winn, M.P., Babineau, T.W., Eng, B.P., Feldman, H.R., and Ware, J.C. (2005). Overweight and Obese Patients in a Primary Care Population Report Less Sleep Than Patients With a Normal Body Mass Index. *Arch Intern Med* *165*, 25.
- Voskoboinik, A., Kalman, J.M., and Kistler, P.M. (2018). Caffeine and Arrhythmias: Time to Grind the Data. *JACC clinical electrophysiology* *4*, 425-32.
- Wadhi, T., Rauch, J., Tamulevicius, N., Andersen, J., and De Souza, E. (2018). Validity and Reliability of the GymAware Linear Position Transducer for Squat Jump and Counter-Movement Jump Height. *Sports* *6*, 177.
- Wadhwa, M., Chauhan, G., Roy, K., Sahu, S., Deep, S., Jain, V., Kishore, K., Ray, K., Thakur, L., and Panjwani, U. (2018). Caffeine and Modafinil Ameliorate the Neuroinflammation and Anxious Behavior in Rats during Sleep Deprivation by Inhibiting the Microglia Activation. *Front. Cell. Neurosci.* *12*, 49.
- Warren, G.L., Park, N.D., Maresca, R.D., Mckibans, K.I., and Millard-Stafford, M.L. (2010). Effect of Caffeine Ingestion on Muscular Strength and Endurance: A Meta-Analysis. *Medicine & Science in Sports & Exercise* *42*, 1375–1387.
- Wesensten, N., Belenky, G., Kautz, M.A., Thorne, D.R., Reichardt, R.M., and Balkin, T.J. (2002). Maintaining alertness and performance during sleep deprivation: modafinil versus caffeine. *Psychopharmacology* *159*, 238–247.
- Wesensten, N.J., Killgore, W.D.S., and Balkin, T.J. (2005). Performance and alertness effects of caffeine, dextroamphetamine, and modafinil during sleep deprivation. *J Sleep Res* *14*, 255–266.
- Whitney, P., Hinson, J.M., Jackson, M.L., and Van Dongen, H.P.A. (2015). Feedback Blunting: Total Sleep Deprivation Impairs Decision Making that Requires Updating Based on Feedback. *Sleep* *38*, 745–754.
- Wilson, A.G., Symons, J.A., McDowell, T.L., McDevitt, H.O., and Duff, G.W. (1997). Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor promoter on transcriptional activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *94*, 3195–3199.
- Womack, C.J., Saunders, M.J., Bechtel, M.K., Bolton, D.J., Martin, M., Luden, N.D., Dunham, W., and Hancock, M. (2012). The influence of a CYP1A2 polymorphism on the ergogenic effects of caffeine. *J Int Soc Sports Nutr* *9*, 7.
- Wyatt, J.K., Cajochen, C., Cecco, A.R.-D., Czeisler, C.A., and Dijk, D.-J. (2004). Low-Dose Repeated Caffeine Administration for Circadian-Phase-Dependent Performance Degradation During Extended Wakefulness. *Sleep* *27*, 374–381.
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M.J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., O'Donnell, J., Christensen, D.J., Nicholson, C., Iliff, J.J., et al. (2013). Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science* *342*, 373–377.
- Yin, Y., Liu, Y., Pan, X., Chen, R., Li, P., Wu, H.-J., Zhao, Z.-Q., Li, Y.-P., Huang, L.-Q., Zhuang, J.-H., et al. (2016). Interleukin-1 β Promoter Polymorphism Enhances the Risk of Sleep Disturbance in Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* *11*, e0149945.

Zaki, N.F.W., Saleh, E., Elwasify, M., Mahmoud, E., Zaki, J., Spence, D.W., BaHammam, A.S., and Pandi-Perumal, S.R. (2019). The association of BDNF gene polymorphism with cognitive impairment in insomnia patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 88, 253–264.

Zhang, Y., Ren, R., Sanford, L.D., Yang, L., Zhou, J., Zhang, J., Wing, Y.-K., Shi, J., Lu, L., and Tang, X. (2019). Sleep in posttraumatic stress disorder: A systematic review and meta-analysis of polysomnographic findings. *Sleep Medicine Reviews* 48, 101210.

ANNEXES

Annexe 1.

Tableau : Les caractéristiques de certains polymorphismes génétiques.

| MOLECULE | SNP ID | Alias | Allèle | CHROMOSOME | POSITION GENE | NB EXONS | POSITION SNP | TYPE DE MUTATION |
|---------------|--|------------|--|------------|-----------------------------|----------|--|--|
| ADORA2A | rs5751862 rs2298383 rs3761422 rs2236624 rs5751876 rs4822492 | T1976C | G/A C/T C/T C/T C/T C/G | 22 | 24,417,879 – 24,442,360 | 4 | 24,406,596 24,429,543 24,430,704 24,440,056 24,441,333 24,447,626 | 5'regulation 5'UTR 5'UTR Intron 3-4 Synonymes (exon 4) 3'UTR AS |
| TNF- α | rs1800629 | G308A | G/A | 6 | 31,575,254 - 31,578,336 | 4 | 31 575 254 | Variant en amont de 5' – régulation de la transcription |
| IL-1 β | rs1143627 | | G/A | 2 | 112,829,751- 112,836,903 | 7 | 112 836 810 | Variant 5'UTR |
| IL-6 | rs4719714 | | A/T | 7 | 22,725,884- 22,732,002 | 6 | 22 721 094 | Variant intergénique |
| CYP1A1/2 | rs2472297 | | C/T | 15 | 74,748,845 - 74,756,607 | 7 | 74 735 539 | Variant intergénique |
| CYP1A2 | rs762551 | | A/C | 15 | 74,748,845 - 74,756,607 | 7 | 74 749 576 | Variant intron 1-2 |
| ADA | rs73598374 | G>A | C/T | 20 | 44,619,522 – 44,652,233 | 12 | 44 651 586 | Variant faux sens (exon 1) |
| COMT | rs4680 | Val158Met | G/A | 22 | 19,941,607- 19,969,975 | 6 | 19 963 748 | Variant faux sens Val > Met |
| BDNF | rs6265 | | C/T | 11 | 27,654,893 – 27,722,058 | 1 | 27 658 369 | Variant faux sens (exon 1) Val > Met |
| PER3 | rs228697 | 7827519C>G | C/G | 1 | 7,784,320 - 7,845,177 | 22 | 7 827 519 | Variant faux sense (exon 18) Pro> Ala |

Annexe 2.

Erblang, M., Drogou, C., Gomez-Merino, D., Metlaine, A., Boland, A., Deleuze, J.F., Thomas, C., Sauvet, F., and Chennaoui, M. (2019). The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association between Caffeine Consumption and Sleep. *Genes* *10*, 1021.

Article

The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association between Caffeine Consumption and Sleep

Mégane Erblang¹, Catherine Drogou¹, Danielle Gomez-Merino¹ , Arnaud Metlaine², Anne Boland³ , Jean François Deleuze³, Claire Thomas⁴, Fabien Sauvet¹ and Mounir Chennaoui^{1,*} 

¹ Unité Fatigue et Vigilance, Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA), EA 7330 VIFASOM, Université de Paris, 75004 Paris, France; megane.erblang@gmail.com (M.E.); catherine.drogou@gmail.com (C.D.); dangomez51@gmail.com (D.G.-M.); fabien.sauvet@gmail.com (F.S.)

² EA 7330 VIFASOM, Université de Paris, APHP, Hôtel Dieu, Centre du Sommeil et de la Vigilance, 75004 Paris, France; arnaud.metlaine@aphp.fr

³ Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, 91057 Evry, France; boland@cng.fr (A.B.); deleuze@cng.fr (J.F.Z.)

⁴ Unité de Biologie Intégrative des Adaptations à l'Exercice, Université Evry, Université, Paris-Saclay, 91025 Evry, France; Claire.thomas@uni-evry.fr

* Correspondence: mounirchennaoui@gmail.com

Received: 5 November 2019; Accepted: 5 December 2019; Published: 6 December 2019



Abstract: ADORA2A has been shown to be responsible for the wakefulness-promoting effect of caffeine and the 1976T>C genotype (SNP rs5751876, formerly 1083T>C) to contribute to individual sensitivity to caffeine effects on sleep. We investigate the association between six single nucleotide polymorphisms (SNP) from ADORA2A and self-reported sleep characteristics and caffeine consumption in 1023 active workers of European ancestry aged 18–60 years. Three groups of caffeine consumers were delineated: low (0–50 mg/day, less than one espresso per day), moderate (51–300 mg/day), and high (>300 mg/day). We found that at caffeine levels higher than 300 mg/day, total sleep time (TST) decreased ($F = 13.9$, $p < 0.01$), with an increase of insomnia (ORa [95%CI] = 1.5 [1.1–1.9]) and sleep complaints (ORa [95%CI] = 1.9 [1.1–3.3]), whatever the ADORA2A polymorphism. Odds ratios were adjusted (ORa) for sex, age, and tobacco. However, in low caffeine consumers, lower TST was observed in the T allele compared to homozygote rs5751876 and rs3761422 C carriers. Conversely, higher TST was observed in rs2298383 T allele compared to C and in rs4822492G allele compared to the homozygote C ($p < 0.05$). These 4 SNPs are in strong linkage disequilibrium. Haplotype analysis confirmed the influence of multiple ADORA2a SNPs on TST. In addition, the rs2298383 T and rs4822492 G alleles were associated with higher risk of sleep complaints (Ora = 1.9 [1.2–3.1] and Ora = 1.5 [1.1–2.1]) and insomnia (Ora = 1.5 [1.3–2.5] and Ora = 1.9 [1.3–3.2]). The rs5751876 T allele was associated with a decreased risk of sleep complaints (Ora = 0.7 [0.3–0.9]) and insomnia (Ora = 0.5 [0.3–0.9]). Our results identified ADORA2A polymorphism influences in the less-than-300-mg-per-day caffeine consumers. This opens perspectives on the diagnosis and pharmacology of sleep complaints and caffeine chronic consumption.

Keywords: caffeine; sleep; adenosine A2A receptor; ADORA2A; polymorphisms

1. Introduction

Consumption of caffeine, an adenosine receptor antagonist, is the most widely consumed stimulant in the world [1,2]. It is found in a variety of foods and beverages, such as coffee, tea, chocolate, and

energy drinks; coffee being the primary dietary caffeine source in Western Europe and the United States. It is used to enhance performance by athletes and as a countermeasure against fatigue in shift workers, airline pilots, and truck drivers [3]. Caffeine attenuates waking and sleep electroencephalographic markers of sleep homeostasis in humans [4].

It is generally accepted that caffeine promotes wakefulness by unselectively antagonizing adenosine receptors in the brain [2,5]. Adenosine is a metabolic intermediate of the energy-rich molecule adenosine-tri-phosphate (ATP), acting as an endogenous homeostatic sleep factor, with increased levels in the basal forebrain during prolonged wakefulness and resolves during sleep [6]. The sleep-inducing effects of extracellular adenosine are mediated mainly through the inhibitory G protein-coupled adenosine A1 receptor and the excitatory G protein-coupled adenosine A2A receptor (A2AR) that are ubiquitously distributed throughout the brain [5]. Accumulating evidence suggests that among these receptors responsible for sleep induction, the role of A2A is predominant in sleep regulation, whereas A1 contributes to sleep induction in a region-dependent manner but may not be absolutely necessary for sleep homeostasis [7]. In our previous study, we described an upregulation of A2AR expression in human leukocytes from healthy young subjects after 24 h of sleep deprivation while A1R was not changed [8]. The metabolism, clearance, and pharmacokinetics of caffeine is affected by many factors (age, smoking, diet, medications, sex and hormones, liver disease, obesity) and also by genetic variability affecting caffeine levels and effects at the pharmacokinetic and pharmacodynamic levels that both critically drive the level of caffeine consumption [9]. Both at pharmacodynamic and consumption levels, and those of tolerance to sleep deprivation and side effects, several polymorphisms of the ADORA2A gene, the major target of caffeine action in the brain, have been shown to be implicated [10–14].

The ADORA2A locus is located on human chromosome 22 and contains a set of SNPs (single nucleotide polymorphism), the most studied being rs5751876 (formally designated as 1976C/T or 1083C/T). Other polymorphisms such as rs2298383 and rs3761422 are in high linkage disequilibrium with the rs5751876 [12]. The 1976T>C polymorphism of ADORA2A modulates the EEG activity of the wake–sleep continuum [15], contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep [11] and greater sensitivity to caffeine-induced anxiety [12]. Recently, an association was found between caffeine consumption and objective sleep variables in the T allele genotype carriers and not in the CC genotype of the ADORA2A rs5751876 single nucleotide polymorphism (SNP) [16]. Furthermore, among several ADORA2A polymorphisms, rs5751876 and several other variants in high LD (linkage disequilibrium) (rs5751862, rs2298383, and rs3761422), as well as the corresponding haplotypes, were found associated with anxiety, and of these variants, rs2298383 was shown to possess functional potential and might, therefore, represent the true underlying causal variant [17]. In a second study, these authors showed that the rs5751876 SNP is highly correlated with *in vivo* adenosine A1 receptor binding in the human brain [18].

Our aim is to assess the influence of six ADORA2A SNPs on self-reported sleep characteristics and caffeine consumption in a French active worker population ($n = 1023$ participants). The six ADORA2A SNPs, selected because of their involvement in caffeine consumption, sensitivity to caffeine effects on sleep, sleep disorders and anxiety in literature, were rs5751876, rs2298383, rs3761422, rs5751862, rs2236624, and rs4822492.

The principal conclusions are that: (1) in low caffeine consumers (less than 300 mg per day) a combination of ADORA2A polymorphisms influences TST (total sleep time) and the risk of sleep complaints and insomnia, and (2) at caffeine daily consumption higher than 300 mg/day, total sleep time (TST) decreases and prevalence of insomnia and sleep complaints increases, whatever the ADORA2A polymorphism. This opens perspectives on the diagnosis and pharmacology of sleep complaints and caffeine chronic consumption.

2. Results

2.1. Subjects

The questionnaire was completed by 1083 participants of European ancestry. We excluded 60 participants, of which 22 provided a saliva sample that was not usable, one did not sign the informed consent, 34 had at least one missing response on the questionnaire, and 3 presented an exclusion criteria. Finally, a total of 1023 questionnaires (618 men and 405 women) were analyzed.

2.2. Sociodemographic Data and Lifestyle Habits

The participants were aged between 18 and 60 years (32.5 ± 9.6) and were divided into 60.4% ($N = 618$) male and 39.6% ($N = 405$) female (Table 1). Most of the participants (43.3%) were single, and 56.6% were married or living with a partner. About 37.8% of them had children. The mean BMI was 23.6 ± 3.5 kg/m²; 56 (5.5%) were obese and 225 (22.0%) were overweight. About 192 (18.8%) of the participants are current smokers and 81.0% have never been smokers. About 76 (7.4%) of the participants consumed alcohol and 671 (65.6%) exercised more than 2 h per week. 129 (12.6%) regularly took pharmaceutical treatments. The most frequent medications were contraceptive (26.5%), levothyrox (7.5%), blood pressure (7.5%), allergy (7.4%), asthma (7.5%) and proton pump inhibitor (PPI, 6.5%) treatments. The use of sedatives concerned only 9 participants (i.e., 0.9%).

Table 1. The sociodemographic data, lifestyle habits, sleep duration, and sleep disorders of subjects.

| Women or Men | 405 (39.6%) or 618 (60.4%) |
|---------------------------------------|----------------------------|
| Age, years | 32.5 ± 9.6 |
| BMI, kg/m ² | 23.6 ± 3.5 |
| Alcohol consumption (min 1 glass/day) | 76 (7.4%) |
| Current smoker (>1 cigarette per day) | 192 (18.8%) |
| Physical activity (>2 h/week) | 671 (65.6%) |
| Shift work (3 × 8 h) | 19 (1.9%) |
| Medication (>5 years) | 129 (12.6%) |
| Caffeine consumption, mg/day | 243 ± 208 |
| Epworth sleepiness scale, score | 7.7 ± 3.9 |
| Total sleep time, h | 7.0 ± 1.0 |
| Sleep complaints (>3 months) | 479 (46.8%) |
| Sleep disorders | |
| Insomnia | 109 (10.7%) |
| Severe insomnia | 4 (0.4%) |
| Sleep apnea | 115 (11.2%) |
| Use of sedative | 9 (0.9%) |

Values are mean \pm SD (quantitative variable) or occurrence (%) (qualitative variable), $N = 1023$.

The mean daily caffeine consumption was 243 ± 208 (SD) mg/d. Two hundred and two (19.7%) pertain to the low (0 to 50 mg/day) caffeine consumer group, 478 (46.7%) to the moderate (51 to 300 mg/day), and 343 (33.5%) to the high (>300 mg/day) caffeine consumers. Age varied among the groups, with younger subjects in low compared to high caffeine consumers (28.7 ± 8.7 years vs. 35.9 ± 9.1 years). Smokers were overrepresented ($p < 0.01$) in the high (30.8%) and moderate (12.1%) caffeine consumption groups compared to the low caffeine group (7%). In the moderate and the high caffeine consumer groups, 5.5% and 19.0% of smokers consumed more than 5 cigarettes per day, respectively. Of the 1023 participants, 46.8% reported sleep complaints and 10.7% insomnia.

2.3. Sleep Duration, Sleep Complaints and Insomnia According to Caffeine Consumption

The self-reported nocturnal total sleep time (TST) significantly decreased with the increase of caffeine consumption, whatever the genotype. The ANOVA analysis showed that TST was significantly lower in high consumers compared with low and moderate consumers ($F = 13.85$, $p < 0.01$; Table 2).

Table 2. Total sleep time (TST), sleep complaints, and insomnia, according to caffeine consumption.

| | Low Caffeine Consumers (0–50 mg/day) | Moderate Caffeine Consumers (51–300 mg/day) | High Caffeine Consumers (>300 mg/day) | Statistical Analysis |
|--|---|--|--|-----------------------------|
| <i>N</i> | 202 (19.7%) | 478 (46.7%) | 343 (33.5%) | |
| TST(total sleep time), hours \pm SD | 7.15 \pm 1.16 | 7.04 \pm 0.89 | 6.75 \pm 0.93 *# | $F = 13.9$, $p = 0.01$ |
| Sleep complaints >3 months, <i>n</i> (%) | 93 (46.0%) | 206 (43.1%) | 180 (52.5%) *# | $\chi^2 = 7.1$, $p = 0.03$ |
| Insomnia, <i>n</i> (%) | 15 (7.4%) | 51 (10.7%) | 43 (12.5%) * | $\chi^2 = 3.5$, $p = 0.05$ |

N: number of subjects in the three groups with caffeine consumption. SD: standard deviation; * $p < 0.01$, vs. low caffeine consumers (0–50 mg/day); # $p < 0.01$ vs. moderate caffeine consumers (51–300 mg/day).

Sleep complaints were significantly higher (ORa = 1.9 [1.1–3.3]) in high caffeine consumers compared to low and moderate consumers, and insomnia was higher in high compared to low consumers (ORa = 1.5 [1.1–1.9]).

The percentage of participants reporting caffeine side effects significantly increased with the daily caffeine consumption ($p < 0.01$), with 50% reporting at least one side effect when caffeine consumption is higher than 300 mg. The diuretic effect of caffeine is prevalent when caffeine consumption is higher than 300 mg.

2.4. Genotype Prevalence of the Six ADORA2A Polymorphisms

The genotype prevalence of the six ADORA2A SNPs in our study is similar to the 1000 Genomes Project data on the GRCh38 reference assembly (Table 3). Genotype frequencies of all SNPs conformed to the Hardy–Weinberg equilibrium ($p > 0.16$ for all). The pairwise linkage disequilibrium analysis showed moderate to strong LD between ADORA2A variants (Figure 1B). We observed a *R*-square value >0.8 between rs2298383, rs3761422, rs5751876, and rs4822492.

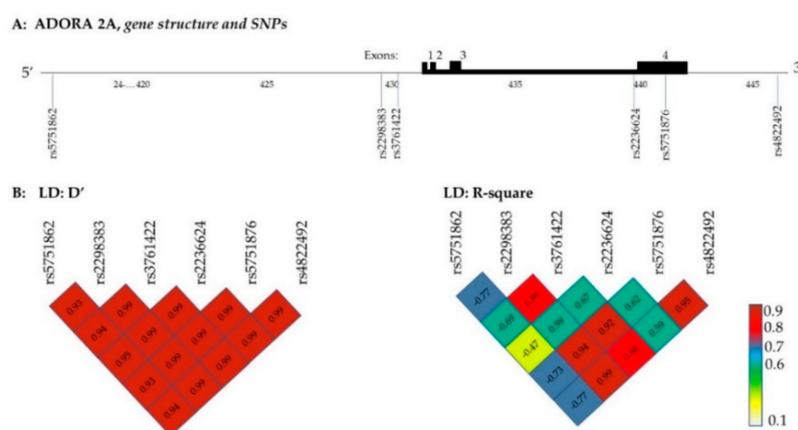


Figure 1. Genomic organization of the ADORA2A gene (NM_000675 located on Chr. 22q11.23, GRCh38.p12) with the position of selected SNPs (A) and pairwise linkage disequilibrium (LD) structure (B). ADORA2A coding exons are 1, 2, 3, 4, and illustrated by higher black block. On the GRCh38 reference genome, the rs5751862 is on 5' regulation, rs2298383 and rs3761422 are 5'UTR, rs2236624 is intronic on 3-4, rs5751876 is a synonymous variant located on the exon 4, and rs4822492 is on 3'UTR AS. Shades of colored/numbers in boxes show the extent of LD (red/higher numbers = higher LD, white/lower numbers = lower LD) assessed through statistics *D'* and *R*-square.

Table 3. The six ADORA2A SNPs characteristics and genotypes frequencies.

| SNP | Gene Position (GRCh38) | Chromosome/Location | Genotype | Genotype Frequency | |
|-----------|------------------------|---------------------|----------|--------------------|--------------|
| | | | | This Study | 1000 Genomes |
| rs5751862 | 5' flank, regulation | 22/ 24,406,596 | G/G (a) | 28.8 | 25 |
| | | | G/A | 48.2 | 50.5 |
| | | | A/A | 21.9 | 24 |
| rs2298383 | 5'UTR | 22/ 24,429,543 | C/C (a) | 20.6 | 17.1 |
| | | | C/T | 45.3 | 48.5 |
| | | | T/T | 32.4 | 34.4 |
| rs3761422 | 5'UTR | 22/ 24,430,704 | C/C (a) | 38.9 | 38.4 |
| | | | C/T | 44.8 | 46.3 |
| | | | T/T | 14.6 | 15.3 |
| rs2236624 | Intron 3–4 | 22/ 24,440,056 | C/C (a) | 61.1 | 54.7 |
| | | | C/T | 32.8 | 36.8 |
| | | | T/T | 5.1 | 8.5 |
| rs5751876 | Exon 4 | 22/ 24,441,333 | C/C (a) | 35 | 37.4 |
| | | | C/T | 44.5 | 47.1 |
| | | | T/T | 18.1 | 15.5 |
| rs4822492 | 3' UTR (antisense) | 22/ 24,447,626 | C/C (a) | 20.5 | 17.1 |
| | | | C/G | 45.1 | 48.5 |
| | | | G/G | 33 | 34.4 |

(a) ancestral genotype; N = 1023 in this study.

2.5. Impact of the Six ADORA2A SNPs on Total Sleep Time (TST) According to Caffeine Consumption

The two-way ANOVA analysis showed no significant effect of genotype but a significant effect of caffeine consumption on TST for the six ADORA2A SNPs, with significant interaction between genotype and caffeine consumption for 4 SNPs (Tables 4 and 5). Post hoc analysis showed that genotype is associated with a significant difference in TST only for low caffeine consumers (<50 mg per day, i.e., less than one espresso coffee per day). In low caffeine consumers, TST level was significantly lower in the T/C and T/T carriers compared to C/C (ancestral) carriers of two ADORA2A SNPs (rs5751876 and rs3761422) while TST level was higher in the T/T (vs. C/C) carriers of the rs2298383 and the G (G/C and G/G) compared to C/C carriers of the rs4822492 (Table 5).

Table 4. Impact of the six ADORA2A SNPs on total sleep time (TST), sleep complaints, and insomnia.

| SNP | Genotype | N | Total Sleep Time (TST) | Sleep Complaints | | Insomnia | |
|-----------|----------|-----|------------------------|------------------|-----------------|------------|-----------------|
| | | | Mean ± 95% CI | n (%) | ORa (95% CI) | n (%) | ORa (95% CI) |
| rs5751862 | G/G (a) | 293 | 7.02 ± 0.12 | 124 (42.3%) | 1 | 32 (10.9%) | 1 |
| | G/A | 493 | 6.98 ± 0.14 | 226 (46.0%) | 1.2 (0.9–1.5) | 46 (9.3%) | 1.2 (0.73–2.13) |
| | A/A | 224 | 6.89 ± 0.16 | 123 (54.7%) | 1.6 (0.9–2.3) | 30 (13.4%) | 0.8 (0.52–1.34) |
| rs2298383 | C/C (a) | 210 | 6.99 ± 0.14 | 88 (41.9%) | 1 | 23 (10.9%) | 1 |
| | C/T | 463 | 6.94 ± 0.12 | 207 (44.7%) | 1.2 (0.6–1.4) | 40 (8.6%) | 0.8 (0.4–1.3) |
| | T/T | 332 | 7.01 ± 0.14 | 174 (52.4%) | 1.9 (1.2–3.1) * | 44 (13.3%) | 1.5 (1.3–2.5) * |
| rs3761422 | C/C (a) | 398 | 6.99 ± 0.10 | 200 (49.1%) | 1 | 49 (12.0%) | 1 |
| | C/T | 458 | 6.91 ± 0.10 | 204 (44.5%) | 0.7 (0.6–1.0) | 38 (8.3%) | 0.6 (0.4–0.9) * |
| | T/T | 149 | 7.08 ± 0.16 | 64 (43.0%) | 0.8 (0.5–1.1) | 19 (12.8%) | 0.6 (0.6–1.7) |
| rs2236624 | C/C (a) | 625 | 6.97 ± 0.04 | 299 (47.8%) | 1 | 67 (10.7%) | 1 |
| | C/T | 337 | 6.94 ± 0.05 | 153 (45.4%) | 0.9 (0.7–1.2) | 35 (10.4%) | 0.9 (0.6–1.6) |
| | T/T | 51 | 7.03 ± 0.14 | 21 (41.2%) | 0.8 (0.4–1.4) | 7 (13.7%) | 1.4 (0.6–3.2) |
| rs5751876 | C/C (a) | 359 | 6.98 ± 0.05 | 185 (51.5%) | 1 | 46 (12.8%) | 1 |
| | C/T | 454 | 6.93 ± 0.04 | 198 (43.6%) | 0.7 (0.5–0.9) * | 36 (7.9%) | 0.5 (0.3–0.9) * |
| | T/T | 182 | 6.99 ± 0.08 | 80 (43.2%) | 0.7 (0.5–0.9) * | 21 (11.5%) | 0.9 (0.5–1.5) |
| rs4822492 | C/C (a) | 210 | 6.98 ± 0.05 | 89 (42.4%) | 1 | 23 (10.9%) | 1 |
| | C/G | 461 | 6.93 ± 0.04 | 207 (44.9%) | 1.1 (0.5–1.2) | 39 (8.4%) | 1.3 (0.7–2.2) |
| | G/G | 339 | 7.01 ± 0.07 | 178 (52.5%) | 1.5 (1.1–2.1) * | 46 (13.6%) | 1.9 (1.3–3.2) * |

A = ancestral. * $p < 0.05$ significant difference vs. the ancestral genotype (C/C for rs5751876, rs2298383, rs3761422, and rs4822492). N is the total number of subjects with the alleles, n is the number of subjects with sleep complaints and insomnia for each genotype. ORa: adjusted odds ratio (age, tobacco, sex).

Table 5. Impact of the six ADORA2A SNPs on total sleep time (TST) according to caffeine consumption.

| SNP | Genotype | Low Caffeine Consumers (0–50 mg/day) | | Moderate Caffeine Consumers (51–300 mg/day) | | High Caffeine Consumers (>300 mg/day) | | ANOVA (<i>F</i> (<i>p</i>)) | | |
|-----------|----------|--------------------------------------|---------------|---|---------------|---------------------------------------|---------------|--|---|--|
| | | <i>N</i> | Mean ± 95% CI | <i>N</i> | Mean ± 95% CI | <i>N</i> | Mean ± 95% CI | Caffeine Groups (<i>F</i> _{2,1021}) | Genotype (<i>F</i> _{2,1021}) | Interaction (<i>F</i> _{4,1019}) |
| rs5751862 | G/G (a) | 52 (17.8%) | 7.23 ± 0.44 | 148 (50.5%) | 7.09 ± 0.22 | 93 (31.7%) | 6.95 ± 0.14 | 7.4 (<i>p</i> < 0.001) | 0.2 (<i>p</i> = 0.78) | 1.2 (<i>p</i> = 0.26) |
| | G/A | 106 (21.5%) | 7.28 ± 0.26 | 223 (45.1%) | 7.10 ± 0.14 # | 164 (33.1%) | 6.81 ± 0.12 # | | | |
| | A/A | 39 (17.3%) | 7.46 ± 0.44 | 102 (45.3%) | 6.94 ± 0.18 | 83 (36.9%) | 6.77 ± 0.18 # | | | |
| rs2298383 | C/C (a) | 62 (18.7%) | 6.93 ± 0.44 | 155 (46.8%) | 7.10 ± 0.14 | 114 (34.4%) | 6.96 ± 0.18 | 8.2 (<i>p</i> < 0.001) | 0.2 (<i>p</i> = 0.81) | 1.9 (<i>p</i> = 0.03) |
| | C/T | 92 (19.8%) | 7.13 ± 0.44 | 198 (42.7%) | 7.09 ± 0.14 | 172 (37.1%) | 6.79 ± 0.12 # | | | |
| | T/T | 44 (20.9%) | 7.52 ± 0.32 * | 113 (53.8%) | 6.99 ± 0.16 # | 53 (25%) | 6.88 ± 0.14 # | | | |
| rs3761422 | C/C (a) | 79 (19.3%) | 7.56 ± 0.28 | 187 (45.8%) | 7.00 ± 0.16 # | 131 (32.1%) | 6.84 ± 0.14 # | 7.1 (<i>p</i> < 0.001) | 0.4 (<i>p</i> = 0.66) | 1.2 (<i>p</i> = 0.04) |
| | C/T | 89 (19.4%) | 7.00 ± 0.32 * | 204 (44.5%) | 7.06 ± 0.14 | 164 (35.8%) | 6.79 ± 0.12 # | | | |
| | T/T | 28 (18.8%) | 6.85 ± 0.45 * | 76 (51.0%) | 7.27 ± 0.32 | 45 (30.2%) | 6.99 ± 0.10 # | | | |
| rs2236624 | C/C (a) | 130 (20.8%) | 7.30 ± 0.26 | 284 (45.4%) | 7.00 ± 0.12 # | 210 (33.6%) | 6.86 ± 0.10 # | 3.5 (<i>p</i> = 0.002) | 0.3 (<i>p</i> = 0.73) | 1.4 (<i>p</i> = 0.18) |
| | C/T | 60 (19.6%) | 7.17 ± 0.36 | 159 (47.2%) | 7.21 ± 0.20 | 117 (34.7%) | 6.74 ± 0.14 # | | | |
| | T/T | 11 (21.6%) | 6.62 ± 0.80 | 27 (52.9%) | 7.12 ± 0.32 | 13 (25.4%) | 7.05 ± 0.28 # | | | |
| rs5751876 | C/C (a) | 68 (18.9%) | 7.53 ± 0.30 | 165 (46.0%) | 6.99 ± 0.14 # | 125 (34.8%) | 6.85 ± 0.14 # | 7.5 (<i>p</i> < 0.001) | 0.1 (<i>p</i> = 0.91) | 1.8 (<i>p</i> = 0.04) |
| | C/T | 91 (20.0%) | 7.05 ± 0.32 * | 199 (36.5%) | 7.09 ± 0.20 | 163 (35.9%) | 6.80 ± 0.12 # | | | |
| | T/T | 38 (20.9%) | 6.92 ± 0.48 * | 98 (53.8%) | 7.01 ± 0.28 | 49 (26.9%) | 6.97 ± 0.20 | | | |
| rs4822492 | C/C (a) | 44 (21.0%) | 6.93 ± 0.44 | 113 (53.8%) | 6.99 ± 0.14 | 53 (25.2%) | 6.86 ± 0.14 | 8.2 (<i>p</i> < 0.001) | 0.1 (<i>p</i> = 0.89) | 1.8 (<i>p</i> = 0.04) |
| | C/G | 91 (19.7%) | 7.26 ± 0.32 * | 200 (43.3%) | 7.09 ± 0.14 | 169 (36.7%) | 6.79 ± 0.12 # | | | |
| | G/G | 64 (18.9%) | 7.52 ± 0.30* | 159 (46.9%) | 7.10 ± 0.24 # | 115 (33.9%) | 6.96 ± 0.18 # | | | |

A = ancestral. * *p* < 0.05 significant difference vs. the ancestral genotype (C/C for rs5751876, rs2298383, rs3761422, and rs4822492). # *p* < 0.05 versus low caffeine consumers (0–50 mg/day). *N* is the total number of subjects with the alleles, *n* is the number of subjects with sleep complaints and insomnia for each genotype (% are calculated according to the number of subjects in each caffeine group; see Table 5). *F*_{2,1021} and *F*_{2,1019} are results of the 2-way ANOVA (caffeine consumption groups X SNP alleles) analysis.

2.6. Impact of ADORA2A Haplotypes on Total Sleep Time (TST) According to Caffeine Consumption

Six (1 to 6) different haplotypes (ATCCCG, GCTTTC, GCTCTC, GTCCCG, GCCCTC, GCCCCC) and one Rare were found, the higher frequency being 45.3% for haplotype 1 (Table 6). The haplotypes 2 (21.2%) and 3 (15.7%) in our study respectively corresponded to the haplotypes HT1 and HT4 in the Bodenmann et al. (2012) study [14]. In the Bodenmann study, HT4 haplotype carriers consistently performed at a higher level on a PVT task during sleep deprivation and presented less rebound of SWA (slow-wave activity) in recovery sleep than non-HT4 carriers.

Table 6. The ADORA2A haplotypes frequencies ($n = 1023$ participants).

| | rs5751862 | rs2298383 | rs3761422 | rs2236624 | rs5751876 | rs4822492 | % |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| 1 | A | T | C | C | C | G | 45.3% |
| 2 | G | C | T | T | T | C | 21.2% |
| 3 ^a | G | C | T | C | T | C | 15.7% |
| 4 | G | T | C | C | C | G | 11.1% |
| 5 | G | C | C | C | T | C | 2.8% |
| 6 | G | C | C | C | C | C | 2.6% |
| Rare | | | | | | | 1.30% |

Rare are haplotypes <1%; ^a corresponding to HT4 of Bodenmann et al. (2012) [14].

The two-way (caffeine and haplotype) ANOVA analysis showed no significant effect of haplotype ($p = 0.10$; $F = 1.42$) but a significant effect of caffeine consumption ($p = 0.02$; $F = 4.51$) on daily TST, with a significant interaction ($p = 0.03$; $F = 2.42$). All haplotypes are associated with a significant effect of caffeine consumption, with the lower TST level in high consumers in comparison with low consumers (Table 7). In addition, the TST was significantly lower in low caffeine consumers in the haplotypes 2 and 3 (GCTTTC and GCTCTC) compared with the most frequent haplotype 1 (ATCCCG) (Table 7, Figure 2). In moderate compared with low caffeine consumers, TST was not significantly different in the haplotypes 2 and 3 (GCTTTC and GCTCTC), whereas it was significantly lower for four other haplotypes (1 and 4 to 6).

Table 7. Impact of ADORA2A haplotypes on total sleep time (TST) according to caffeine consumption.

| Haplotype | TST (h) | | | | |
|-----------|--------------|--------------------------------------|---|---------------------------------------|-----------------------------|
| | All Subjects | Low Caffeine Consumers (0–50 mg/day) | Moderate Caffeine Consumers (51–300 mg/day) | High Caffeine Consumers (>300 mg/day) | Caffeine Consumption Effect |
| ATCCCG | 6.81 ± 0.08 | 7.54 ± 0.1 | 6.99 ± 0.14# | 6.60 ± 0.18 # | $p < 0.001$ |
| GCTTTC | 6.63 ± 0.19 | 6.92 ± 0.25* | 6.88 ± 0.17 | 6.46 ± 0.28# | $p < 0.01$ |
| GCTCTC | 6.70 ± 0.17 | 7.04 ± 0.26* | 6.89 ± 0.34 | 6.55 ± 0.23# | $p < 0.05$ |
| GTCCCG | 6.87 ± 0.18 | 7.38 ± 0.32 | 7.05 ± 0.38# | 6.69 ± 0.3# | $p < 0.001$ |
| GCCCTC | 6.83 ± 0.4 | 7.51 ± 0.27 | 7.05 ± 0.28# | 6.60 ± 0.52# | $p < 0.001$ |
| GCCCC | 6.76 ± 0.23 | 7.30 ± 0.27 | 7.03 ± 0.42# | 6.54 ± 0.42# | $p < 0.001$ |
| Rare | 6.79 ± 0.46 | 7.31 ± 0.57 | 7.01 ± 0.62 | 6.60 ± 0.62# | $p < 0.001$ |

Mean ± 95% CI; * versus ATCCCG (most frequent haplotype 1); # versus low caffeine consumers (0–50 mg/day).

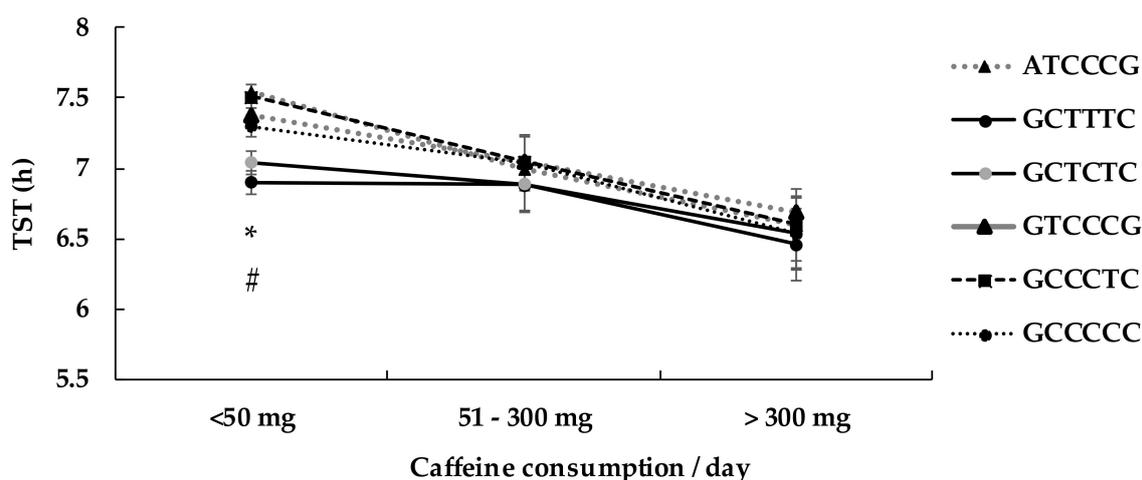


Figure 2. Impact of the six haplotypes of ADORA2A on total sleep time (TST). Values are mean ± 95% CI; * difference ($p < 0.005$) between GCTTTC and ATCCCCG haplotype 1 (45.3%); # between GTCCCCG and ATCCCCG ($p < 0.05$).

2.7. Impact of the Six ADORA2A SNPs on Sleep Complaints and Insomnia According to Caffeine Consumption

The risk of sleep complaints was significantly lower in the C/T and T/T compared to C/C (ancestral) genotype carriers for rs5751876 in moderate caffeine consumers and all subjects. However, in moderate and in all subjects, the risk of sleep complaints was higher in T/T compared to C/C for rs2298383 and in G/G compared to C/C (ancestral) genotype carriers for rs4822492 in moderate and in all subjects (Tables 4 and 8).

Table 8. Impact of the six ADORA2A SNPs on sleep complaints according to caffeine consumption.

| SNP | Genotype | Low Caffeine Consumers (0–50 mg/day) | | Moderate Caffeine Consumers (51–300 mg/day) | | High Caffeine Consumers (>300 mg/day) | |
|-----------|----------|--------------------------------------|---------------|---|-----------------|---------------------------------------|----------------|
| | | n (%) | ORa (95% CI) | n (%) | ORa (95% CI) | n (%) | ORa (95% CI) |
| rs5751862 | G/G (a) | 21 (40.4%) | 1 | 57 (37.3%) | 1 | 56 (52.3%) | 1 |
| | G/A | 52 (49.1%) | 1.5 (0.6–3.9) | 96 (42.1%) | 1.3 (0.9–2.6) | 79 (49.45%) | 0.85 (0.5–1.2) |
| | A/A | 18 (46.2%) | 1.3 (0.9–8.7) | 59 (55.7%) | 1.4 (0.8–2.1) | 46 (57.5%) | 1.27 (0.8–2.0) |
| rs2298383 | C/C (a) | 19 (43.2%) | 1 | 44 (38.9%) | 1 | 24 (45.3%) | 1 |
| | C/T | 46 (50.6%) | 1.3 (0.6–2.7) | 71 (35.9%) | 1.1 (0.7–1.8) | 87 (50.6%) | 1.1 (0.7–1.8) |
| | T/T | 26 (41.9%) | 0.9 (0.6–1.6) | 85 (54.8%) | 1.5 (1.1–2.8) * | 60 (52.6%) | 1.3 (0.9–2.9) |
| rs3761422 | C/C (a) | 35 (44.3%) | 1 | 100 (51.8%) | 1 | 65 (51.6%) | 1 |
| | C/T | 44 (49.4%) | 1.3 (0.3–1.6) | 74 (35.4%) | 0.7 (0.4–1.1) | 86 (53.8%) | 1.1 (0.6–1.6) |
| | T/T | 11 (39.3%) | 0.3 (0.1–1.1) | 33 (41.8%) | 0.7 (0.4–1.4) | 20 (47.6%) | 0.9 (0.5–1.5) |
| rs2236624 | C/C (a) | 59 (45.4%) | 1 | 132 (45.5%) | 1 | 108 (52.7%) | 1 |
| | C/T | 31 (51.7%) | 1.1 (0.5–2.6) | 63 (38.4%) | 0.9 (0.6–1.4) | 59 (52.2%) | 0.9 (0.6–1.2) |
| | T/T | 2 (18.2%) | 0 | 14 (48.3%) | 0.9 (0.3–2.2) | 5 (45.5%) | 1.1 (0.5–2.5) |
| rs5751876 | C/C (a) | 31 (45.6%) | 1 | 90 (52.6%) | 1 | 64 (56.3%) | 1 |
| | C/T | 43 (47.3%) | 1.2 (0.6–2.6) | 72 (35.3%) | 0.6 (0.4–0.9) * | 83 (52.2%) | 0.9 (0.6–1.2) |
| | T/T | 17 (44.7%) | 0.8 (0.3–1.6) | 41 (49.6%) | 0.8 (0.3–1.2) | 22 (47.8%) | 0.8 (0.5–1.3) |
| rs4822492 | C/C (a) | 19 (43.2%) | 1 | 45 (39.8%) | 1 | 24 (45.3%) | 1 |
| | C/G | 46 (50.5%) | 0.7 (0.3–1.6) | 72 (36.0%) | 0.8 (0.5–1.6) | 86 (50.9%) | 1.1 (0.6–2.3) |
| | G/G | 28 (43.8%) | 1.0 (0.4–2.1) | 87 (54.7%) | 1.8 (1.1–2.9) * | 61 (53.0%) | 1.3 (0.6–2.5) |

(a) = ancestral. * $p < 0.05$ significant difference vs. the ancestral genotype; CI; * versus ATCCCCG (most frequent haplotype 1).

The results on the impact of six ADORA2A SNPs on reported insomnia, according to the three groups of caffeine consumers, are not shown because less than 10% of subjects were concerned and the numbers of subjects carrying each of the genotype SNPs in the different caffeine groups were low. However, if we consider all subjects, the risk of insomnia is significantly higher for the T/T and G/G compared to C/C ancestral genotype carriers of rs2298383 and rs4822492, respectively (Table 4).

3. Discussion

In the present study, we investigate the effect of six genetic polymorphisms of ADORA2A on sleep (duration and disorders) and the association with caffeine consumption groups (low, moderate, and high consumers) in 1023 French active workers aged between 18 and 60 years. We selected polymorphisms that were associated previously with the interindividual variability in brain electrical activity during sleep and wakefulness [14,15], with the individual sensitivity to subjective and objective caffeine effects on sleep [11,19], anxiogenic response to caffeine [12,20], with caffeine consumption [10], with individual differences in anxiety-related personality and panic disorder [17], and sleep disturbances [19,21]. We delineate three groups of caffeine consumers according to several criteria. There is a consensus that the daily ingestion of 300–400 mg caffeine (around 4–5 cups of espresso coffee) does not raise any health concern, and that high doses of caffeine (400–800 mg in one sitting) may have negative effects (anxiety, nervousness, insomnia, tachycardia, and trembling) [22]. Moreover, 300 mg is also the dose of caffeine contained in the pharmacological form of the slow-release caffeine that was shown to be an advisable alternative to other psychostimulants for long work schedules, and night shifts [23]. The low caffeine consumers (0–50 mg/day) were in accordance with Rogers et al. (2010) [12].

Our study focuses on healthy and active workers of European ancestry, excluding retired and medical workers, who are neither overweight nor obese according to WHO criteria, who practice physical activity for the majority, consume little alcohol, with very few smokers. As the genotype frequency analysis shows, our population is very similar to the 1000 Genomes project population [24].

The significant impact of genetic variants on TST is only shown in low caffeine consumers (0–50 mg, corresponding to less than one espresso coffee per day). Several genetic mutations are associated with lower or higher TST. Individuals carrying T allele (homozygous or heterozygous) of rs5751876 and rs3761422 exhibit a significant lower TST whereas T allele of rs2298383 is associated with higher TST when compared to homozygous C ancestral allele carriers. In addition, TST is higher for the G allele (homozygous or heterozygous) carriers of rs4822492 compared to the ancestral homozygote C/C. The haplotype analysis revealed a significant lower TST for two haplotypes (2 and 3) combining T allele carriers of rs5751876 and rs3761422, and C allele carriers of rs2298383 and rs4822492, in comparison to the more frequent haplotype 1 (45.3%). Furthermore, TST was significantly lower in high caffeine consumers (>300 mg per day) compared to low and moderate, regardless of the selected ADORA2A polymorphism.

Secondly, our results showed that the risk of sleep complaints and insomnia is higher in participants carrying mutations on rs2298383 and rs4822492 (after adjustment for age, tobacco, and sex) in moderate and all caffeine consumers, but not in high consumers. There were significantly more subjects with sleep complaints in the high caffeine group (52.5%) than in the two other groups, and more subjects with insomnia comparatively with the low caffeine group (12.5 % vs. 7.4%).

Therefore, biological follow-up of genetic variants of the G-protein coupled A_{2A} receptor can provide additional insights into molecular processes underlying sleep duration and disorders, valuable for enhancing scientific knowledge of sleep and for informing new therapeutic approaches. Subsequent pharmacological studies from several laboratories have demonstrated that adenosine and its receptor agonists promote, but antagonists such as caffeine inhibit, both NREM and REM sleep stages [25]. There are four G protein-coupled adenosine receptor subtypes, A₁, A_{2A}, A_{2B}, and A₃ [26], and accumulated findings indicate a predominant role of A_{2A}R in sleep regulation and caffeine-induced wakefulness [7,27]. We previously showed that one night of sleep deprivation induced an up-regulation of the A_{2A}R gene expression in leukocytes from healthy subjects [28].

The genetic variation of ADORA2A was found to be an important determinant of wake promotion by caffeine, particularly the rs5751876 polymorphism [11,29]. Using polysomnography EEG in healthy males in the recovery night after sleep deprivation, Retey et al. [11] observed that caffeine increases spectral power in the beta band (16.625–20.125 Hz) in C/C compared to T/T genotype carriers of the ADORA2A c.1083T/C genotype (also designated 1976C/T or rs5751876 now). As in our study, the C/C genotype for rs5751876 seems associated with an increased likelihood of being sensitive to caffeine

and an increased likelihood of insomnia when exposed to caffeine. Moreover, caffeine was shown to attenuate the rebound of SWA (slow-wave activity) occurring in the recovery night following sleep deprivation in subjects with non-HT4 haplotype ADORA2A only (this does not occur in HT4) [14]. Our results, in particular, the haplotype analysis, confirm that caffeine sensitivity is associated with several SNP mutations. We showed that the haplotypes carriers which are insensitive to caffeine effects on sleep were T allele carriers for rs5751876 and rs3761422, while being C carriers for rs4822492 and rs2298383. This profile is similar to the HT4 profile described by Bodenmann et al. [14] and confirms that T allele carriers of rs5751876 seem insensitive to caffeine effects on sleep duration [11,14]. However, Nunes et al. 2017, with a polysomnographic study, failed to demonstrate an association between ADORA2A genotypes and sleep variables, as well as the lack of stronger correlations between caffeine load and other sleep variables [16].

In our study, we can suggest that once the C/C genotype carriers of rs5751876 and rs3761422 have taken caffeine, their sleep time will match that of T/T and C/T. Also, when G allele carriers for rs4822492 have taken caffeine, their TST will match the one of C/C, which pertains to the HT4 haplotype of Bodenmann et al. (2012) [14]. The rs5751876 SNP is a synonymous variant (it does not cause an amino acid change in the encoded protein) located on the exon 4 position, while rs2298383 and rs3761422 are located in the 5'UTR, and rs4822492 in 3'UTR, respectively.

We evidenced that both rs2298383, rs3761422, and rs4822492 are in strong linkage disequilibrium with the most studied rs5751876 SNP. Thus, these SNPs may represent potential functional variants [30,31] implicated in the relationship between sleep duration and caffeine consumption. Alternative splicing of the 5'UTR could play a crucial role in the post-transcriptional regulation of G protein-coupled receptors, including the modulation of translational efficiency, message stability, and subcellular localization, and differential expression of 5'UTR splice variants of the adenosine A_{2A} receptor gene was shown in vitro in human stimulated granulocytes in sepsis patients compared to healthy volunteers [32]. The 3'UTR region contains binding sites for regulatory proteins and miRNA which can down-regulate post-transcriptional genes expression by inhibiting protein translation or by destabilizing target transcripts. A second study of Kreth et al. [33] team has described the regulation of A_{2A} mRNA translation in human polymorphonuclear leukocytes by three miRNA. Barrett et al. (2012) [31] reviewed the different mechanism by which non-coding regions, including the 5' and 3' UTR, introns, and intergenic regions, are vital for the precise regulation of gene expression.

In our study, TST was significantly lower in participants with the haplotypes 2 and 3 compared with the more frequent protective haplotype 1 (ATCCCG, 45.3% of participants). Haplotype 3, which corresponds to the HT4 haplotype of Bodenmann et al. (2012) [14], confirmed the SNPs analysis for rs5751876 and rs3761422 (T variant sleeping less) and for rs4822492 and rs2298383 (C variant sleeping less). The alleles for rs5751876, rs3761422, rs2298383, and rs4822492 in haplotype 1 are in higher frequency compared to the ones in haplotype 2 and 3.

In this study, we evidenced significant differences between total sleep time (TST) among variants of four SNPs of ADORA2A and two haplotypes but in low caffeine consumers only, and three of them have been previously demonstrated as risk variants for anxious personality (i.e., rs5751876, rs2298383, and rs3761422, in high LD) [17]. In this study, after Bonferroni adjustment for age, sex, and caffeine consumption, the risk haplotype for the anxiety-related personality score (HA1 subdimension, anticipatory worry, and pessimism vs. uninhibited optimism) included alleles rs5751876-T, rs3761422-T, and rs2298383-C. We found two similar haplotypes (2 and 3) associated with lower TST in comparison with the more frequent protective haplotype 1 which suggested that lower TST in low caffeine consumers may be related to anxiety-related personalities.

Moreover, in our study, the risk of sleep complaints was significantly higher for participants carrying the T/T and G/G compared with C/C ancestral genotype for rs2298383 and rs4822492, respectively, and this was observed when considering all subjects and also in moderate caffeine consumers. A recent cross-sectional population-based study on the relationship between depression and symptoms and the rs2298383 SNP for ADORA2A (1253 participants aged 18–35 years, including

228 in current episode of depression) demonstrated that the TT genotype of rs2298383 (compared to CC plus CT) is associated with reduced risk depression and reduced sleep disturbances and less difficulty in concentrating after adjustment for confounding variables such as smoking, gender, socioeconomic class, and ethnicity [21]. This result differs from ours likely because we estimated sleep complaints risk by comparison with the rs2298383 ancestral C/C genotype, as previously described by Hohoff et al. (2010) [17]. Furthermore, our results are consistent regarding genotype frequencies for the six SNPs with those of the 1000 Genomes Project [24] and are consistent with the results on the risk of insomnia.

Indeed, the risk of insomnia is also significantly higher for the T/T compared to the ancestral C/C genotype for rs2298383 and also for G/G carriers of rs4822492, when considering all subjects. In our study, it was difficult to analyze the impact of ADORA2A SNPs on insomnia on the three groups of caffeine consumers because only 10.7% of subjects were identified with insomnia. To our knowledge, the rs4822498 ADORA2A has been identified only once in a genome-wide study on the association between caffeine-induced sleep disturbance and several genetic variants, and the result was inconclusive [19].

With respect to sleep complaints, our results showed no significant difference in sleep complaints prevalence between genotypes in the six ADORA2A SNPs among high caffeine consumers, who are more than half of those affected (52.5%). This result suggests that other genetic mutations may be implicated in the high caffeine dose effect on sleep complaints [34], such as SNPs for ADORA1A. However, multiple variants of the ADORA1A were shown not to be implicated in caffeine-related sleep disturbances [35] nor caffeine-related anxiety (Rogers et al., 2010), and not associated with the *in vivo* variation of A1AR availability in the human brain compared while ADORA2A rs5751876 was [18]. For us, genetic variants for the cytochrome P450 1A₂ (CYP1A2), the main system responsible for caffeine metabolism, and variants for pro-inflammatory cytokines should be investigated. Indeed, mutations on the CYP1A2 gene were recently shown to influence abstract reasoning in a large population (1374 participants) under free caffeine intake in everyday life [36], and genetic variations of inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α have been associated in several studies with sleep disturbances [37] and susceptibility and severity of obstructive sleep apnea [38,39].

Moreover, several studies have also shown that T/T genotype carriers for rs5751876 of ADORA2A are associated with higher anxiogenic responses to caffeine [12,20]. The differential response of T/T vs. C/C and C/T genotypes was apparent at 100 mg dose of caffeine, and similar results were found for the nearly completely linked SNP rs3761422 and rs2298383 (but not significant after adjustment for multiple testing for the latter) [12]. For Childs et al. (2008) [20], individuals with the C/C genotype for rs2298383 and rs4822492 reported significantly higher anxiety than those with the T/T genotype and G/G, respectively. We can suggest that as soon as caffeine is consumed, anxiety may be implicated in the relationship with sleep duration, particularly in participants carrying the T allele (homozygote and heterozygote) for rs5751876, rs3761422, and rs2298383, and being in the lower frequency C/C genotype for rs4822492.

However, our study also has several limitations that need to be addressed in future studies. We have relied on self-report data for all of the variables analyzed, which can be influenced by perception bias [40]. To this end, it will be important to investigate the impact of ADORA2A SNPs on sleep duration using polysomnography or actigraphy to get an objective measure of sleep. These methods provide greater accuracy of measurement, but they are much more time-consuming and less conducive to our large sample sizes study. However, we confirmed the association between sleep and rs5751876 that was initially discovered in a sample that used polysomnography [15], which suggests that self-report data, while imperfect, is a somewhat reliable measure of the true phenotype and may be of particular use in large-scale genetic studies.

4. Materials and Methods

4.1. Study Design and Participants

This is a cross-sectional population-based study of active French workers (men and women) aged 18 to 60. The sample consisted of 1023 participants recruited from Hotel Dieu sleep center (APHP), the medical department of EY (First Tower, La defense) and the armed forces biomedical research institute (IRBA). The study received the agreement of the Cochin – CPP Ile de France 1 (Paris) Ethics Committee and was approved by the Agence Nationale pour la Sécurité du Médicament (ANSM) (2017-A00234_49). It was conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 2001 after obtaining written informed consent for all the participants. The study has been registered on the [ClinicalTrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov) public database (NCT number: NCT03855774).

Exclusion criteria were unemployed, retired, medical leave, and pregnant women volunteers, lack of social insurance, and under-18 years old subjects.

4.2. Questionnaire

The participants answered a questionnaire for sociodemographic characteristics, assessment of sleep complaints and disorders, and caffeine intake. All data were obtained by means of a paper questionnaire and done at the same time as the saliva sampling. The questionnaire was anonymous, and participants have to refer to the last month to evaluate sleep and wake disorders. The questionnaires had different types of questioning: open-ended, closed-ended, and multiple-choice questions.

4.2.1. Sleep Habits and Complaints

For sleep evaluation, the questionnaire was constructed based on the Sleep Complaints Questionnaire–French version (SDQFV) [41], and the Epworth Sleepiness Scale (ESS) [42].

In addition, sleeping pills, stimulated substances, and other drug consumption were informed in the questionnaire. The SDQFV is a 42-item questionnaire based on the Stanford Sleep Questionnaire and Evaluation of Wakefulness (SQAW). The French version has been validated in several epidemiological studies [41]. It covers sleep habits and complaints. We focused on four specific sleep complaints which are commonly associated with insomnia: (1) difficulties in falling asleep, (2) frequent nocturnal awakenings, (3) early awakenings, and (4) nonrestorative sleep.

The ESS, a self-administered questionnaire, is a subjective tool to assess sleepiness [42]. To assess sleepiness, we also introduced several commonly associated items: (1) napping habits; (2) taking more than five cups of coffee every day; (3) snoring loudly; (4) feeling sleep deprived.

4.2.2. Sleep Complaints

Their definition was based on the International Classification of Sleep complaints (ICSD, 3rd edition) and the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th revision (DSM-IV) [43].

Insomnia was defined by the presence of at least one of the four sleep complaints over at least one month and with daytime consequences. Hypersomnia was measured on a daily basis according to whether patients “fall asleep during the day, during work, while listening to the radio or music, while traveling, in front of the TV” and scored >10 in the ESS. Severe insomnia, regular use of sedatives, and sleep apnea were also considered.

4.2.3. Caffeine Consumption

The questionnaire included the following beverages and caffeine-containing foods: coffee with caffeine, tea, cola, and other carbonated beverages with caffeine, and chocolate. For each item, participants were asked how often, on average, they had consumed a specified amount of each beverage or food over the past year. The participants could choose from nine frequency categories (never, 1–3 per month, 1 per week, 2–4 per week, 5–6 per week, 1 per day, 2–3 per day, 4–5 per day, and 6 or more

per day). Typical milligram doses (Mayo Clinic—<http://www.mayoclinic.com/health/caffeine/AN01211>) were assigned to each and an approximate daily intake was obtained [44]. Based on previous criteria [12,22], participants were then characterized as having low (0–50 mg·day⁻¹), moderate (51–300 mg·day⁻¹), and high (>300 mg·day⁻¹) caffeine intake.

4.3. Saliva DNA Extract and Genotyping

Genotypes were determined by investigators who were blind for trait anxiety, sleep and waking EEG, subjective sleepiness, and behavioral results. Oragene DNA kits OG-500 (DNAgenotek, Ottawa, Canada) were used to collect whole saliva samples from healthy adult volunteers ($n = 1069$) after rinsing the mouth with water and at least 30 min after eating or drinking. DNA from saliva collected in Oragene containers are stable for at least five years at ambient temperature. After manual cell lysate preparation, the genomic DNA purification was performed by the Autopure LS instrument (Qiagen, Hilden, Germany). DNA quantity, integrity, and ability to PCR were evaluated by quality controls. One thousand and twenty-three DNA extracts were transferred on 384-well plates. SNP selection was based on previous studies. Participants were genotyped by predesigned or customized probes; TaqMan SNP genotyping assays were provided by Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA). PCR was performed on GeneAmp PCR System 9700, and a 7900HT system with SDS software version 2.4 (Applied Biosystems, Foster City, USA) was used for fluorescence detection and allelic discrimination. A check by Sanger sequencing of PCR products was carried out for rs5751876 because the ADORA2A gene includes many SNPs in this region. The genomic organization of the ADORA2A gene with SNP positions investigated in the 1023 participants is illustrated in Figure 1A.

4.4. Statistical Analysis

Statistical tests were performed using R studio (R software (version 3.6.0, 04.24.2019) (www.r-project.org), and significance (α risk) was fixed at $p < 0.05$. Qualitative variables are presented as occurrence and percentage [n (%)] and quantitative variables as mean \pm 95% CI (confidence interval). The genotype distributions in both alleles were examined using the Hardy–Weinberg equilibrium. The difference in TST was calculated using a 2-way analysis of variance (SNP alleles and caffeine consumption). If a significant interaction was observed, a post-hoc Bonferroni test was used to compare the allele (heterozygote and homozygote mutation) versus the ancestral allele and caffeine consumption (moderate and high versus low) for the 6 SNPs. Qualitative variables (sleep complaints) association with SNP alleles were made using a χ^2 test. Odds ratio adjusted for age, sex, and tobacco use and the 95% confidence intervals (95% CI) were calculated. The SNPStats program [45] was adopted for linkage disequilibrium (D, D', and R square) haplotype analysis. All haplotypes identified were computed, but in order to minimize loss of power, the six haplotypes with a frequency higher than 1% were taken into account for statistical analysis. The most common haplotype was selected as the reference for posthoc analysis.

5. Conclusions

In conclusion, our results showed ADORA2A genetic variations related to the duration of nocturnal sleep in a large population of European ancestry aged 18 to 60 years but only in low caffeine consumers (below 50 mg per day, i.e., less than one espresso). As soon as participants became moderate caffeine consumers (51–300 mg per day), the nocturnal sleep decreases whatever the SNPs ADORA2A variants. At caffeine consumption above 300 mg per day, the six genetic variants of ADORA2A studied here do not influence the total sleep time which remains significantly lower compared to low caffeine consumption. These results suggested that caffeine consumption above 300 mg per day may have completely blocked A2A receptors. The herein presented results confirmed previous results on the synonymous rs5751876 variant, and added information on several potential functional variants such as rs3761422, rs2298383 and rs4822492. On the other hand, ADORA2A genetic variations influenced the risk of sleep complaints and insomnia in all caffeine consumers, notably the rs2298383, rs4822492 and

rs5751876. Indeed, the risk of sleep complaints is higher in rs2298383 TT and rs4822492 GG compared to the ancestral CC genotypes, and lower in rs5751876 CT and TT (Table 4), and this remained significant in the moderate caffeine consumers. We planned in our future studies to analyze A2A receptors density, function or gene expression in human blood in relation with the three genotypes of rs2298383, rs4822492 and rs5751876 ADORA2A variants. It will be interesting in future studies to investigate in a large population of European ancestry sleep duration and risk of sleep complaints and disorders concomitantly with multiple candidate SNP including dopamine- and cytokines-related genes [39,46], and genes involved in the pharmacokinetic and pharmacodynamic of caffeine effects [35,36]. Also, analysis of changes in A2A receptors density, function or gene expression in human granulocytes under low and high doses of caffeine consumption will aid in understanding the relationship between genetic mutations and sleep complaints and disorders, and will have implications for the treatment of sleep complaints [47].

Author Contributions: All authors contributed significantly to this work: Conceptualization, M.C., F.S., D.G.-M., C.D., M.E., A.M., A.B. and J.F.D.; Methodology, D.G.-M., F.S.; Software, F.S.; Validation, C.D., D.G.-M. and M.C.; Formal Analysis, M.E., C.D. and A.B.; Investigation, M.E., C.D., A.M., F.S.; Resources, F.S. and M.C.; Data Curation, F.S. and M.E.; Writing—Original Draft Preparation, D.G.-M., C.D. and M.E.; Writing—Review & Editing, D.G.-M., F.S. and M.C.; Visualization, D.G.-M., M.C., A.B., J.F.D.; Supervision, M.C., C.T. and J.F.D.; Project Administration, F.S.; Funding Acquisition, F.S.

Funding: This research has been funded in operating cost by the DGA (General Directorate for Armament, Ministry of the Armies) (contract PDH-1-SMO-2-509).

Acknowledgments: We thank Robert Olaso, Céline Derbois and Bertrand Fin from the CNRGH (Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Institut François Jacob, Evry, France) for their technical support and expertise. We thank Stéphanie Bérot from the Medical service of EY (Tour First, La Défense, 92037 Paris - France). We thank Anne Sophie Pellen and Catherine Verret from sponsor clinical research unit for their methodological and legacy considerations of the protocol. We thank all participants of our study, and Laurent Rocco, André Pisani, Michel Génot, Marc Pernot of the CNSD (Centre National des Sports de la Défense).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest

References

1. Fredholm, B.B.; Bättig, K.; Holmén, J.; Nehlig, A.; Zvartau, E.E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol. Rev.* **1999**, *51*, 83–133. [[PubMed](#)]
2. Nehlig, A.; Daval, J.L.; Debry, G. Caffeine and the central nervous system: Mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res. Rev.* **1992**, *17*, 139–170. [[CrossRef](#)]
3. McLellan, T.M.; Caldwell, J.A.; Lieberman, H.R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2016**, *71*, 294–312. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Landolt, H.P.; Rétey, J.V.; Tönz, K.; Gottselig, J.H.; Khatami, R.; Buckelmüller, I.; Achermann, P. Caffeine attenuates waking and sleep electroencephalographic markers of sleep homeostasis in humans. *Neuropsychopharmacology* **2004**, *29*, 1933–1939. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Urry, E.; Landolt, H.P. Adenosine, caffeine, and performance: From cognitive neuroscience of sleep to sleep pharmacogenetics. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* **2015**, *25*, 331–366. [[PubMed](#)]
6. Porkka-Heiskanen, T.; Strecker, R.E.; Thakkar, M.; Bjørkum, A.A.; Greene, R.W.; McCarley, R.W. Adenosine: A mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science* **1997**, *80*, 1265–1268. [[CrossRef](#)]
7. Huang, Z.L.; Qu, W.M.; Eguchi, N.; Chen, J.F.; Schwarzschild, M.A.; Fredholm, B.B.; Urade, Y.; Hayaishi, O. Adenosine A2A, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat. Neurosci.* **2005**, *8*, 858–859. [[CrossRef](#)]
8. Chennaoui, M.; Arnal, P.J.; Drogou, C.; Leger, D.; Sauvet, F.; Gomez-Merino, D. Leukocyte expression of type 1 and type 2 purinergic receptors and pro-inflammatory cytokines during total sleep deprivation and/or sleep extension in healthy subjects. *Front. Neurosci.* **2017**, *11*, 240. [[CrossRef](#)]
9. Nehlig, A. Interindividual Differences in Caffeine Metabolism and Factors Driving Caffeine Consumption. *Pharmacol. Rev.* **2018**, *70*, 381–411. [[CrossRef](#)]
10. Cornelis, M.C.; El-Sohemy, A.; Campos, H. Genetic polymorphism of the adenosine A2A receptor is associated with habitual caffeine consumption. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *86*, 240–244. [[CrossRef](#)]

11. Rétey, J.V.; Adam, M.; Khatami, R.; Luhmann, U.F.O.; Jung, H.H.; Berger, W.; Landolt, H.P. A genetic variation in the adenosine A2A receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2007**, *81*, 692–698. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Rogers, P.J.; Hohoff, C.; Heatherley, S.V.; Mullings, E.L.; Maxfield, P.J.; Evershed, R.P.; Deckert, J.; Nutt, D.J. Association of the anxiogenic and alerting effects of caffeine with ADORA2A and ADORA1 polymorphisms and habitual level of caffeine consumption. *Neuropsychopharmacology* **2010**, *35*, 1973–1983. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Yang, A.; Palmer, A.A.; De Wit, H. Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. *Psychopharmacology* **2010**, *211*, 245–257. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Bodenmann, S.; Hohoff, C.; Freitag, C.; Deckert, J.; Rétey, J.V.; Bachmann, V.; Landolt, H.P. Polymorphisms of ADORA2A modulate psychomotor vigilance and the effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation. *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *165*, 1904–1913. [[CrossRef](#)]
15. Retey, J.V.; Adam, M.; Honegger, E.; Khatami, R.; Luhmann, U.F.O.; Jung, H.H.; Berger, W.; Landolt, H.-P. A functional genetic variation of adenosine deaminase affects the duration and intensity of deep sleep in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *25*, 15676–15681. [[CrossRef](#)]
16. Nunes, R.A.; Mazzotti, D.R.; Hirotsu, C.; Andersen, M.L.; Tufik, S.; Bittencourt, L. The association between caffeine consumption and objective sleep variables is dependent on ADORA2A c.1083T>C genotypes. *Sleep Med.* **2017**, *30*, 210–215. [[CrossRef](#)]
17. Hohoff, C.; Mullings, E.L.; Heatherley, S.V.; Freitag, C.M.; Neumann, L.C.; Domschke, K.; Krakowitzky, P.; Rothermundt, M.; Keck, M.E.; Erhardt, A.; et al. Adenosine A2A receptor gene: Evidence for association of risk variants with panic disorder and anxious personality. *J. Psychiatr. Res.* **2010**, *44*, 930–937. [[CrossRef](#)]
18. Hohoff, C.; Garibotto, V.; Elmenhorst, D.; Baffa, A.; Kroll, T.; Hoffmann, A.; Schwarte, K.; Zhang, W.; Arolt, V.; Deckert, J.; et al. Association of adenosine receptor gene polymorphisms and in vivo adenosine A1 receptor binding in the human brain. *Neuropsychopharmacology* **2014**, *39*, 1989–1999. [[CrossRef](#)]
19. Byrne, E.M.; Johnson, J.; McRae, A.F.; Nyholt, D.R.; Medland, S.E.; Gehrman, P.R.; Heath, A.C.; Madden, P.A.F.; Montgomery, G.W.; Chenevix-Trench, G.; et al. A Genome-Wide Association Study of Caffeine-Related Sleep Disturbance: Confirmation of a Role for a Common Variant in the Adenosine Receptor. *Sleep* **2012**, *35*, 967–975. [[CrossRef](#)]
20. Childs, E.; Badner, J.; De Wit, H.; Hohoff, C.; Deckert, J.; Xu, K. Association between ADORA2A and DRD2 polymorphisms and caffeine-induced anxiety. *Neuropsychopharmacology* **2008**, *33*, 1791–1800. [[CrossRef](#)]
21. Oliveira, S.; Ardaís, A.P.; Bastos, C.R.; Gazal, M.; Jansen, K.; de Mattos Souza, L.; da Silva, R.A.; Kaster, M.P.; Lara, D.R.; Ghisleni, G. Impact of genetic variations in ADORA2A gene on depression and symptoms: A cross-sectional population-based study. *Purinergic Signal.* **2019**, *15*, 37–44. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Temple, J.L.; Bernard, C.; Lipshultz, S.E.; Czachor, J.D.; Westphal, J.A.; Mestre, M.A. The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Front. Psychiatry* **2017**, *26*, e80. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Beaumont, M.; Batéjat, D.; Coste, O.; Doireau, P.; Chauffard, F.; Enslin, M.; Lagarde, D.; Pierard, C. Recovery after prolonged sleep deprivation: Residual effects of slow-release caffeine on recovery sleep, sleepiness and cognitive functions. *Neuropsychobiology* **2005**, *51*, 16–27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Auton, A.; Salcedo, T. The 1000 genomes project. In *Assessing Rare Variation in Complex Traits: Design and Analysis of Genetic Studies*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2015; Volume 526, pp. 68–74. ISBN 9781493928248.
25. Basheer, R.; McKenna, J.T.; McCarley, R.W. Pharmacology of Sleep: Adenosine. In *Encyclopedia of Neuroscience*; Academic Press: New York, NY, USA, 2010; Volume 73, pp. 379–396. ISBN 9780080450469.
26. Fredholm, B.B.; Chen, J.F.; Cunha, R.A.; Svenningsson, P.; Vaugeois, J.M. Adenosine and Brain Function. *Int. Rev. Neurobiol.* **2005**, *63*, 181–270.
27. Huang, Z.L.; Zhang, Z.; Qu, W.M. Roles of adenosine and its receptors in sleep-wake regulation. In *International Review of Neurobiology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2014; Volume 119, pp. 349–371.
28. Chennaoui, M.; Arnal, P.J.; Dorey, R.; Sauvet, F.; Ciret, S.; Gallopin, T.; Leger, D.; Drogou, C.; Gomez-Merino, D. Changes of cerebral and/or peripheral adenosine A receptor and IGF-I concentrations under extended sleep duration in rats. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *11*, 2439. [[CrossRef](#)]
29. Holst, S.C.; Valomon, A.; Landolt, H.-P. Sleep Pharmacogenetics: Personalized Sleep-Wake Therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2015**, *56*, 577–603. [[CrossRef](#)]

30. Markovic, D.; Challiss, R.A.J. Alternative splicing of G protein-coupled receptors: Physiology and pathophysiology. *Cell. Mol. Life Sci.* **2009**, *66*, 3337–3352. [[CrossRef](#)]
31. Barrett, L.W.; Fletcher, S.; Wilton, S.D. Regulation of eukaryotic gene expression by the untranslated gene regions and other non-coding elements. *Cell. Mol. Life Sci.* **2012**, *69*, 3613–3634. [[CrossRef](#)]
32. Kreth, S.; Ledderose, C.; Kaufmann, I.; Groeger, G.; Thiel, M. Differential expression of 5'-UTR splice variants of the adenosine A2A receptor gene in human granulocytes: Identification, characterization, and functional impact on activation. *FASEB J.* **2008**, *22*, 3276–3286. [[CrossRef](#)]
33. Heyn, J.; Ledderose, C.; Hinske, L.C.; Limbeck, E.; Möhnle, P.; Lindner, H.A.; Kreth, S. Adenosine A2A receptor upregulation in human PMNs is controlled by miRNA-214, miRNA-15, and miRNA-16. *Shock* **2012**, *37*, 156–163. [[CrossRef](#)]
34. Fredholm, B.B.; Yang, J.; Wang, Y. Low, but not high, dose caffeine is a readily available probe for adenosine actions.pdf. *Mol. Aspects Med.* **2016**, *51*, 83–133.
35. Amin, N.; Byrne, E.; Johnson, J.; Chenevix-Trench, G.; Walter, S.; Nolte, I.M.; Vink, J.M.; Rawal, R.; Mangino, M.; Teumer, A.; et al. Genome-wide association analysis of coffee drinking suggests association with CYP1A1/CYP1A2 and NRCAM. *Mol. Psychiatry* **2012**, *17*, 116–1129. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Casiglia, E.; Tikhonoff, V.; Albertini, F.; Gasparotti, F.; Mazza, A.; Montagnana, M.; Danese, E.; Benati, M.; Spinella, P.; Palatini, P. Caffeine intake reduces incident atrial fibrillation at a population level. *Eur. J. Prev. Cardiol.* **2018**, *20*, 52–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Miaskowski, C.; Dodd, M.; Lee, K.; West, C.; Paul, S.M.; Cooper, B.A.; Wara, W.; Swift, P.S.; Dunn, L.B.; Aouizerat, B.E. Preliminary evidence of an association between a functional interleukin-6 polymorphism and fatigue and sleep disturbance in oncology patients and their family caregivers. *J. Pain Symptom Manag.* **2010**, *40*, 531–544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. De Lima, F.F.F.; Mazzotti, D.R.; Tufik, S.; Bittencourt, L. The role inflammatory response genes in obstructive sleep apnea syndrome: A review. *Sleep Breath.* **2016**, *20*, 331–338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Zhang, Z.; Wang, Q.; Chen, B.; Wang, Y.; Miao, Y.; Han, L. Association study of genetic variations of inflammatory biomarkers with susceptibility and severity of obstructive sleep apnea. *Mol. Genet. Genom. Med.* **2019**, *19*, c801. [[CrossRef](#)]
40. Lauderdale, D.S.; Knutson, K.L.; Yan, L.L.; Liu, K.; Rathouz, P.J. Self-reported and measured sleep duration: How similar are they? *Epidemiology* **2008**, *19*, 838–845. [[CrossRef](#)]
41. Leger, D.; Bayon, V.; Elbaz, M.; Philip, P.; Choudat, D. Underexposure to light at work and its association to insomnia and sleepiness. A cross-sectional study of 13296 workers of one transportation company. *J. Psychosom. Res.* **2011**, *70*, 29–36. [[CrossRef](#)]
42. Johns, M.W. Reliability and factor analysis of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* **1992**, *15*, 376–381. [[CrossRef](#)]
43. Frances, A.; Pincus, H.A.; First, M.B. *American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DMS V*; American Psychiatric Association: Washington, DC, USA, 2013; ISBN 0890425558.
44. Cornelis, M.C.; Monda, K.L.; Yu, K.; Paynter, N.; Azzato, E.M.; Bennett, S.N.; Berndt, S.I.; Boerwinkle, E.; Chanock, S.; Chatterjee, N.; et al. Genome-wide meta-analysis identifies regions on 7p21 (AHR) and 15q24 (CYP1A2) as determinants of habitual caffeine consumption. *PLoS Genet.* **2011**, *86*, 240–244. [[CrossRef](#)]
45. Solé, X.; Guinó, E.; Valls, J.; Iniesta, R.; Moreno, V. SNPStats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1928–1929. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Rhodes, J.A.; Lane, J.M.; Vlasac, I.M.; Rutter, M.K.; Czeisler, C.A.; Saxena, R. Association of DAT1 genetic variants with habitual sleep duration in the UK Biobank. *Sleep* **2019**, *42*, zsy193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Chen, J.F.; Eltzschig, H.K.; Fredholm, B.B. Adenosine receptors as drug targets-what are the challenges? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 265–286. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



Annexe 3.

Erblang, M., Sauvet, F., Drogou, C., Quiquempoix, M., Van Beers, P., Guillard, M., Rabat, A., Trignol, A., Bourrilhon, C., Erkel, M-C., Léger, D., Thomas, C., Gomez-Merino, D., and Chennaoui, M. (2020). TNF- α , ADORA2A and PER3 polymorphisms and caffeine efficiency on neurobehavioral performance during sleep deprivation: a randomized, cross over study. *Scientific Reports*, en révision.

1 **TNF- α , ADORA2A and PER3 polymorphisms and caffeine efficiency on**
2 **neurobehavioral performance during sleep deprivation: a randomized, cross**
3 **over study.**

4 Numéro

5
6 Mégane ERBLANG^{1,2,3}, Fabien SAUVET^{1,2,*}, Catherine DROGOU^{1,2}, Michaël
7 QUIQUEMPOIX^{1,2}, Pascal VAN BEERS^{1,2}, Mathias GUILLARD^{1,2}, Arnaud RABAT^{1,2}, Aurelie
8 TRIGNOL^{1,2}, Cyprien BOURRILHON^{1,5}, Marie-Claire ERKEL^{1,2}, Damien LEGER²⁻⁴, Claire
9 THOMAS⁵, Danielle GOMEZ-MERINO^{1,2}, Mounir CHENNAOUI^{1,2}.

10
11 ¹ Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA), Département Environnements
12 Opérationnels, Brétigny sur Orge, France.

13 ² Université de Paris, VIFASOM (EA 7330 Vigilance, Fatigue, Sommeil et Santé Publique), Paris,
14 France.

15 ³ ED 566 Sciences du sport, de la motricité et du mouvement humain, Université Paris-Saclay,
16 Orsay, France.

17 ⁴ APHP, Hôtel-Dieu, Centre du sommeil et de la Vigilance, Paris, France.

18 ⁵ LBEPS, Univ Evry, IRBA, Université Paris Saclay, 91025 Evry, France.

19

20 **Corresponding author:**

21 Fabien Sauvet, MD, PhD

22 E-mail address: fabien.sauvet@gmail.com

23 Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA), Brétigny-sur-Orge, France.

24

25

26 **ABSTRACT**

27 This study investigated whether five single nucleotide polymorphisms (*SNPs*) moderated caffeine
28 effects on vigilance performance in a double-blind and crossover total sleep deprivation (TSD)
29 protocol in 41 regular caffeine-consuming subjects. In caffeine (2x2.5mg/kg/24h) or placebo-
30 controlled condition, subjects performed a psychomotor vigilance test (PVT) and reported
31 sleepiness every six hours during TSD. EEG recordings were analyzed during PVT before and after
32 24 hours of awakening. The *TNF- α* interacts with TSD and caffeine. Carriers of A allele appear to
33 be more sensitive than those of G/G genotype to an attenuating effect of caffeine on lapses related
34 to sleep deprivation only because they seem more degraded, but they do not perform better as a
35 result. They also exhibited a higher EEG theta-to-alpha ratio after sleep deprivation in placebo
36 condition only. The *ADORA2A* interacts with TSD but not caffeine on lapses and sleepiness, with
37 T allele carriers being more degraded by sleep deprivation and feeling sleepy than C/C carriers.
38 The *PER3* interacts only with caffeine on lapses and speed. In conclusion, the genetic influence of
39 *TNF- α* on neurobehavioral impairments related to TSD seems attenuated by caffeine intake, while
40 caffeine erasing effect is observed on the genetic influence of homeostatic and circadian sleep
41 factors. (NCT03859882).

42 **Keywords:** genetics, caffeine, total sleep deprivation, psychomotor vigilance test, pro-
43 inflammatory cytokine, adenosine, gene clock.

44

45 INTRODUCTION

46 Several professions are exposed to prolonged wakefulness resulting in increased risk of
47 accident¹. Many studies have shown that total sleep deprivation (TSD) increased daytime
48 sleepiness and decreased sustained attention^{2,3}. It is well established that during sleep loss, the most
49 consistently parameter affected is the sustained attention, which is in most research, assessed
50 through the Psychomotor vigilance task (PVT)^{4,5}. Caffeine is the major worldwide most available
51 stimulant, used by professionals to counteract the sleep loss-related neurobehavioral impairment
52 and was shown to significantly increase alertness and decrease subjective sleepiness⁶.

53 On a physiological point of view, caffeine promotes wakefulness by unselectively
54 antagonizing adenosine receptors in the brain⁷. The accumulating evidence suggests that among
55 the receptors responsible for sleep induction, the role of excitatory adenosine A2 receptor (A2A)
56 is predominant in sleep regulation, whereas inhibitory A1 contributes to sleep induction in a region-
57 dependent manner, but may not be absolutely necessary for sleep homeostasis. The arousal effect
58 of caffeine has been found mediated by A2A receptors.

59 In laboratory studies of sleep deprivation, caffeine administration limited the cognitive
60 impairment on sustained attention, with doses ranging from 200 to 600 mg⁸. However, doses of
61 600 mg of caffeine can cause various side effects such as abdominal pain, nausea, jitteriness,
62 tachycardia and tremor⁸. In fact, caffeine doses ranging from 25-300 mg (0.3-4 mg/kg) have been
63 found sufficient enough to have beneficial effect on PVT performance by decreasing the lapses
64 number and improving response speed during TSD^{9,10}. However, in these studies, the authors
65 generally included non-caffeine consumers or required caffeine withdrawal prior to sleep
66 deprivation, whereas it would probably have been preferable to require one to two months of
67 caffeine withdrawal among regular consumers to create a "non-consumer profile"¹¹. Few studies
68 have thus been carried out with no change in habitual caffeine consumption.

69 Moreover, inter-individual differences exist in cognitive responses to sleep deprivation and
70 caffeine consumption/administration based on specific genetic polymorphisms, and depending of
71 sleep and circadian influences¹². Many studies showed the impact of genetic polymorphisms on
72 cognitive responses to sleep loss establishing vulnerable or resilient profiles to sleep
73 deprivation^{13,14}. The circadian clock gene PERIOD3 (PER3) polymorphism determined sustained
74 attention, subjective sleepiness¹⁵ and working memory¹⁶. Also, other genetic polymorphisms are

75 implicated in the inter-individual vulnerability to neurobehavioral impairment related to sleep loss
76 such as the rs1800629 single nucleotide polymorphism (SNP) of the pro-inflammatory cytokine
77 TNF- α ^{17,18}. During TSD, G/G (ancestral) allele carriers performed more lapses compared to A
78 (mutated) allele carriers¹⁷ with faster responses for the A allele carriers¹⁸. Catechol-O-methyl
79 transferase gene (COMT), the main enzyme degrading catecholamines, is associated with
80 neurobehavioral vulnerability to sleep deprivation^{14,18} and with differentiation in sleep duration¹⁹.
81 Finally a genetic variant of ADA, an adenosine metabolizing enzyme, has been shown associated
82 with inter-individual variability in sleep architecture and the sleep EEG¹³. Slow-wave sleep (SWA)
83 is longer and sleep is more intense in subjects with the G/A genotype than in subjects with the G/G
84 genotype. Carriers of the G/A genotype are also sleepier and performed worse on an attention task,
85 and have lower vigor and higher fatigue²⁰.

86 Regarding genetic interindividual vulnerability to sleep loss and/or caffeine efficiency, the
87 acute caffeine administration or habitual consumption have been studied. The most studied
88 rs5751876 ADORA2A (gene of A2A receptor, formally designated as 1976C/T or 1083C/T) was
89 found associated with habitual caffeine consumption²¹. This polymorphism contributed also to
90 individual sensitivity to effects of habitual caffeine consumption on sleep^{21,22}, and is associated
91 with the anxiogenic response to caffeine^{23,24}. The Bodenman et al., study²⁵ is the only one
92 demonstrating that the haplotype HT4 carriers of ADORA2A performed faster on the PVT than
93 carriers of non-HT4 haplotype alleles during TSD, and caffeine failed to counteract the PVT
94 impairment and the rebound of SWA in recovery sleep.

95 Despite the many laboratory studies on inter-individual genetic vulnerability in cognitive
96 responses to TSD, there are few data available on the influence of combined polymorphisms, and
97 no one adds the effects of caffeine administration. In its retrospective study, Satterfield et al.,¹⁷
98 evidenced that it is particularly the SNP rs1800629 of TNF- α that determines a level of resilience
99 to psychomotor vigilance performance impairment due to TSD, whereas no significant association
100 was found with ADORA2A, PER3, TLR4, and a gene polymorphism located in the MHC nearby
101 that of TNF α , DQB1*0602.

102 The aim of our study was to evaluate the influence of five SNPs and caffeine effects on
103 PVT psychomotor vigilance and subjective sleepiness during 38 hours of prolonged wakefulness
104 in healthy subjects. We also evaluated EEG activity during the PVT testing before and after 24

105 hours of prolonged wakefulness (i.e., at 09:15)²⁶. According to the literature, the five SNPs selected
106 for their involvement in cognitive vulnerability to sleep loss and/or sensitivity to the effects of
107 caffeine are: TNF- α (rs1800629), ADORA2A (rs5751876), PER3 (rs228697), COMT (rs4680),
108 and ADA (rs73598374). This choice illustrated that individual cognitive vulnerability to TSD may
109 be dependent on the homeostatic and circadian systems with a significant impact on the
110 inflammatory profile. In this study, we included regular caffeine consumers (247 ± 23 mg per day)
111 to have a population as close as possible to the French population⁹, and to be able to assess the
112 adverse effects of caffeine withdrawal in regular consumers. We hypothesized that selected genetic
113 polymorphisms should modulate the effects of caffeine on neurobehavioural and
114 neurophysiological markers of sleep deprivation.

115

116 RESULTS

117 *Participants*

118 42 subjects participated to this study (Figure 1). We excluded 1 participant because of a
119 important adverse effect after caffeine intake. Finally, a total of 41 healthy subjects (33.2 ± 0.9
120 years) followed the protocol including 53.7% (N=22) female and 46.3% (N=19) male. Subjects
121 average daily caffeine consumption was 247 ± 23 mg (mean \pm SEM). The mean BMI was $23.3 \pm$
122 0.7 for men and 22.7 ± 0.6 for women. The mean weekly exercise duration was 3.1 ± 0.3 hours.
123 The mean daily total sleep time was 7.3 ± 0.1 h and sleepiness score was 6.8 ± 0.4 . Chronotype was
124 distributed this way: 35% had morning chronotype, 35% evening chronotype and 30% middle tier.

125

126 *Adverse events (AEs)*

127 With the exception of the excluded participant, no serious AEs (>20 mm on the 100 mm
128 scale) were reported. The participant reported nausea and vomiting. For the headache AE,
129 significant treatment (TRT) is observed ($p < 0.01$) with more headache reported during the placebo
130 compared to caffeine condition. For the nausea symptom and abdominal pain, significant
131 awakening (TSD) effect is observed ($p < 0.01$, respectively) with increases as the waking time
132 increases. For the fatigue AE, significant TSD and TRT ($p < 0.01$, respectively) effects were
133 observed but without interaction. The fatigue increased with TSD in the 2 conditions but less in
134 caffeine. No significant effect of the 5 SNPs was found.

135

136 *Genotypes repartition*

137 Participant genotypes and their corresponding characteristics are summarized in Table 1.
138 Genetic variations for the rs5751876 ADORA2A, rs1800629 TNF- α , rs73598374 ADA, rs4680
139 COMT, and rs228697 PER3 are C>T, G>A, C>T, G>A and C>G respectively. Regarding age, in
140 this study, we observed that carriers of ADA C/T genotype are significantly older than C/C carriers.
141 In addition, ADORA2A T allele carriers have daily caffeine consumption higher than C/C genotype
142 carriers. The frequencies for TNF- α genotypes were different from the 1000 Genomes project
143 database population because, after reaching three-quarters of the study, we chose to select
144 participants based on their genetic profile in order to balance specific genotypes that are particularly
145 rare in the population. We chose to prioritize TNF- α and ADORA2A polymorphisms in regard to
146 the scientific literature. Since the mutated homozygous or heterozygous alleles were extremely rare
147 for some polymorphisms (TNF- α A/A; ADORA2A T/T; ADA C/T and PER3 C/G), mutated
148 homozygous and heterozygous allele were combined. Their aggregation did not modify their
149 significant effect on the parameters evaluated.

150
151 *Genetics and inter-individual vulnerability to caffeine administration effects on vigilance*
152 *performance, sleepiness and waking EEG, during sleep deprivation*

153 The ANOVA statistical analysis of the data depicted significant awakening (TSD) and
154 treatment (TRT) effects for the 5 SNPs on PVT number of lapses, speed, and KSS score ($p < 0.01$
155 for all) but no significant effect of SNP (supplementary Table 1). An ANOVA interaction between
156 TSD x TRT was observed for the PVT lapses only ($p < 0.01$) (Table 2).

157 - *Awakening (total sleep deprivation - TSD) and caffeine (treatment - TRT) effects*

158 Compared to 9:15 (at D1), there is significant increases of lapses and KSS score, and
159 decrease of speed from 20-h to 32-h of awakening (supplementary Figs. 1A, 1B, 1C). In caffeine
160 (CAF) compared to placebo (PBO) condition, the number of lapses was significantly lower
161 particularly from 14-h to 32-h of awakening. Regarding speed, it was significantly higher in CAF
162 compared to placebo condition at 8-h, 26-h and 32-h of awakening. For the KSS score, no
163 significant difference was observed between CAF and PBO conditions (supplementary Figs. 1A,
164 B, 1C).

165 - *SNPs effects*

166 For the TNF- α SNP effect on PVT lapses, there is a significant 2-way interaction with TRT
167 and significant 3-way interaction with TRT and TSD (Table 2). The post-hoc analysis showed no
168 statistical differences between genotypes at any time in TSD (Fig. 2A). However, there is a CAF
169 effect with a significant lower number of lapses (compared with placebo condition) in A allele
170 carriers at 8-h, 20-h, 26-h and 32-h, while this is present at 14-h and 32-h in G/G genotype carriers
171 (Fig. 2A). Regarding speed, a significant interaction of TNF- α SNP with TSD is observed but
172 without significant post-hoc, and no significant interaction with TRT (Table 2, supplementary fig.
173 2A). Concerning the KSS score, no significant interaction of TNF- α SNP was observed neither
174 with TSD nor with TRT (Table 2). Finally, the Z score analysis on brain scalps showed higher theta
175 activation after sleep deprivation (D2 / D1) in A allele carriers (Fig. 3A left). The ANOVA analysis
176 on theta-to-alpha ratio in response to sleep deprivation (D2 and D1 days) in the centro-temporal
177 region showed interaction of TNF- α SNP with TSD, and interaction between TSD and TRT
178 (supplementary Table 2), with higher activation in A allele carriers, compared to G/G genotype
179 carriers, but no significant TRT post-hoc values (Fig. 3A right).

180 For the ADORA2A SNP effect on PVT lapses, there is a significant interaction with TSD
181 ($p < 0.02$), but not with TRT (Table 2). Post-hoc analysis showed higher lapses in T allele carriers
182 compared with C/C genotype carriers at 32-h of awakening (Fig. 2B). With respect to the effect of
183 ADORA2A SNP on speed or KSS, there is no significant ANOVA interaction (Table 2). For speed,
184 there was no significant difference between genotype carriers during TSD (supplementary fig. 2B).
185 Finally, the Z score analysis on brain scalps showed higher theta activation after sleep deprivation
186 (D2 / D1) in T allele carriers (Fig. 3B left). The ANOVA analysis on theta-to-alpha ratio in response
187 to sleep deprivation (D2 and D1 days) in the centro-temporal region showed no significant
188 interaction of ADORA2A SNP with TSD, but interaction between TSD and TRT without post-hoc
189 (supplementary Table 2, Fig. 3B right).

190 For the PER3 SNP (rs228697) effect on PVT, there is significant 2-way interaction with
191 TRT for lapse number and speed, but no interaction with TSD ($p < 0.08$ and $p = 0.82$, respectively)
192 (Table 2). In the CAF condition, there is a significant lower number of lapses (compared with
193 placebo condition) in G allele carriers at 20-h, and 32-h of awakening, and this is present at 14-h,
194 20-h and 32-h in C/C genotype carriers (Fig. 2C). Concerning the speed, it was higher in the CAF
195 condition (compared with placebo condition) in C/C genotype carriers at 26-h of awakening, while
196 no significance was present for G allele carriers (supplementary Fig. 2C). Concerning the KSS

197 score, the PER3 SNP has no significant effect nor interaction with TSD or TRT (supplementary
198 Table 1 and Table 2). Finally, the Z score analysis on brain scalps showed higher alpha and theta
199 activations after sleep deprivation (D2 / D1) in G allele carriers (Fig. 3C left). The ANOVA
200 analysis on theta-to-alpha ratio in response to sleep deprivation (D2 and D1 days) in the centro-
201 temporal region showed no significant interaction of PER3 SNP with TSD, nor interaction between
202 TSD and TRT (supplementary Table 2, Fig. 3C right).

203 The COMT SNP (rs4680) has no significant effect on PVT lapse number, speed and KSS
204 score nor interaction with TSD or TRT (supplementary Table 1, Table 2 and Fig. 2D). Finally, the
205 Z score analysis on brain scalps showed no significant difference between genotypes on alpha and
206 theta activations after sleep deprivation (D2 / D1) (data not shown). The ANOVA analysis on theta-
207 to-alpha ratio in response to sleep deprivation (D2 and D1 days) in the centro-temporal region
208 showed no significant interaction of COMT SNP with TSD nor TRT, nor interaction between TSD
209 and TRT (supplementary Table 2).

210 For the ADA SNP (rs73598374) effect on PVT, there is 2-way interaction with TSD for the
211 speed and KSS, and no interaction with TRT on PVT parameters (lapses and speed) (Table 2,
212 supplementary Fig. 3A). For speed, the post hoc analysis showed no significant difference between
213 genotypes (supplementary Fig. 3B). Regarding KSS score, the post-hoc analysis showed that C/C
214 genotype carriers exhibited higher sleepiness than C/T carriers at 14-h, 20-h and 26-h of awakening
215 (supplementary Fig. 3C). Finally, the Z score analysis on brain scalps showed no significant
216 difference between genotypes on alpha and theta activations after sleep deprivation (D2 / D1) (data
217 not shown). The ANOVA analysis on theta-to-alpha ratio in response to sleep deprivation (D2 and
218 D1 days) in the centro-temporal region showed no significant interaction of ADA SNP with TSD
219 nor TRT, nor interaction between TSD and TRT (supplementary Table 2 and Fig. 3D).

220
221 *Correlation analysis between the lapses number and EEG alpha and theta power during the PVT*
222 *testing after sleep deprivation (D2 day) in the centro-temporal brain region*

223 For the 5 SNPs, significant positive correlations were found between theta power and the
224 number of lapses in the caffeine and placebo conditions (Fig. 4). In comparison for the alpha power
225 and number of lapses, no significant correlation was observed ($p=0.50$ and $p=0.20$ in placebo and
226 caffeine condition).

227

228 **DISCUSSION**

229 Our study demonstrated for the first time, in a large group of subjects, that genetic may
230 influences the levels of psychomotor vigilance impairments associated to total sleep deprivation
231 (i.e. corresponding to 38-hours of prolonged awakening) and their modulation by caffeine
232 administration. The influence of TNF- α polymorphism on vigilance seems to be attenuated by
233 caffeine, while caffeine seems erase the genetic influence of homeostatic and circadian sleep
234 factors. We selected five SNPs that have been previously identified as potential genetic
235 mechanisms of vulnerability to sleep loss and/or caffeine: the proinflammatory cytokine TNF- α
236 involved in the regulation of immune cells, ADORA2A and ADA the adenosine related genes,
237 PER3 the circadian gene and COMT the gene for catechol-O-methyltransferase (COMT), an
238 enzyme critical for the breakdown of catecholamines^{12,21,25}.

239 Not surprisingly, prolonged wakefulness impaired sustained attention and sleepiness, and
240 caffeine administration improved the neurobehavioural consequences of total sleep deprivation
241 (TSD) with minimal adverse effects^{2,5,10,27}. Our results also evidenced significant awakening (total
242 sleep deprivation – TSD) and caffeine (treatment – TRT) effects on PVT parameters and sleepiness
243 score, with interaction on the PVT lapses number only. We also described awakening and TRT
244 effects but without interaction on the EEG theta-to-alpha power ratio during the 09:15 PVT testing
245 (i.e. corresponding to 24-hours of awakening) in the centro-temporal brain region as previously
246 described^{28,29,30}. In this brain region, the EEG theta power and the number of lapses are significantly
247 correlated after 24-hours of TSD for all polymorphisms in placebo and caffeine conditions,
248 underlying the well established arousing effect of caffeine. At last, there are also no serious side
249 effects of awakening or caffeine in this study.

250 Caffeine globally promotes wakefulness by unselectively antagonizing adenosine
251 receptors, particularly A2A, in the brain regions, and helps to restore cognitive function after TSD,
252 often by preventing a decrease in sustained attention⁷. However, inter-individual differences exist
253 in cognitive responses to sleep deprivation and caffeine consumption/administration based on
254 specific genetic polymorphisms, and depending of sleep/circadian influences¹².

255 The common TNF- α variant G-308A (rs1800629) (GRCh38 38.1/141 reference genome,
256 on chromosome 6) is located on 31575254 position. It involves a guanine to adenine substitution
257 at position 308 in the promoter region of the gene. It was shown to alter TNF- α gene transcriptional

258 activity³¹ and increase TNF- α production in whole blood cell culture in healthy subjects³². TNF- α
259 has been proposed as a cause of cognitive instability, observed by an increase in PVT attention
260 deficits, for example, by inducing a local sleep-type state³³, and we have previously shown an
261 increase in TNF- α levels and PVT lapse deficits after 36 hours of continuous wakefulness in
262 healthy men^{3,34}.

263 In our study, TNF- α polymorphism is in significant three-way interaction with awakening
264 (TSD) and caffeine (TRT) on PVT lapses only. Post-hoc analysis showed no statistical difference
265 between genotypes on any of the PVTs criteria during TSD, regardless of treatment condition.
266 However, there was significance between genotypes for the effects of caffeine during TSD. The A
267 allele carriers experienced an alleviating caffeine effect on lapses at four PVT timing of TSD while
268 this effect was present at two-timing in the G/G genotype carriers. This suggests that carriers of
269 allele A benefit more from the stimulating effect of caffeine than G/G only because they seem more
270 degraded, but their performance is not higher. Regarding PVT speed, the TNF- α polymorphism
271 significantly interacts with awakening but without significant post-hoc, and not with caffeine. Our
272 results on PVT lapses partly contradict those of Satterfield et al.¹⁷ who show that carriers of TNF-
273 α G/G genotype are more vulnerable than A allele carriers to sleep deprivation. Nevertheless, they
274 did not study the interaction with caffeine administration as we did. On the other hand, Satterfield
275 et al.,¹⁷ found no effect of TNF- α polymorphism on the cognitive processing speed of PVT using
276 the median reaction time. In this study, subjects had to abstain from caffeine only for the week
277 prior to each laboratory experiment¹⁷, whereas our subjects maintained their usual caffeine
278 consumption until the experiment in order to be as close as possible to real-life conditions.

279 In addition, we observed no significant difference on habitual caffeine consumption
280 between TNF- α genotypes in our subjects. Regarding caffeine consumption, it usually takes one to
281 two months of caffeine withdrawal among regular consumers to create a "non-consumer profile"¹¹.
282 Thus in Satterfield et al.,¹⁷ we can suggest that regular caffeine consumers may have experienced
283 withdrawal symptoms that may have altered their neurobehavioral response to sleep deprivation³⁵.
284 The amount of variance in PVT lapses being only 6.4% for TNF- α polymorphism¹⁷, the effect of
285 habitual caffeine consumption and withdrawal may have been more pronounced on responses to
286 sleep deprivation than variability induced by TNF- α polymorphism. An other explanation for the
287 difference of our results from Satterfield et al.¹⁷ may be the genotyping method for TNF- α

288 rs1800629. In our study, this genotyping was done in duplicate with two methods, the LAMP-MC
289 and the reference Taqman, and the concordance was high³⁶. The genotype frequencies in our study
290 are additionally compared and consistent with those of the 1000 Genomes Project³⁷, while they
291 were compared with previous data of literature in Satterfield et al¹⁷. At last, we did not find
292 significant interaction of TNF- α polymorphism neither with awakening nor with caffeine treatment
293 concerning subjective sleepiness, caffeine administration alleviating its increase induced by
294 duration of wakefulness whatever polymorphism.

295 Analysis of the topographic distribution of the EEG power during the PVT testing at 09:15
296 in the morning after 24 hours of awakening (D2 / D1 day) showed higher theta activation in A
297 allele carriers compared to G/G carriers in the placebo and caffeine conditions. In addition, the
298 theta-to-alpha ratio in response to sleep deprivation (i.e. D2 day) is higher in the centro-temporal
299 region in the placebo condition only. This result underlined the interest of examining theta and
300 alpha EEG frequencies, during repetitive PVT testing. It also illustrates the sensitivity of TNF- α A
301 allele carriers to sleep deprivation, related increase of sleepiness during the PVT testing. Our
302 findings confirmed that an increase in theta activity may be the principal EEG basis of the post-
303 sleep deprivation lapses impairments as previously described²⁹. This is strengthened by the positive
304 correlation between the EEG theta frequency in the centro-temporal region and the lapse number
305 after 24 hours of sleep deprivation for the five polymorphisms and whatever the placebo and
306 caffeine conditions.

307 In our study, we showed that carriers of the TNF- α A allele appear to be more sensitive
308 than carriers of the ancestral G/G genotype to a mitigating effect of caffeine on neurobehavioral
309 impairments related to sleep deprivation. This is only because they seem more degraded, but they
310 do not perform better as a result. As caffeine concentrations relevant for human consumption have
311 been shown to systematically suppress the production of TNF- α in human blood³⁸, it would be
312 prudent to consider the genetic of TNF- α when faced with sleep deprivation. Our results also
313 highlight the need to evaluate the TNF- α protein expression in blood related to subgroups of TNF-
314 α rs1800629 genotypes carriers and the corresponding changes in response to caffeine and sleep
315 deprivation.

316 The role of A2A receptors is predominant in sleep regulation and caffeine promotes
317 wakefulness mainly by antagonizing them in the brain. The genetic influence of the gene

318 ADORA2A, coding for A2A receptor, on neurobehavioral performance and sleep EEG during
319 sleep deprivation combined with caffeine administration has only been described through
320 haplotype analysis²⁵. The rs5751876 SNP is a synonymous variant (i.e. it does not cause an amino
321 acid change in the encoded protein) located on the exon 4 position on Chr. 22q11.23, presumed in
322 the past to exert no functional effect. However, evidence has emerged that synonymous
323 substitutions can have functional consequences affecting various steps of protein biosynthesis
324 resulting in changes in protein abundance and structure, mechanisms including disruption or
325 creation of splicing regulatory sites, alterations of mRNA stability, gain or loss of miRNA binding
326 sites, and changes in translation efficiency³⁹. We previously indicated increased mRNA expression
327 of A2A receptors after total sleep deprivation in leukocytes of healthy subjects and PVT lapses
328 impairments^{3,40}. In our study and for PVT lapses only, the ADORA2A rs5751876 SNP
329 significantly interacts with awakening but not with caffeine. We hypothesis that T allele carriers
330 (C/T-T/T) made higher PVT lapses compared to homozygote ancestral C carriers, and caffeine
331 treatment alleviates the deficit in both allele carriers³⁹. The T allele carriers may have thus structural
332 differences of their A2A receptors compared to the ones of ancestral C/C genotype carriers,
333 consequently rendering them sensitive to prolonged wakefulness. In any case, our results seem
334 difficult to compared with those of Bodenmann et al.,²⁵ (2012) who show that the haplotype called
335 “HT4” carriers (which included rs5751876 T allele) performed faster than non-HT4 on PVT speed
336 during total sleep deprivation, and seem resistant to caffeine counteracting effect on the waking-
337 induced impairment of PVT performance.

338 Our recent previous study described that the influence of ADORA2A polymorphism on
339 daily total sleep time is present only in subjects habitually consuming low caffeine (0-50 mg/day),
340 with the ancestral C/C genotype carriers sleeping more than T allele carriers²¹. In this study, we
341 suggested that C/C genotype carriers appear to be very sensitive to caffeine consumption because
342 their daily sleep time is similar to that of T allele carriers as soon as the daily caffeine consumption
343 exceeds 50 mg/day (one espresso per day). In the herein presented study, although homozygous
344 C/C carriers had significantly lower habitual daily caffeine consumption than T allele carriers (177
345 vs. 293 mg/day, only the equivalent of one espresso), the 177 mg/day is far inferior to the caffeine
346 administration during the experimental protocol (350 mg with two administrations). Thus, C/C
347 carriers may, therefore, have experienced an acute effect of caffeine in reducing sleep pressure
348 compared to T allele carriers during total sleep deprivation, making them less degraded.

349 Our findings evidenced higher theta power activation at 09:15 during the PVT task after 24
350 hours of sleep deprivation on the topographic distribution of the EEG power in T allele carriers
351 than in homozygous C/C in the placebo condition, as a sleepiness indicator. However, the
352 ADORA2A polymorphism did not interact with awakening nor with caffeine for the sleep
353 deprivation-related theta-to-alpha activation in the centro-temporal brain region. Considering the
354 absence of ADORA2A polymorphism interaction with caffeine, our results seem in line with a
355 recent study demonstrating that caffeine effect on cognitive PVT performance is influenced by the
356 CYP1A2 genotype, the gene of the P450 enzyme which converts caffeine to its major metabolite
357 paraxanthine, but not by the ADORA2A genotype in healthy adults performing exercise⁴¹. It would
358 be interesting to have future studies on the influence of CYP1A2 polymorphism on
359 neurobehavioural responses to sleep deprivation.

360 It is well known that PER3 is a circadian gene which is in a robust association with diurnal
361 preference, mood, and anxiety levels^{42,43}. It modulates sleep characteristics and mediates
362 consequently waking performance⁴⁴. It was shown to interact with sleep homeostasis and circadian
363 phase during functional brain responses to an executive task⁴⁵. In this study, the polymorphism of
364 PER3 rs228697 is found in a significant ANOVA interaction with caffeine treatment on PVT lapses
365 and speed. In the caffeine condition compared with placebo, the C/C genotype carriers performed
366 less lapses at 14-, 20- and 32-h of wakefulness and were faster (at 26-h), while the significance for
367 G allele carriers was at 20-h on lapses only. This may suggest a higher effect of caffeine in
368 homozygous C/C carriers, while the lower effect in G allele carriers may be related to their higher
369 level of anxiety than that of C/C carriers found in a large student population⁴³. In addition, for KSS,
370 PER3 SNP did not interact with awakening and treatment respectively, while a nearly significant
371 three-way ANOVA interaction was present with awakening and treatment ($p < 0.06$). The additional
372 information we can provide on sleepiness indices during awakening is the higher theta activation
373 EEG power at 09:15 after 24 hours of sleep deprivation in the brain scalp of G allele carriers than
374 in homozygous C/C in the placebo condition. The main findings about influence of PER3
375 polymorphism on neurobehavioral performance of healthy individuals submitted to acute sleep
376 deprivation concerned the PER3^{4/4} and PER3^{5/5}¹⁵, and there are no data at our knowledge on the
377 combined influence of caffeine during total sleep deprivation. Individuals with the 5/5 genotype
378 had greater difficulty sustaining performance across a 10 min PVT than the 4/4 group under high
379 homeostatic sleep pressure related to 40 hours prolonged wakefulness¹⁵. In contrast, no association

380 was found between vulnerability to sleep loss quantified by the average of PVT lapses for PER3
381 polymorphism, which can be explain by the low amount of variance which (2.1%)¹⁷. Lo et al.,¹⁶
382 observed higher impairment on executive fonctions by acute sleep deprivation than sustained
383 attention, and that differences between genotype and tasks in response to sleep deprivation are
384 dependent on the circadian phase at which performance is assessed.

385 We also focused on PER3 rs228697 because the LAMP-MC genotyping method, and also
386 the Taqman referent method used in the laboratory, are much more less time-consuming than
387 genotyping performed with polymerase chain reaction (PCR) using primers described by Ebisawa
388 et al⁴⁶. For our selected PER3 rs228697, the variant G has been described in almost complete
389 linkage disequilibrium with the PER3⁴ variant (rs57875989) in a large Caucasian population living
390 in northern Italy⁴⁷. In this study, the frequency of allelic variants at two PER3 polymorphic sites,
391 rs57875989 (PER3⁴, PER3⁵) and rs228697 (PER3^C, PER3^G) were studied in buccal cells. No
392 significant relationship was observed between PER3 rs57875989 polymorphism and diurnal
393 preference, while a significant association was observed between the rs228697 G variant and
394 morningness and also between the PER3^G-PER3⁴ haplotype and morningness. With respect to the
395 relationship between PER3 and caffeine, data are scarce, but Gamble et al.⁴⁸ demonstrated that
396 three polymorphisms of PER3 were associated with increased caffeine consumption in night-shift
397 nurses only and decreased likelihood of drowsiness. Studies with large groups of healthy subjects
398 are therefore needed in order to extend knowledge of the influence of the polymorphism PER3
399 rs228697 on the effects of caffeine on neurobehavioural performance during sleep deprivation.

400 The catechol-O-methyltransferase (COMT) gene, the major enzyme degrading
401 catecholamines, particularly dopamine, has also been implicated in interindividual variation in
402 brain alpha oscillations and also in vulnerability to sleep loss^{14,49}. The Val158Met polymorphism
403 (rs4680) markedly affected enzyme activity, protein abundance, and protein stability⁵⁰. In our
404 study, the COMT rs4680 did not interact with awakening or with treatment for the PVT lapse
405 number and speed, and KSS. Similarly, no significant activation of the EEG theta or alpha power
406 during the 09:15 PVT task was found in any COMT genotypes under placebo or caffeine
407 conditions, nor was any interaction of the polymorphism on the theta-alpha ratio. There are two
408 studies of the same researchers related to COMT influence on neurobehavioral performance during
409 total sleep deprivation, one on the PVT task and the other on the executive Go/NoGo task^{14,18}. We

410 did not replicate the interaction between the time awake and COMT genotypes observed on PVT
411 reaction time (the three genotypes being considered separately)¹⁸. The lower number of participants
412 in our study may explain the lack of significance on the interaction of polymorphism with
413 awakening as observed in the retrospective study of Satterfield et al¹⁸. The two previous studies of
414 this team evidenced that the influence of COMT polymorphism on neurobehavioral performances
415 during total sleep deprivation depend on cognitive task and is different between attentional and
416 executive performances^{14,18}. Regarding the influence of COMT polymorphism on the effects of
417 caffeine administration during acute total sleep deprivation, there is few data on our knowledge,
418 the only one concerned the DAT1 dopamine transporter³⁰. The DAT1 polymorphism was found to
419 modulate effects of caffeine on low-frequency brain oscillations in wakefulness and sleep, and slow
420 waves in NREM sleep, and the rebound in SWS and EEG SWA after sleep deprivation³⁰. It would
421 be interesting to further investigate the influences of DAT1 polymorphism and caffeine on
422 cognitive impairments related to TSD.

423 The ADA G22A (rs73598374) polymorphism contributes to high interindividual variability
424 in sleep intensity, response to sleep deprivation, and caffeine effects on sleep^{13,20,51,52}. In our study,
425 this polymorphism interacts with awakening for PVT speed and KSS only, without interaction with
426 caffeine administration. The ADA polymorphism response to sleep deprivation and KSS are
427 presented in supplementary files because of the disparity in the number of subjects and age in the
428 two genotype (only five were C/T aged 45.2 y compared to thirty-six C/C aged 31.6 y).

429 It should be noted that multiple co-factors can modulate the interindividual neurobehavioral
430 variability response to caffeine effects during prolonged wakefulness, sometimes more influent
431 than the genetic impact. Co-factors such as age or gender influence cognitive performance during
432 sleep loss^{53,54}, which partly explains why we choose to present influence of ADA polymorphism
433 in supplemental files. It is meaningful to notify that our sample size was small but with the
434 advantage of limited racial and ethnic diversity. Due to the small sample size, when divided
435 according to respective alleles notably, for the ADA C/T N=5, also justify our choice of
436 supplemental files presentation.

437 In conclusion, the genetic influence of TNF- α on neurobehavioral impairments related to
438 TSD seems to be attenuated by caffeine intake, while caffeine erasing effect is observed on the
439 genetic influence of the homeostatic ADORA2A and circadian PER3 sleep factors. The

440 consideration of potential genetic influences in the operational performance of sleep-deprived
441 subjects would allow the military command to individualize advice in terms of caffeine
442 consumption, for example. Future studies could try to recruit a larger population (>100 subjects),
443 with a more diverse profile (age, gender, lifestyle habits, caffeine consumption), and periods of
444 awakening longer than 36-h or repeated exposition¹⁰.

445

446 **METHODS**

447 **Participants**

448 42 subjects, aged between 18 and 55 years, were included. The study received the
449 agreement of the Cochin – CPP Ile de France IV (Paris) Ethics Committee and of the French
450 National Agency for Medicines and Health Products Safety (ANSM) (Ile de France IV), and was
451 conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki of 1975, as revised
452 in 2001. All of the participants gave their informed written consent.

453 In order to obtain a minimum of 12 participants per group, the last 12 subjects were selected
454 specifically according to their genotypes, giving priority to the TNF- α and ADORA2A genotypes.
455 Subjects were free from medical, psychiatric, and sleep disorders. Other exclusion criteria³
456 included physical or mental health troubles based on (I) Hospital Anxiety and Depression scale,
457 HAD ≥ 16 , (II) significant medical history, (III) Epworth Sleepiness Scale, ESS > 10, (IV) Pittsburg
458 sleep quality index, PSQI > 8, (V) morningness-eveningness questionnaire < 31 or > 69, (VI)
459 habitual time in bed per night < 6 hours. Subjects were prohibited from using medications with
460 sleep-related side effects and illicit drugs, or from abusing alcohol. Subjects did not travel between
461 time zones within 7 days and did not work in shifts in the 2 weeks prior to this study. Subjects were
462 required to complete a sleep/wake schedule for the week prior to the study.

463 **Study design and testing conditions**

464 This study has been conducted in the sleep laboratory of the Armed forces biomedical
465 research institute (IRBA), Brétigny Sur Orge, France. Ambient temperature was controlled and
466 maintained at 22 (± 1)° C during all the experiment. The brightness of the lighting has been
467 maintained between 150 – 200 lux during the awaking periods and lights were off during sleep
468 periods. Meals and caloric intake were standardized for all subjects (2600 kcal/day).

469 Subjects remained inside the laboratory for 3 consecutive days. The experimental protocol
470 included (I) a habituation/training day (D0), (II) a baseline day (D1) beginning at 07:15 until 00:00,
471 (III) a total sleep deprivation (TSD) day beginning on D2 00:00 until 20:30 (i.e, 38h of continuous
472 wakefulness), and (IV) a recovery night until the end of the study (09:00 on D3).

473 Subjects were not allowed to practice exercise, taking tobacco, alcohol, or other
474 psychoactive substances during the study. They were under visual surveillance of research staff
475 members. In addition, we used a wrist actigraphy to check that the subjects stayed awake during
476 the 38-h continuous wakefulness period. When they were not engaged in testing, meals, or sleep
477 periods, participants were allowed to read, watch videos, or to speak with other participants or staff
478 members and playing games, following a pre-established program.

479

480 **Caffeine administration**

481 In this double-blind, crossover and placebo-controlled for the caffeine administration study,
482 subjects participated in two conditions (i.e. caffeine or placebo, administered twice on D1 and D2).
483 (Figure 1).

484 Each participant received for the caffeine condition, 2.5 mg/kg body weight of caffeine
485 powder mixed in decaffeinated beverage. Placebo was a decaffeinated beverage with the same
486 bitterness, smell and taste. The caffeine powders were pre-measured by the project supervisor. This
487 amount of caffeine powder was chosen for its enhancing properties on attention in sleep-deprived
488 conditions (2.5-8 mg/kg of caffeine)⁵⁵. The beverage was administered at 08:30 and 14:30 (1.5 and
489 7.5 hours of prolonged wakefulness) on D1, and at 08:30 and 14:30 (25.5 and 31.5 hours of
490 prolonged wakefulness) on D2. For each administration, tests were performed after 45 min of
491 ingestion.

492

493 **Measurements**

494 Throughout the experiment, subjects completed two tasks on a desktop computer every 6
495 hours during D1 and D2. The psychomotor vigilance task (PVT) and Karolinska sleepiness scale
496 (KSS) were performed at 09:15, 15:15, 21:15 on D1 and at 03:15, 09:15, and 15:15 on D2 (Figure

497 1). The lapses number and reaction time parameters in PVT were shown to increase the likelihood
498 of finding differences between sleep-deprived and alert states with small sample sizes⁴.

499 EEG was registered during the 10 min PVT to evaluate theta and alpha power at 2-h (D1,
500 09:15) and at 26-h (D2, 09:15) of prolonged wakefulness. All subjects had a systematic habituation
501 period for tests at D0 (habituation/training day) in order to reduce a learning bias during the first
502 set of tests. Before each PVT, visual analog scale (VAS) and KSS were self-reported. Vital signs
503 such as blood pressure and heart rate were assessed after each PVT.

504

505 *Psychomotor vigilance task (PVT) for sustained attention*

506 We used a computer-based version of the 10-min PVT⁵⁶. Subjects were instructed to
507 respond, by clicking the left mouse button, as soon as the visual stimulus appeared (incrementing
508 millisecond counter) without making false starts. The inter-stimulus interval was randomized
509 between 2 and 10 s. The Reaction Time (RT) is quantified in milliseconds for a 1 s period and the
510 response was regarded valid if RT was ≥ 100 ms. Results are expressed as the number of lapses
511 (RTs>500 ms) and speed (1/RT)⁴.

512 *Karolinska sleeping scale (KSS)*

513 The KSS is a subjective scale used to grade the subject sleepiness from 1 to 9, 1 is for
514 “extremely alert” and 9 for “extremely sleepy”⁵⁷. The informatic version used in this study enables
515 the subject to choose out of the nine given options. The KSS was carried out before each PVT test.

516

517 *Visual analogic scales(VAS)*

518 Spontaneous adverse events (AEs) were reported on a 100 mm scale on a computer with to
519 each end “not at all” and “ a lot”. Six symptoms were evaluated because of their association with
520 caffeine consumption⁸: headache, nausea, stomach pain, and fatigue. When subjects pointed above
521 20 mm, it was considered as AE pattern. If an AE was observed during the placebo condition, it is
522 considered to be related to sleep deprivation; if it was observed during caffeine condition, it may
523 be related to sleep deprivation and/or caffeine consumption. As well as the KSS, VAS was
524 administered before each PVT. Only adverse events >20mm on the 100 mm scale are reported.

525 *EEG recording during PVT*

526 - *EEG procedure*

527 EEG was recorded at 19 scalp sites according to the international 10-20 system (Fp1, Fp2, F7, F3,
528 Fz, F4, F8, T7, C3, Cz, C4, T8, P7, P3, Pz, P4, P8, O1, O2) with a Siesta 802 (Compumedics
529 Limited, Victoria, Australia). The EEG was recorded continuously at a sampling rate of 512 Hz
530 and referenced with a common average. Electrodes were interfaced with the scalp using EC2 gel
531 (Grass Technologies, Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, USA), and impedances were kept below
532 10 kOhm during the whole session. The EEG was installed approximately 20-30 min before the
533 PVT.

534 - *EEG analysis*

535 EEG spectral analysis data were analyzed in Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA) with Fieldtrip
536 toolbox (Oostenveld et al, 2011) and custom codes. Data were bandstop filtered between 48 and
537 52 Hz to remove electrical noise, highpass filtered above 0.1 Hz and locally detrended. Blink
538 artefacts were removed by computing an Independent Component Analysis (ICA, Fieldtrip), and
539 movement artefacts were removed by visual inspection. Bad electrodes were systematically
540 rejected, and if more than 3 (out of 19) electrodes were removed, the subject was excluded from
541 EEG analysis. EEG theta power (4-8 Hz) was assessed by using continuous Morlet wavelets
542 transform. Regions of interest (ROI) represent the mean of grand averaged (all subjects) theta
543 power over frontal (Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8) and centro-temporal (T7, C3, Cz, C4, T8) regions.

544

545 **Genotyping**

546 Genotyping for the rs5751876 ADORA2A, rs1800629 TNF- α , rs73598374 ADA, rs4680
547 COMT and rs228697 PER3 were performed on blood cells using the LAMP-MC method³⁶. This
548 method has been applied to complex biological matrices, such as whole blood and saliva, without
549 prior DNA extraction.

550 Blood cells samples were collected on EDTA and were aliquoted in sterile microtubes and
551 stored at -20 °C until LAMP-MC analysis. The LAMP-MC genotyping assays were realized by
552 use of the customized Human Sleep Deprivation Combo kit (Cat#LCSDC-LP-24, LaCAR MDX,
553 Liège, Belgium). A positive control and a negative control were supplied for each SNP. LAMP-
554 MC consists in a lysis of cells followed by the amplification of the target sequence at a constant

555 temperature around 65 °C using simultaneously three sets of primers, a polymerase with high strand
556 displacement activity in addition to a replication activity and a fluorophore-labelled probe.
557 Detection of homozygous wild, heterozygous and homozygous mutant genotype is performed by
558 melting curve analysis after amplification³⁶.

559

560 **Statistical analysis**

561 Statistical analyses were computed using R-studio (V 0.99.902 – 2009-2016 RStudio, Inc.).
562 Values were expressed as mean \pm SEM. If a group of homozygous mutation counts less than 6
563 members, heterozygous and homozygous are grouped for statistical analysis and graphic. However,
564 when the subject group carrying a homozygous ancestral genotype counted less than 6 members,
565 we chose to let it as it in order to constitute comparable groups. A T-test with R studio was used to
566 compare individual characteristics of subjects according to their genotype for each SNPs, and to
567 compare EEG theta-to-alpha ratio between genotypes in the two brain regions. Results for PVT
568 speed and lapses, and KSS were analyzed using a three-way mixed-effect analysis of variance
569 (ANOVA) including fixed effects for genetic polymorphism (non-repeated measures), treatment
570 (caffeine or placebo, repeated measures) and awakening duration (repeated measures). A Tukey
571 posthoc test was used to identify differences between genotypes for awakening and treatment
572 conditions. For awakening effect, all points were compared to 9:15 baseline. P-value has been
573 corrected for multiple comparison using the Bonferroni method. A correlation analysis was used
574 to study the relationships between EEG alpha and theta power during the PVT testing after sleep
575 deprivation (D2 day) using the Pearson-correlation. Changes in EEG activity were analyzed using
576 the Z-scored FFT method. The results were represented as the absolute power. The application of
577 the mathematical Gaussian curve, i.e., “bell curve”, via the estimation of probabilities using the
578 auto- and cross-spectrum of the EEGs is defined as Z-scored FFT method⁵⁸.

579

580

581 **Acknowledgements**

582 This research has been founded and supported by the Armement general direction (PDH-
583 1- SAN-1-509). We thank Robert Olasso, Céline Derbois, Anne Boland, Jean-Francois Deleuze,

584 Marie-Laure Moutet and Bertrand Fin from the CNRGH (Centre National de Recherche en
585 Génomique Humaine, université Paris-Saclay, CEA, Evry, France) for their technical support and
586 expertise. We thank Rodolphe Dorey, Benoit Lepetit, Philippe Colin, Pierre-Emmanuel Tardo-
587 Dino, and Pierre Fabries for their logistic and technical contribution.

588

589 **Author contributions**

590 ME., FS, CD., and MC. planed the study. ME., FS, CD, CB, MQ, PVB, MG, and AR conducted
591 the study. ME., FS, PVB., CD, MQ, PVB, MG and DGM conducted the analyses. ME., FS., CD.
592 and DGM drafted the main manuscript text. DL, CT, and MC provided extensive feedback. All
593 authors reviewed and approved the final version of the manuscript.

594

595 **Competing interests**

596 The authors declare no competing financial interests with this study

597

598 **Supplementary information** accompanies this paper at <http://www.nature.com/srep>

599

600 **REFERENCES**

- 601 1. Connor, J. *et al.* Prevalence of Driver Sleepiness in a Random Population-based Sample of
602 Car Driving. *Sleep* **24**, 688–694 (2001).
- 603 2. Goel, N., Rao, H., Durmer, J. & Dinges, D. Neurocognitive Consequences of Sleep
604 Deprivation. *Semin Neurol* **29**, 320–339 (2009).
- 605 3. Arnal, P. J. *et al.* Benefits of Sleep Extension on Sustained Attention and Sleep Pressure
606 Before and During Total Sleep Deprivation and Recovery. *Sleep* **38**, 1935–1943 (2015).
- 607 4. Basner, M. & Dinges, D. F. Maximizing Sensitivity of the Psychomotor Vigilance Test
608 (PVT) to Sleep Loss. *Sleep* **34**, 581–591 (2011).

- 609 5. Van Dongen, H. P. A., Maislin, G., Mullington, J. M. & Dinges, D. F. The Cumulative Cost
610 of Additional Wakefulness: Dose-Response Effects on Neurobehavioral Functions and Sleep
611 Physiology From Chronic Sleep Restriction and Total Sleep Deprivation. *Sleep* **26**, 117–126
612 (2003).
- 613 6. Lieberman, H., Tharion, W., Shukitt-Hale, B., Speckman, K. & Tulley, R. Effects of caffeine,
614 sleep loss, and stress on cognitive performance and mood during U.S. Navy SEAL training.
615 *Psychopharmacology* **164**, 250–261 (2002).
- 616 7. Urry, E. & Landolt, H.-P. Adenosine, Caffeine, and Performance: From Cognitive
617 Neuroscience of Sleep to Sleep Pharmacogenetics. in *Sleep, Neuronal Plasticity and Brain*
618 *Function* (eds. Meerlo, P., Benca, R. M. & Abel, T.) vol. 25 331–366 (Springer Berlin
619 Heidelberg, 2014).
- 620 8. Killgore, W. D. S. *et al.* Effects of dextroamphetamine, caffeine and modafinil on
621 psychomotor vigilance test performance after 44 h of continuous wakefulness. *Journal of*
622 *Sleep Research* **17**, 309–321 (2008).
- 623 9. Lanini, J., Galduróz, J. C. F. & Pompéia, S. Acute personalized habitual caffeine doses
624 improve attention and have selective effects when considering the fractionation of executive
625 functions: Caffeine and Executive Functions. *Hum. Psychopharmacol Clin Exp* **31**, 29–43
626 (2016).
- 627 10. Hansen, D. A. *et al.* Randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study of the
628 effects of repeated-dose caffeine on neurobehavioral performance during 48 h of total sleep
629 deprivation. *Psychopharmacology* **236**, 1313–1322 (2019).
- 630 11. Dager, S. R., Richards, T. L. & Artru, A. A. Human Brain Metabolic Response to Caffeine
631 and the Effects of Tolerance. *Am J Psychiatry* **9** (1999).
- 632 12. Tkachenko, O. & Dinges, D. F. Interindividual variability in neurobehavioral response to

- 633 sleep loss: A comprehensive review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **89**, 29–48
634 (2018).
- 635 13. Retey, J. V. *et al.* A functional genetic variation of adenosine deaminase affects the duration
636 and intensity of deep sleep in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**,
637 15676–15681 (2005).
- 638 14. Satterfield, B. C. *et al.* Catechol-O-methyltransferase (COMT) genotype affects cognitive
639 control during total sleep deprivation. *Cortex* **99**, 179–186 (2018).
- 640 15. Maire, M. *et al.* Sleep ability mediates individual differences in the vulnerability to sleep
641 loss: Evidence from a PER3 polymorphism. *Cortex* **52**, 47–59 (2014).
- 642 16. Lo, J. C. *et al.* Effects of Partial and Acute Total Sleep Deprivation on Performance across
643 Cognitive Domains, Individuals and Circadian Phase. *PLoS ONE* **7**, (2012).
- 644 17. Satterfield, B. C., Wisor, J.P, Field, D. A., Schmidt, M. A. & Van Dongen, H/ P. A. TNF α
645 G308A polymorphism is associated with resilience to sleep deprivation-induced psychomotor
646 vigilance performance impairment in healthy young adults. *Brain, Behav, Immun* **47**,66-74
647 (2015).
- 648 18. Satterfield, B. C., Wisor, J. P., Schmidt, M. A. & Van Dongen, H. P. A. Time-on-Task Effect
649 During Sleep Deprivation in Healthy Young Adults Is Modulated by Dopamine Transporter
650 Genotype. *Sleep* **40**, (2017).
- 651 19. Valomon, A. *et al.* Genetic polymorphisms of *DAT1* and *COMT* differentially associate with
652 actigraphy-derived sleep–wake cycles in young adults. *Chronobiology International* **31**,
653 12,705–714 (2014).
- 654 20. Bachmann, V. *et al.* Functional ADA Polymorphism Increases Sleep Depth and Reduces
655 Vigilant Attention in Humans. *Cerebral Cortex* **22**, 962–970 (2012).
- 656 21. Erblang, M. *et al.* The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association

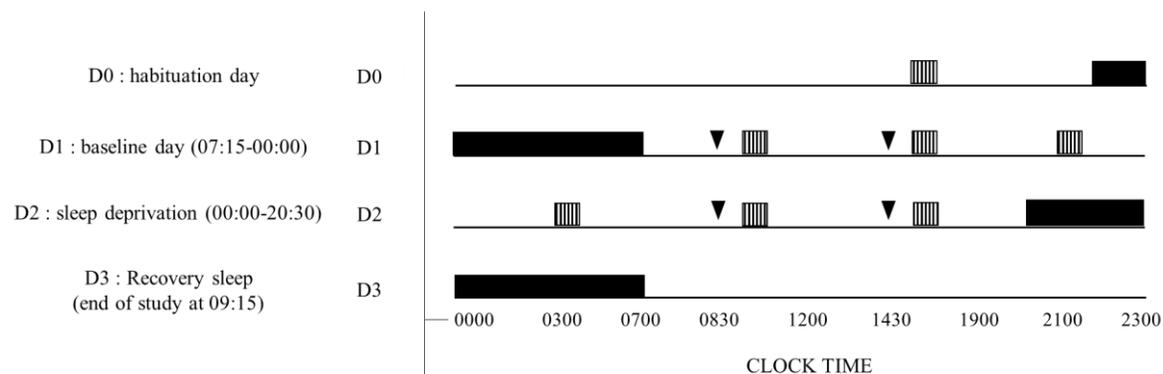
- 657 between Caffeine Consumption and Sleep. *Genes* **10**, 1021 (2019).
- 658 22. Rétey, J. V. *et al.* A Genetic Variation in the Adenosine A2A Receptor Gene (ADORA2A)
659 Contributes to Individual Sensitivity to Caffeine Effects on Sleep. *Clin Pharmacol Ther* **81**,
660 692–698 (2007).
- 661 23. Childs, E. *et al.* Association between ADORA2A and DRD2 Polymorphisms and Caffeine-
662 Induced Anxiety. *Neuropsychopharmacol* **33**, 2791–2800 (2008).
- 663 24. Rogers, P. J. *et al.* Association of the Anxiogenic and Alerting Effects of Caffeine with
664 ADORA2A and ADORA1 Polymorphisms and Habitual Level of Caffeine Consumption.
665 *Neuropsychopharmacol* **35**, 1973–1983 (2010).
- 666 25. Bodenmann, S. *et al.* Polymorphisms of ADORA2A modulate psychomotor vigilance and the
667 effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation:
668 ADORA2A haplotypes, vigilance and CNS stimulants. *British Journal of Pharmacology* **165**,
669 1904–1913 (2012).
- 670 26. Cajochen, C., Wyatt, J. K., Czeisler, C. A. & Dijk, D. J. Separation of circadian and wake
671 duration-dependent modulation of EEG activation during wakefulness. *Neuroscience* **114**,
672 1047–1060 (2002).
- 673 27. Landolt, H.-P. *et al.* Caffeine Attenuates Waking and Sleep Electroencephalographic Markers
674 of Sleep Homeostasis in Humans. *Neuropsychopharmacol* **29**, 1933–1939 (2004).
- 675 28. Retey, J. V. *et al.* Adenosinergic Mechanisms Contribute to Individual Differences in Sleep
676 Deprivation-Induced Changes in Neurobehavioral Function and Brain Rhythmic Activity.
677 *Journal of Neuroscience* **26**, 10472–10479 (2006).
- 678 29. Gorgoni, M. *et al.* Topographic electroencephalogram changes associated with psychomotor
679 vigilance task performance after sleep deprivation. *Sleep Medicine* **15**, 1132–1139 (2014).
- 680 30. Holst, S. C. *et al.* Dopaminergic Role in Regulating Neurophysiological Markers of Sleep

- 681 Homeostasis in Humans. *Journal of Neuroscience* **34**, 566–573 (2014).
- 682 31. Wilson, A. G., Symons, J. A., McDowell, T. L., McDevitt, H. O. & Duff, G. W. Effects of a
683 polymorphism in the human tumor necrosis factor promoter on transcriptional activation.
684 *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**, 3195–3199 (1997).
- 685 32. Louis, E. *et al.* Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha
686 Production in Lipopolysaccharide (LPS)-stimulated Whole Blood Cell Culture in Healthy
687 Humans. *Clin Exp Immunol* **113**,401-6 (1998).
- 688 33. Jewett, K. A. & Krueger, J. M. Humoral Sleep Regulation; Interleukin-1 and Tumor Necrosis
689 Factor. *Vitam & Horm* **89**, 241–257 (2012).
- 690 34. Chennaoui, M. *et al.* Effect of one night of sleep loss on changes in tumor necrosis factor
691 alpha (TNF- α) levels in healthy men. *Cytokine* **56**, 318–324 (2011).
- 692 35. Rogers, P. J., Heatherley, S. V., Mullings, E. L. & Smith, J. E. Faster but not smarter: effects
693 of caffeine and caffeine withdrawal on alertness and performance. *Psychopharmacology* **226**,
694 229–240 (2013).
- 695 36. Drogou, C. *et al.* Genotyping on blood and buccal cells using loop-mediated isothermal
696 amplification in healthy humans. *Biotechnology Reports* **26**, e00468 (2020). In press.
- 697 37. Auton, A., & Salcedo, T. The 1000 Genomes Project. in *Assessing Rare Variation in*
698 *Complex Traits: Design and Analysis of Genetic Studies*. (eds. Zeggini, E. & Morris, A.) 71–
699 85 (Springer International Publishing, 2015).
- 700 38. Horrigan, L. A., Kelly, J. P. & Connor, T. J. Caffeine suppresses TNF- α production via
701 activation of the cyclic AMP/protein kinase A pathway. *International Immunopharmacology*
702 **4**, 1409–1417 (2004).
- 703 39. Hunt, R. C., Simhadri, V. L., Iandoli, M., Sauna, Z. E. & Kimchi-Sarfaty, C. Exposing
704 synonymous mutations. *Trends in Genetics* **30**, 308–321 (2014).

- 705 40. Chennaoui, M. *et al.* Leukocyte Expression of Type 1 and Type 2 Purinergic Receptors and
706 Pro-Inflammatory Cytokines during Total Sleep Deprivation and/or Sleep Extension in
707 Healthy Subjects. *Front. Neurosci.* **11**, 240 (2017).
- 708 41. Carswell, A. T., Howland, K., Martinez-Gonzalez, B., Baron, P. & Davison, G. The effect of
709 caffeine on cognitive performance is influenced by CYP1A2 but not ADORA2A genotype,
710 yet neither genotype affects exercise performance in healthy adults. *Eur J Appl Physiol*
711 (2020) doi:10.1007/s00421-020-04384-8.
- 712 42. Archer, S. N., Schmidt, C., Vandewalle, G. & Dijk, D.-J. Phenotyping of PER3 variants
713 reveals widespread effects on circadian preference, sleep regulation, and health. *Sleep*
714 *Medicine Reviews* **40**, 109–126 (2018).
- 715 43. Liberman, A. R., Halitjaha, L., Ay, A. & Ingram, K. K. Modeling Strengthens Molecular
716 Link between Circadian Polymorphisms and Major Mood Disorders. *J Biol Rhythms* **33**,
717 318–336 (2018).
- 718 44. Viola, A. U. *et al.* PER3 Polymorphism Predicts Sleep Structure and Waking Performance.
719 *Current Biology* **17**, 613–618 (2007).
- 720 45. Vandewalle, G. *et al.* Functional Magnetic Resonance Imaging-Assessed Brain Responses
721 during an Executive Task Depend on Interaction of Sleep Homeostasis, Circadian Phase, and
722 PER3 Genotype. *Journal of Neuroscience* **29**, 7948–7956 (2009).
- 723 46. Ebisawa, T. *et al.* Association of structural polymorphisms in the human *period3* gene with
724 delayed sleep phase syndrome. *EMBO Rep* **2**, 342–346 (2001).
- 725 47. Turco, M. *et al.* Diurnal preference, mood and the response to morning light in relation to
726 polymorphisms in the human clock gene PER3. *Sci Rep* **7**, 6967 (2017).
- 727 48. Gamble, K. L. *et al.* Shift Work in Nurses: Contribution of Phenotypes and Genotypes to
728 Adaptation. *PLoS ONE* **6**, e18395 (2011).

- 729 49. Bodenmann, S. *et al.* The Functional Val158Met Polymorphism of COMT Predicts
730 Interindividual Differences in Brain Oscillations in Young Men. *Journal of Neuroscience* **29**,
731 10855–10862 (2009).
- 732 50. Tunbridge, E. M. *et al.* Which Dopamine Polymorphisms Are Functional? Systematic
733 Review and Meta-analysis of COMT, DAT, DBH, DDC, DRD1–5, MAOA, MAOB, TH,
734 VMAT1, and VMAT2. *Biological Psychiatry* **86**, 608–620 (2019).
- 735 51. Mazzotti, D. R. *et al.* Effects of the Adenosine Deaminase Polymorphism and Caffeine Intake
736 on Sleep Parameters in a Large Population Sample. *Sleep* **34**, 399–402 (2011).
- 737 52. Mazzotti, D. R. *et al.* Adenosine Deaminase Polymorphism Affects Sleep EEG Spectral
738 Power in a Large Epidemiological Sample. *PLoS ONE* **7**, e44154 (2012).
- 739 53. Santhi, N. *et al.* Sex differences in the circadian regulation of sleep and waking cognition in
740 humans. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**, E2730–E2739 (2016).
- 741 54. Adam, M., Rétey, J. V., Khatami, R. & Landolt, H.-P. Age-Related Changes in the Time
742 Course of Vigilant Attention During 40 Hours Without Sleep in Men. *Sleep* **29**, 55–57
743 (2006).
- 744 55. McLellan, T. M., Caldwell, J. A. & Lieberman, H. R. A review of caffeine’s effects on
745 cognitive, physical and occupational performance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*
746 **71**, 294–312 (2016).
- 747 56. Khitrov, M. Y. *et al.* PC-PVT: A platform for psychomotor vigilance task testing, analysis,
748 and prediction. *Behav Res* **46**, 140–147 (2014).
- 749 57. Åkerstedt, T., Anund, A., Axelsson, J. & Kecklund, G. Subjective sleepiness is a sensitive
750 indicator of insufficient sleep and impaired waking function. *J Sleep Res* **23**, 242–254 (2014).
- 751 58. Thatcher, R. W., Biver C.J., North D.M. Z SCORE EEG BIOFEEDBACK: TECHNICAL
752 FOUNDATIONS. *Appl Neurosci, Inc*, 1-17 (2004-2007).

753 **FIGURES**
754



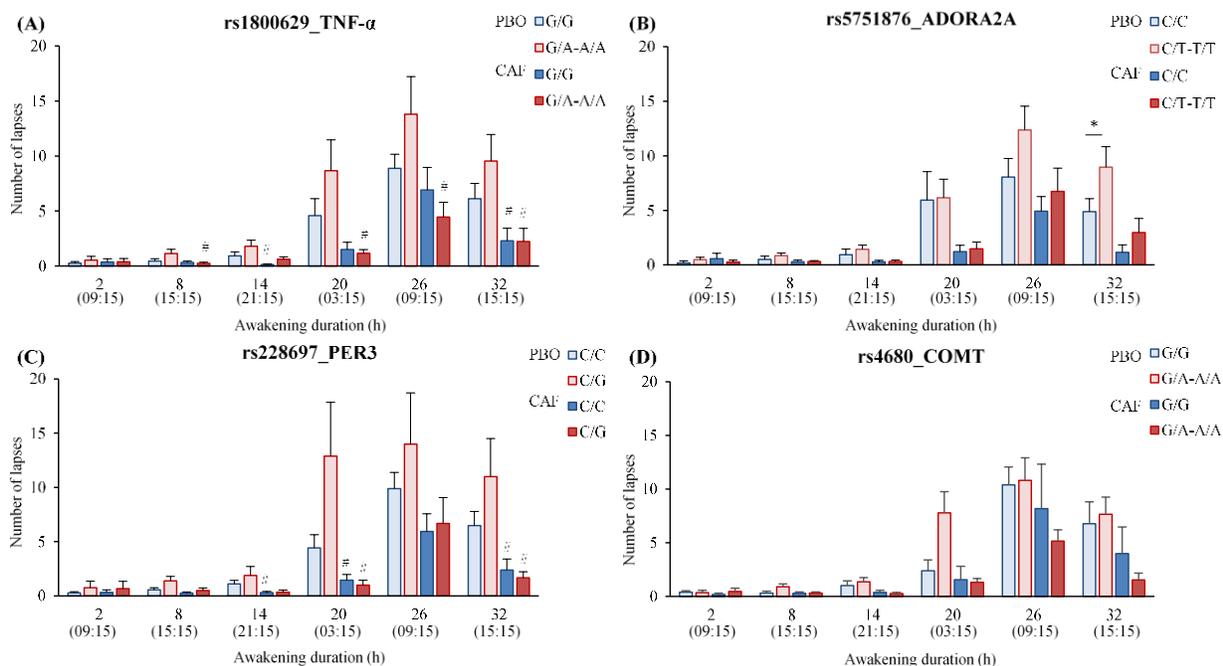
755
756 **Fig. 1.** Experimental design.

757 D0 is the habituation day, D1 is the baseline day, D2 is the day of prolonged wakefulness (i.e. sleep
758 deprivation, between 00:00-20:30) and D3 is the recovery sleep and end of the study. Night sleep
759 are the black bars, Awakening periods black line, cognitive tests are the striped bars and caffeine or
760 placebo intake are the black arrows. Visual Analogic Scales (VAS), Karolinska Sleepiness Scale
761 (KSS), and Psychomotor Vigilance Task (PVT) have been assessed at D1: 09:15, 15:15, 21:15 and
762 D2: 03:15, 09:15, 15:15)

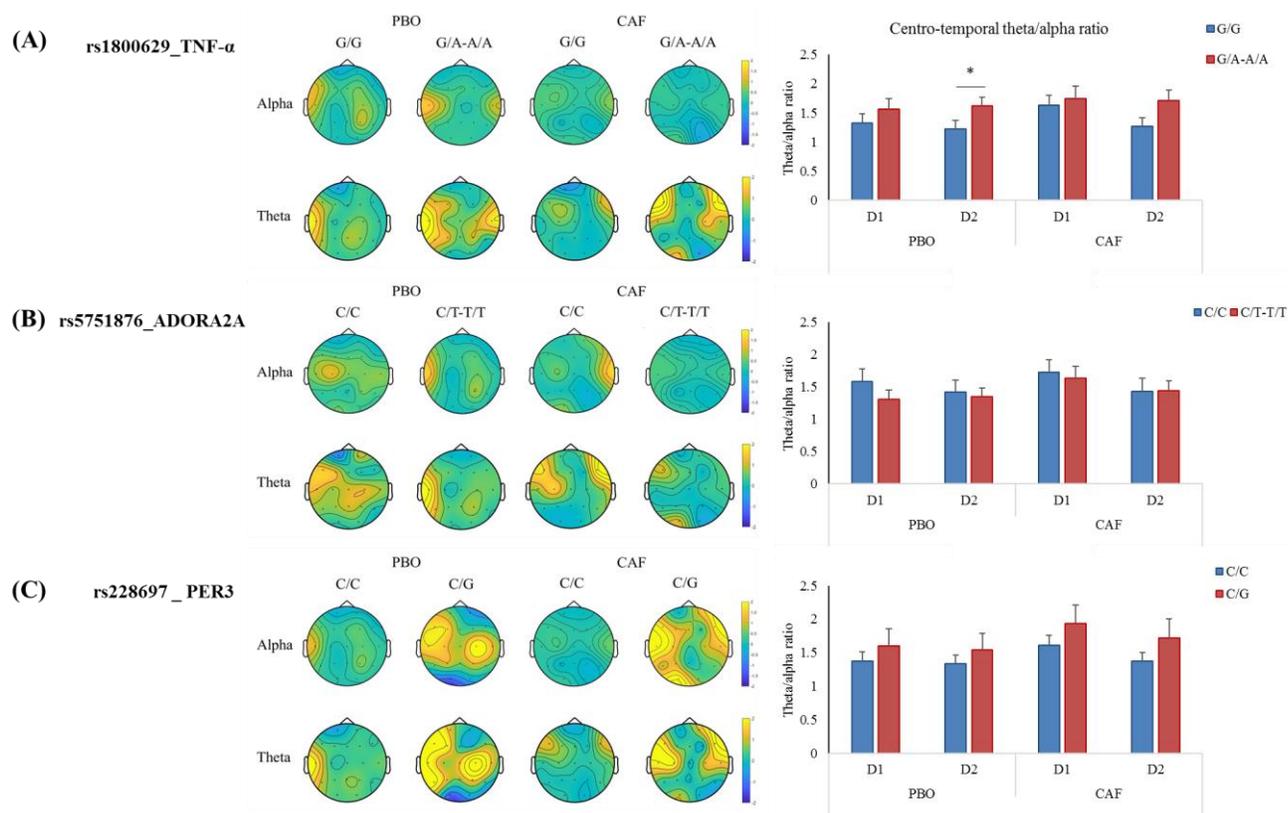
763  VAS, KSS, PVT

764  Placebo or caffeine (2.5 mg/kg) treatment (at D1 and D2: 08:30, 14:30)

765
766



767
768 **Fig. 2.** PVT number of lapses across consecutive 6-h intervals of awakening according to
769 polymorphisms of TNF- α (A), ADORA2A (B), PER3 (C) and COMT (D) in placebo (PBO) and
770 caffeine (CAF) conditions. Caffeine was consumed 45-min before PVT after 2-h, 8-h, 26-h and 32-
771 h of prolonged wakefulness. * is a SNP difference ($p < 0.05$), # is a treatment difference ($p < 0.05$)
772 for one genotype.

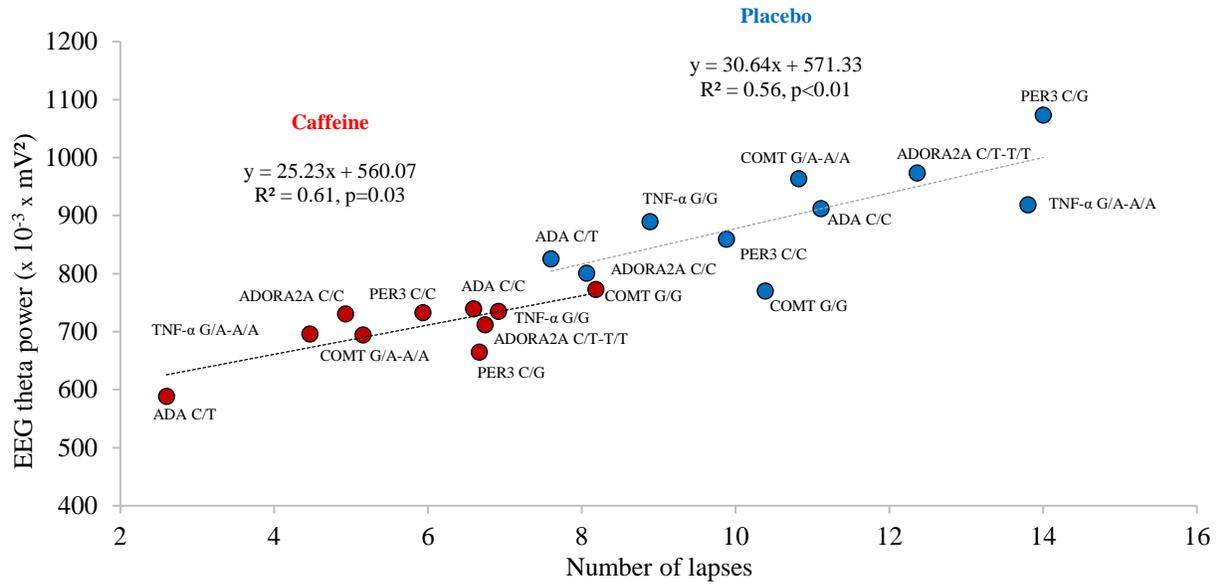


773

774

775 **Fig. 3.** EEG theta and alpha normalized power on D2 day (sleep deprivation) relative to D1 day
 776 (baseline) (z-score) on brain scalps (left); theta-to-alpha ratio (right) in the centro-temporal region,
 777 during PVT at 09:15 on D1 and D2 days, according to polymorphisms of TNF-α (A), ADORA2A
 778 (B) and PER3 (C) in placebo (PBO) and caffeine (CAF) conditions. Caffeine was consumed 45-
 779 min before PVT at D1 and D2. * significant difference between genotypes (p<0.05).

780



781
782 **Fig.4.** Correlation at 26-h of prolonged wakefulness (D2 day at 09:15) between EEG theta power
783 in the centro-temporal brain region and the number of lapses during the PVT for all genetic
784 polymorphisms in placebo (blue circle, grey line) and caffeine (red circle, black line) conditions.

785

786

787

788

789

790

791

792

793

794

795

796

797 **TABLE**

| Genetic polymorphism (Chromosome, location) | Genotypes ^a | N (%) | 1000 Genomes ^b (%) | Age (years) | Gender (♀, %) | Habitual caffeine consumption (mg/d) | Total sleep time (TST) (hours) |
|--|------------------------|-------------|-------------------------------------|--------------------|------------------|---|---|
| rs1800629_TNF-α (6:31.575.254) | G/G(ancestral) | 26 (63.4 %) | 74.4% | 34.3 ± 1.7 | 57.7% | 243 ± 38.6 | 7.5 ± 0,2 |
| | G/A-A/A | 15 (36.6 %) | 25.6% | 31.3 ± 1.5 | 46.7% | 254 ± 42.1 | 7.1 ± 0,3 |
| rs5751876_ADORA2A (22:24.441.33) | C/C (ancestral) | 16 (39 %) | 37.4% | 32.4 ± 1.7 | 56.3% | 177 ± 47.0 | 7.4 ± 0,3 |
| | C/T – T/T | 25 (61 %) | 62.6% | 33.8 ± 1.7 | 52.0% | 293 ± 33.7* | 7.3 ± 0,2 |
| rs73598374_ADA (20:44.651.586) | C/C (ancestral) | 36 (87.8 %) | 88.1% | 31.6 ± 1.0 | 52.7% | 242 ± 30.7 | 7.3 ± 0,2 |
| | C/T | 5 (12.2 %) | 11.5% | 45.2 ± 4.7* | 60.0% | 290 ± 85.4 | 7.2 ± 0,4 |
| rs4680_COMT (22:19.963.748) | G/G (ancestral) | 13 (31.7 %) | 26.4% | 31.9 ± 1.6 | 62.2% | 244 ± 58.0 | 7.2 ± 0,4 |
| | G/A-A/A | 28 (68.3 %) | 73.6% | 33.9 ± 1.6 | 46.4% | 249 ± 32.9 | 7.4 ± 0,2 |
| rs228697_PER3 (1:7.827.519) | C/C (ancestral) | 33 (80.5 %) | 81.7% | 34.0 ± 1.4 | 57.6% | 239 ± 32.4 | 7.2 ± 0,2 |
| | C/G | 8 (19.5 %) | 17.3% | 30.3 ± 2.0 | 37.5% | 281 ± 62.7 | 7.6 ± 0,1 |

798
799 **Table 1.** Genetic polymorphisms distribution and individual characteristics in the studied
800 population compared to 1000 Genomes international data base.

801 ^a Homozygous mutation is combined with heterozygous mutation, ^b expected based on 1000
802 Genomes Project data on the GRCh38 reference assembly (<http://www.internationalgenome.org/>).
803 Values are mean ± SEM. * (and bold) difference between genotypes in the same polymorphism
804 (p<0.05).

805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815

| Parameters | SNPs | Awakening x Treatment TSD x TRT F _{5,180} (p) | Polymorphism x Awakening SNP x TSD F _{5,400} (p) | Polymorphism x Treatment SNP x TRT F _{1,72} (p) | 3-way interaction SNP x TSD x TRT F _{5,360} (p) |
|------------|-------------------------|--|---|--|--|
| PVT Lapses | rs1800629_TNF- α | 19.17 (<0.01) | 1.87 (0.17) | 6.03 (0.02) | 4.04 (0.05) |
| | rs5751876_ADORA2A | 19.64 (<0.01) | 5.67 (0.02) | 0.59 (0.45) | 0.53 (0.47) |
| | rs73598374_ADA | 18.91 (<0.01) | 2.56 (0.11) | 0.46 (0.50) | 0.03 (0.86) |
| | rs4680_COMT | 19.09 (<0.01) | 0.43 (0.51) | 3.18 (0.08) | 2.40 (0.12) |
| | rs228697_PER3 | 18.71 (<0.01) | 3.02 (0.08) | 10.2 (<0.01) | 2.82 (0.09) |
| PVT Speed | rs1800629_TNF- α | 0.74 (0.39) | 6.59 (0.01) | 1.29 (0.26) | 0.27 (0.61) |
| | rs5751876_ADORA2A | 0.64 (0.42) | 0.68 (0.41) | 0.46 (0.50) | 0.00 (0.97) |
| | rs73598374_ADA | 0.60 (0.44) | 5.04 (0.03) | 1.60 (0.21) | 0.71 (0.40) |
| | rs4680_COMT | 0.64 (0.43) | 0.48 (0.49) | 0.28 (0.60) | 0.50 (0.48) |
| | rs228697_PER3 | 0.64 (0.42) | 0.05 (0.82) | 5.80 (0.02) | 0.18 (0.67) |
| KSS | rs1800629_TNF- α | 0.94 (0.33) | 1.89 (0.35) | 0.75 (0.39) | 0.48 (0.49) |
| | rs5751876_ADORA2A | 0.87 (0.35) | 2.83 (0.09) | 0.76 (0.39) | 0.24 (0.62) |
| | rs73598374_ADA | 0.89 (0.35) | 4.62 (0.03) | 3.66 (0.06) | 0.39 (0.53) |
| | rs4680_COMT | 0.98 (0.32) | 0.41 (0.52) | 0.38 (0.54) | 1.45 (0.23) |
| | rs228697_PER3 | 0.94 (0.33) | 0.02 (0.90) | 1.70 (0.20) | 3.67 (0.06) |

816

817 **Table 2.** ANOVA analysis of genetic polymorphism (SNPs) in interaction with awakening (TSD)
818 and treatment (TRT) on PVT (psychomotor vigilance task) parameters (number of lapses and
819 speed) and KSS score. In bold the significant effect ($p < 0.05$).

820

Annexe 4.

Drogou, C., Sauvet, F., **Erblang, M.**, Detemmerman, L., Derbois, C., Erkel, M-C., Boland, A., Deleuze, J-F., Gomez-Merino, D., Chennaoui, M. (2020). Genotyping on blood and buccal cells using loop-mediated isothermal amplification in healthy humans. *Biotechnology Reports* 26, e00468.



Genotyping on blood and buccal cells using loop-mediated isothermal amplification in healthy humans

Catherine Drogou^{a,b,*}, Fabien Sauvet^{a,b}, Mégane Erblang^{a,b}, Liselot Detemmerman^c, Céline Derbois^d, Marie Claire Erkel^a, Anne Boland^d, Jean François Deleuze^d, Danielle Gomez-Merino^{a,b}, Mounir Chennaoui^{a,b}

^a Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA), Brétigny sur Orge, France

^b Université de Paris, Equipe d'Accueil Vigilance FATigue et SOMmeil (VIFASOM), EA 7330, Paris, France

^c LaCAR MDX Technologies, Science Park, Liège, Belgium

^d Université Paris-Saclay, CEA, Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Evry, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 February 2020

Received in revised form 23 March 2020

Accepted 10 May 2020

Keywords:

SNP detection

Loop-mediated isothermal amplification

Melting curve

Sleep debt

ABSTRACT

Genetic variations contribute to phenotypic individual vulnerabilities to sleep debt, particularly for five single nucleotide polymorphisms (SNPs). Loop-mediated isothermal amplification and melting curve analysis (LAMP-MC) is a recently developed method to characterize SNPs. The aim of present study was to evaluate the LAMP-MC method on blood and buccal cells for detection of five SNPs of interest in healthy humans.

We first analyzed signals obtained from LAMP-MC method on 42 samples. Then we compared the results with those of referent TaqMan method.

The LAMP-MC method produced specific melting curves for the five SNPs. A high concordance of genotyping results was observed between the two methods for rs5751876_ADORA2A, rs1800629_TNF- α , rs73598374_ADA and rs228697_PER3 in blood and saliva (Cohen's kappa coefficient >0.80). A good agreement ($\kappa = 0.61$) was observed for rs4680_COMT in blood only.

LAMP-MC is a simple and reliable method to study genetic influences on health, sleep debt-related performance impairments and countermeasures.

© 2020 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are the simplest form of DNA sequence variability, contributing to phenotypic variations between individuals. They are also a relevant class of human biomarkers that may be associated to anthropometric traits, risk to specific diseases or response to environmental inputs. Sleep has a critical role in promoting health and is affected by genetic polymorphisms [1]. Two examples of conditions associated to SNP are individual sensitivity to sleep loss and to caffeine effects on sleep. In this context, Adenosine A_{2A} receptor (ADORA2A), Adenosine deaminase (ADA), Catechol-O-methyltransferase (COMT), Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and Period3 (PER3) are some of the genes contributing to genotype differences [2,3]. The adenosine pathway is known to affect general sleep and its antagonism by caffeine is thought to explain its effects on sleep [4]. COMT being one

of the major enzymes of the metabolic degradation of catecholamines plays an important role in cortical dopamine metabolism and consequently impacts sleep-wake regulation [5]. The pro-inflammatory TNF- α cytokine is a well-characterized sleep regulatory substance [6] and PER3 is circadian gene that regulates rhythmicity of multiple functions within the body [7]. Therefore based on previous studies we have focused on the five following SNPs, rs5751876 ADORA2A [8], rs1800629 TNF- α [9], rs73598374 ADA [10], rs4680 COMT [11] and rs228697 PER3 [7] in healthy humans participating in an experimental sleep deprivation protocol.

Methods for SNP genotyping are diverse and include array-based hybridization, PCR, and sequencing. Array-based hybridization uses probes immobilized on a solid support and, although limited-throughput arrays can be built in research laboratories, the design and manufacture of commercial arrays is an industrial undertaking, thus this method of SNP genotyping ranks low in assay flexibility. PCR and sequencing are classic methods but they require expertise and expensive lab equipment. Our objective is to validate a rapid genotyping method facilitating the detection of SNPs. The conventional TaqMan method is highly reliable for SNP

* Corresponding author at: IRBA, BP 73, 91223 Brétigny sur Orge, France.

E-mail address: catherine.drogou@gmail.com (C. Drogou).

genotyping applications [12,13] but time-consuming due to the necessary four steps, which are DNA extraction, DNA quality control, DNA amplification and fluorescence signal analysis. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) is a recent isothermal nucleic acid amplification technique known for its simplicity, sensitivity and speed [14,15]. Since its invention, this technique has been one of the most extensively used molecular tools in the field of diagnostics, providing rapid, accurate, sensitive and cost-effective diagnosis of human pathogens including bacteria, parasites and viruses [16]. In the case of viruses, the implementation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) has enabled a fast and efficient detection [17]. LAMP features have also resulted in development of rapid SNP detection methods from blood and buccal cells [18,19] and more recently in development of the LAMP melting curve (LAMP-MC) genotyping method [20,21]. The LAMP-MC system principally employs a set of six primers that recognize eight distinct regions on the target gene, so that the specificity and the amplification speed are extremely high [22]. It uses a strand displacing polymerase and, consequently, does not rely on thermal cycling, the target sequence is amplified at a constant temperature around 65 °C. Following the amplification procedure SNP are detected by fluorophore-labelled probe-based melting curve analysis. Furthermore, LAMP has been applied to complex biological matrices, such as whole blood and saliva, without prior DNA extraction [23]. Both characteristics of LAMP results in shorter “sample to answer” times than conventional PCR.

In this study we evaluated the precision of LAMP-MC method within a run and between runs and we compared genotyping results obtained by LAMP-MC with those obtained by the referent TaqMan method.

2. Materials and methods

2.1. Samples

Blood and saliva samples were obtained from healthy European adult volunteers participating in research protocols on the link between genetic polymorphisms, sleep and caffeine consumption [24]. Genotype determinations were carried out in two separate biology centers, the French National Center for Research in Human Genomics (CNRGH) for the referent Taqman method and the French Biomedical Research Institute of Armed Forces (IRBA) for the LAMP-MC method. The study received the agreement of the Cochin – CPP Ile de France 1 (Paris) Ethics Committee and was approved by the Agence Nationale pour la Sécurité du Médicament (ANSM) (2017-A02793-50) for the genetic collection. It was conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 2001 after obtaining written informed consent for all the participants.

Whole saliva samples were collected using Oragene DNA kits OG-500 (DNAgenotek, Ottawa, Canada) from volunteers ($n = 1023$) after rinsing the mouth with water and at least 30 min after eating or drinking. DNA from saliva collected in Oragene containers should be stable for at least 5 years at ambient temperature. These saliva samples were dedicated to TaqMan assays in the laboratories of CNRGH.

In addition among these volunteers, 42 blood and buccal cells samples were collected for the blinded methods comparison. EDTA blood were aliquoted in sterile microtubes and stored at -20°C until LAMP-MC analysis. Sterile omniswab devices (Whatman FTA collection, GE Healthcare, UK) were used for buccal cells collection, each brush-like swab head were ejected in a microtube contained 200 μL of Tris-EDTA buffer and stored at -20°C until LAMP-MC genotyping.

2.2. TaqMan SNP genotyping assays

After manual cell lysate preparation the genomic DNA purification was performed on an Autopure LS instrument (Qiagen, Hilden, Germany) at CNRGH. DNA quantity, integrity and ability to PCR amplification were evaluated by Quality Controls. 1023 DNA extracts were transferred on 384 wells plates. Participants were genotyped using predesigned probes and TaqMan SNP genotyping assays provided by Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA). PCR was performed on GeneAmp PCR System 9700 and a 7900 HT system with SDS software version 2.4 (Applied Biosystems, Foster City, USA) was used for fluorescence detection and allelic discrimination. A check by Sanger sequencing of PCR products was carried out for rs5751876 because ADORA2A gene includes many SNPs in this region.

2.3. LAMP-MC assays

LAMP-MC consists in a lysis of cells from whole blood or collected on buccal swabs followed by the amplification of the target sequence at a constant temperature around 65 °C using simultaneously three sets of primers, a polymerase with high strand displacement activity in addition to a replication activity and a fluorophore-labelled probe. Detection of homozygous wild, heterozygous and homozygous mutant genotypes is performed by melting curve analysis after amplification.

LAMP-MC assays were realized by use of the customized Human Sleep Deprivation Combo kit (Cat#LC-SDC-LP-24, LaCAR MDX, Liège, Belgium). A positive control and a negative control were supplied for each SNP. Samples, controls and reagents were thawed at room temperature and the reactions were set up with 5 μL blood or control, or one swab, in 1 mL of lysis buffer. After 10 min of incubation at room temperature, 5 μL of the lysed sample or control were added to 20 μL reaction buffer per well. Each SNP was detected by a separate reaction buffer, containing all reagents specific for the amplification and detection of one SNP. The 8 wells strip, containing 6 unknown samples and 2 controls, was briefly centrifuged and then placed in the analyzer (LC-Genie III™ v3.17). Following the 40 min amplification step at 65 °C, the mix were cooled down to 35 °C to allow fluorophore-labelled probe annealing. Then melting curves were generated in the temperature range of 35–80 °C with ramp rate of 0.2 °C/s. The increasing of temperature induces the separation of the fluorophore from the quencher and the generation of a fluorescence signal. According to the design of each SNP probe, the presence or the absence of mutation decreases the dehybridization temperature of probe.

2.4. Analytical validation and statistics

For the validation of each SNP, 30 blood samples and 12 buccal cells samples were blindly assayed performing 7 runs. The quality and specificity of the signal were checked from the observed melting profiles as well as the adequacy between the measured melting peaks and the acceptance windows mentioned by the manufacturer. Intra-assay precision was evaluated by the analysis of one set of 6 replicates from one heterozygote blood sample for each studied SNP. Inter-assay precision was calculated from melting temperatures that were obtained after testing the same heterozygote sample during 6 assays, by three different operators. At last we have compared the genotyping results of the two methods for the 42 assayed samples. To assess the concordance of genotype data between technologies, we computed the Cohen's kappa coefficient, a commonly used index to quantify agreement between two measurements [25]. The κ statistic measures agreement between two raters that is beyond chance, with chance

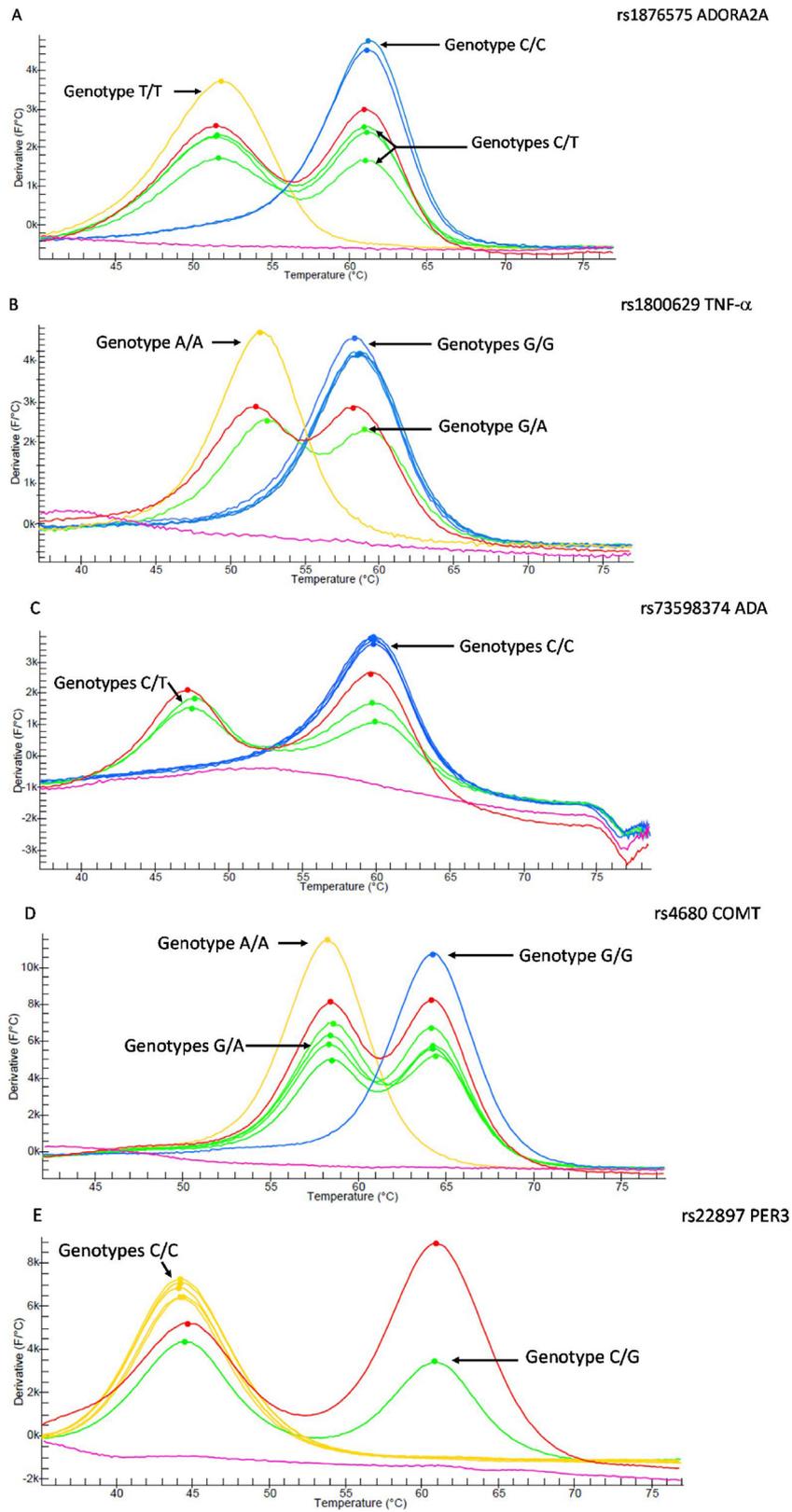


Fig. 1. LAMP melting curves of blood samples for the 5 tested SNPs. A) rs5751876 ADORA2A, B) rs1800629 TNF-alpha, C) rs73598374 ADA, D) rs4680 COMT and E) rs22897 PER3. Signals from homozygous subjects are represented by yellow and blue lines, signals from heterozygous subjects are represented by green lines. Red and pink lines correspond respectively to positive and negative controls (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

Table 1
Observed melting peak temperatures from 42 samples.

| SNP | Mean | Observed range | Observed range size | LaCAR MDX range acceptance |
|-------------------------|-------|----------------|---------------------|----------------------------|
| rs5751876 ADORA2A | | | | |
| C allele (n = 39) | 60.98 | 60.66 – 61.77 | 1.11 | 59.6 – 62.6 |
| T allele (n = 26) | 51.52 | 51.18 – 52.31 | 1.13 | 50.2 – 53.2 |
| TNF- α rs1800629 | | | | |
| G allele (n = 39) | 58.65 | 58.05 – 59.47 | 1.42 | 57.1 – 60.1 |
| A allele (n = 11) | 52.24 | 51.52 – 53.46 | 1.94 | 50.8 – 53.8 |
| rs73598374 ADA | | | | |
| C allele (n = 42) | 59.66 | 58.37 – 60.49 | 2.12 | 58.1 – 61.1 |
| T allele (n = 7) | 47.67 | 47.41 – 48.02 | 0.61 | 45.8 – 48.8 |
| rs4680 COMT | | | | |
| G allele (n = 16) | 64.18 | 63.45 – 64.63 | 1.18 | 62.8 – 65.8 |
| A allele (n = 18) | 58.43 | 57.45 – 58.99 | 1.54 | 57.0 – 60.0 |
| rs228697 PER3 | | | | |
| C allele (n = 40) | 44.80 | 43.65 – 46.06 | 2.41 | 43.1 – 46.1 |
| G allele (n = 5) | 60.97 | 60.67 – 61.29 | 0.62 | 59.0 – 62.0 |

All data are in °C.

being a value of zero and with 1.00 being complete agreement, not by chance. κ Values were calculated and ranked as minimal agreement ($\kappa < 0.20$), weak agreement ($\kappa < 0.40$), moderate agreement ($\kappa < 0.60$), good agreement ($\kappa < 0.80$) and excellent agreement ($\kappa \geq 0.80$) [26].

3. Results

3.1. LAMP-MC method

Genetic variations for the rs5751876 ADORA2A, rs1800629 TNF- α , rs73598374 ADA, rs4680 COMT and rs228697 PER3 are T > C, A > G, T > C, A > G and G > C respectively. The customized kit included the accepted range of melting temperature for each allele of the 5 SNPs. In both runs negative controls have certified that no contamination was present. The efficiency of the procedure was assessed by systematically using positive controls that consist in different plasmids containing wild type and mutated gene fragments for each target polymorphism. Observed fluorescence levels were satisfactory. Curves were generated by derivative of fluorescence signal increases. Melting curves of the different genotypes detected by LAMP-MC are shown in Fig. 1. They well illustrate the quality of the signal for each of the 5 assayed SNPs; each profile includes a negative control, a positive control and six unknown samples. Overall the analysis of the 42 samples (30 blood cells plus 12 buccal cells) by the LAMP-MC method gave specific signals for the 5 SNPs. In detail, all melting peaks were in the accepted range excepted for one sample for rs1800629 TNF- α and rs4680 COMT and two samples for rs228697 PER3. On the other hand no signal was obtained from the 12 buccal cells samples for the rs4680 COMT. Supplementary lysis tests, consisting to add a buccal swab to blood lysis, have shown that presence of saliva systematically inhibits the fluorescence signal.

Both means, minimum and maximum temperatures of accepted melting peaks obtained from the 7 runs analysis, are presented in Table 1. Intra- and inter-assay precisions are described in Table 2. The assays have good performances (CV < 1.5 % in the inter-assay precision analysis).

3.2. Comparison of genotypes frequencies with the referent TaqMan method

The TaqMan-determined genotypes frequencies of the 42 humans volunteers from our 1023 European panel and those obtained in 1000 Genomes Project are shown in Table 3. The genotypes frequencies for our 1023 panel are similar to the 1000

Table 2
Analysis of assay precision (n = 6).

| | Intra-assay precision | | Inter-assay precision | |
|-------------------------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | Tm mean (°C) | CV (%) | Tm mean (°C) | CV (%) |
| rs5751876 ADORA2A | | | | |
| C allele | 60.95 | 0.34 | 61.00 | 0.49 |
| T allele | 51.50 | 0.38 | 51.61 | 0.46 |
| rs1800629 TNF- α | | | | |
| G allele | 58.55 | 0.39 | 58.67 | 0.71 |
| A allele | 51.98 | 0.45 | 52.12 | 0.87 |
| rs73598374 ADA | | | | |
| C allele | 59.84 | 0.45 | 59.63 | 0.67 |
| T allele | 47.56 | 0.88 | 47.57 | 1.07 |
| rs4680 COMT | | | | |
| G allele | 64.28 | 0.38 | 64.06 | 0.37 |
| A allele | 58.46 | 0.39 | 58.37 | 0.31 |
| rs228697 PER3 | | | | |
| C allele | 45.58 | 0.44 | 44.60 | 1.24 |
| G allele | 61.36 | 0.38 | 60.79 | 0.33 |

Tm: melting peak temperature; CV: Coefficient of variation.

Genomes Project data on the GRCh38 reference assembly [24]. All alleles were represented in the 42 volunteers, all existing genotypes for each SNP were therefore tested.

The comparison was only performed for the sample showing melting peak temperature in the manufacturer accepted range (see above for excluded samples). Moreover, as no signal was obtained for rs4680 COMT on the 12 buccal cells samples, this comparison was not possible. Thus number of interpreted melting curves was comprised between 42 and 29 after running 30 blood samples and 12 buccal cells samples for each SNP (Table 4). The concordance analysis between the two genotyping methods is summarized in Table 4. A majority of genotyping results was valid except for a few heterozygous profiles. In these profiles, one of the two allelic peaks was too weak and 1 false homozygous result was displayed.

The results showed an excellent concordance with the referent TaqMan method for 4 studied SNPs (i.e. rs5751876 ADORA2A, rs1800629 TNF- α , rs73598374 ADA and rs228697 PER3 in blood and buccal cells). Cohen's Kappa coefficients higher than 0.80 in blood and buccal cells attest to an excellent agreement between the two genotyping methods (Table 4) [26]. Concerning the rs4680 COMT, Cohen's Kappa coefficient 0.61 in blood signs a good agreement.

In addition it should be noted that in the case of an invalid melting peak temperature or invalid result, samples were tried again and a half was detected successfully (Data not shown).

Table 3
Genotypes frequencies.

| Gene | Reference SNP | Allele (Wild/Mutated) | Frequency W/W | Frequency W/M | Frequency M/M |
|---------------|---------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| ADORA2A | rs5751876 | C/T | 33.3 (35.9) [37.4] | 59.3 (45.6) [47.1] | 7.4 (18.5) [15.5] |
| TNF- α | rs1800629 | G/A | 75.5 (74.1) [74.4] | 18.9 (24.6) [24.5] | 5.6 (1.3) [1.2] |
| ADA | rs73598374 | C/T | 87.2 (89.2) [88.1] | 12.8 (10.4) [11.5] | 0 (0.4) [0.4] |
| COMT | rs4680 | G/A | 29.2 (30.4) [26.4] | 45.8 (49) [47.1] | 25 (20.6) [26.4] |
| PER3 | rs228697 | C/G | 89.8 (82.7) [81.7] | 10.2 (16.4) [17.3] | 0 (0.9) [1] |

Data in percent (%) of the n = 42 subjects, % of the 1023 European volunteers in parentheses and % of the 1000 Genomes project in brackets. W is the wild allele, M is the mutated allele and W/M correspond to heterozygous subject.

Table 4
Concordance between genotyping results of LAMP-MC method with the referent method.

| Gene /SNP | Sample type | Sample number | Interpreted melting curves | Valid result | False result ^a | Concordance (%) | Cohen's κ Coefficient ^b |
|-----------------|-------------|---------------|----------------------------|--------------|---------------------------|-----------------|---|
| ADORA2A / | Blood | 30 | 30 | 29 | 1 | 96.7 | 0.936 |
| rs5751876 | Bu Cells | 12 | 12 | 12 | 0 | 100 | 1 |
| TNF- α / | Blood | 30 | 29 | 28 | 1 | 96.6 | 0.910 |
| rs1800629 | Bu Cells | 12 | 12 | 11 | 1 | 91.7 | 0.824 |
| ADA / | Blood | 30 | 30 | 30 | 0 | 100 | 1 |
| rs73598374 | Bu Cells | 12 | 12 | 12 | 0 | 100 | 1 |
| COMT / | Blood | 30 | 29 | 25 | 4 | 86.2 | 0.610 |
| rs4680 | Bu Cells | 12 | 0 | - | - | - | - |
| PER3 / | Blood | 30 | 28 | 27 | 1 | 96.4 | 0.870 |
| rs228697 | Bu Cells | 12 | 12 | 12 | 0 | 100 | 1 |

Bu Cells means Buccal cells.

^a Heterozygous not detected (one of the two peaks too weak).

^b Cohen's kappa values are ranked as minimal agreement ($\kappa < 0.20$), weak agreement ($\kappa < 0.40$), moderate agreement ($\kappa < 0.60$), good agreement ($\kappa < 0.80$) and excellent agreement ($\kappa \geq 0.80$).

4. Discussion

Initially described by Notomi et al. [14], the LAMP approach allows to rapidly amplify a target DNA sequence in high specific and sensitive manner despite the use of untreated biological fluids. These properties have been used by LaCAR MDX to develop kits for genetic polymorphisms detections. The present study shows that the LAMP technique and subsequent melting curve analysis may be chosen for simple and rapid detection of number of single nucleotide variants. The observed temperature ranges were lower than 2 °C for 8 alleles out of 10 which attests the LAMP-MC robustness (Table 1).

A reliable genotype identification of 4 SNPs of interest was achieved in more than 90 % of samples (i.e. rs5751876 ADORA2A, rs1800629 TNF- α , rs73598374 ADA and rs228697 PER3 in blood and buccal cells) and the success rate is 86 % for rs4680 COMT with blood samples. Moreover for each invalid signal (melting peak temperature out of range or one of the two peaks too weak) a second assay of sample has allowed to obtain a correct result in 50 % of the cases. Thus the set of primers and labelled fluorophore probe designed by LaCAR MDX has permitted to reliably detect the five SNPs in blood even in the presence of several mutations in the targeted DNA region especially for rs5751876 ADORA2A and rs4680 COMT. A LAMP-MC assay has been previously developed for a rapidly diagnosis of genetic predisposition to lactose intolerance in human [21] and our results showed its promising interest in future research protocols to rapidly identify sensitivity to extreme environmental conditions such as sleep debt.

In addition we are the first to detect SNP in buccal cells of healthy human using LAMP-MC method without prior DNA extraction. Except for rs4680 COMT, this method is good or excellent. Indeed, a previous work has been conducted by Carlos et al. [19] on buccal cells but with a prior DNA extraction before LAMP analysis.

In our study, both blood and buccal cells have given good results, except for the rs4680 COMT. In the case of this SNP, the lack of signal is closely related to the use of the salivary matrix. Previous studies have shown that saliva-derived genomic DNA contains significant bacterial contamination, which may reduce the amplification and genotyping success rates compared to the use of blood-derived genomic DNA [27–29]. Thus Hansen et al. [27] and Rogers et al. [28] compared the amplification and genotyping performances obtained after extraction of DNA from blood and from different saliva collection devices. They particularly reported more important bacterial DNA and protein contaminations and lower genotyping call rates when buccal swab rather than whole saliva Oragen devices are used. The loss of efficiency between blood and different salivary samples is likely related to the quantity of protein and bacterial DNA in saliva samples. In our case of a specific lack of signal for rs4680 COMT assay, we can put forward two explanations: (i) a common bacterial nuclease cleaves human genomic DNA near the rs4680 target or (ii) some contaminating bacterial DNA may competitively interfere with the binding of the labelled probe to the rs4680 target and adjacent sequences. On this assumption, purification of the salivary sample will therefore not necessarily

bring a better result. Furthermore, Abildgaard et al. [20] have observed more consistent melting curve profiles when whole blood was used as raw material compared to the DNA extract. To overcome problems encountered with salivary samples, future assays will be conducted using non-absorbent materials. Small scrapers cells will be tested in place of buccal swabs to maximize rapid recovery of epithelial cells and minimize salivary proteins binding. For the genotyping of saliva samples, we therefore recommend that preliminary tests be performed for each newly developed kit to verify the quality of the amplification signal. It should be noted that all biological fluids can be tested [23] and that in any case only 5 μ L of blood is required.

Compared to conventional genotyping methods (array-based hybridization, PCR or sequencing), LAMP-MC exhibits several interesting advantages: (i) no prior DNA extraction is required, (ii) the assays are simple and easy to perform once the appropriate primers are prepared, (iii) the maximum amplification signal is achieved within 40 min, (iv) the equipment required is neither expensive nor cumbersome. These characteristics of LAMP-MC results in shorter response times between sample and reliable genotyping than conventional methods. This allows us to quickly and individually advise each of our healthy subjects during sleep and caffeine awareness training. Furthermore, due to the absence of genomic DNA extraction, an ancestral DNA library is not built up, and this guarantee facilitates the participation of volunteers in health follow-ups.

In conclusion, the LAMP-MC method is fast and does not request expensive equipment which makes it useful for low throughput research studies. A major advantage of the genotyping LAMP-MC method is its ability to amplify DNA directly from whole blood or buccal cells by the easy use of custom-designed kits.

Our results show that this genotyping method is adapted to help understanding individual vulnerability to sleep debt or individual adaptability to countermeasures.

Authors statement

All authors agree the revised manuscript BTRE_2020_94 and state it has not been submitted elsewhere.

Ethical approval

The study received the agreement of the Cochin – CPP Ile de France 1 (Paris) Ethics Committee and was approved by the Agence Nationale pour la Sécurité du Médicament (ANSM) (2017-A02793-50).

Author contributions

CD: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis and Writing – original draft. FS: Investigation and Funding acquisition. ME: Validation. LD: Methodology. CeD: Methodology. MCE: Methodology. AB and JFD: Data curation and Supervision. DGM: Writing – review & editing. MC: Project administration and Supervision.

Declaration of Competing Interest

L.D. is a full-time employee of LaCAR MDX. Other authors have no competing interests with this study to declare. This study has been funded by the Armaments Procurement Agency (Direction Générale de l'Armement, DGA, Ministry of Armed Forces, contract PDH-1-SMO-2-509).

Acknowledgements

The sponsor of this study was the French armed forces health service (Service de santé des armées). We thank Dr Robert Olasso, Ms Marie-Laure Moutet and Mr Bertrand Fin from the CNRGH (Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Université Paris-Saclay, CEA, Evry, France) for their technical support and expertise. We thank Mederic de la Bourdonnaye for his technical participating.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00468>.

References

- [1] N. Goel, Genetics of sleep timing, duration and homeostasis in humans, *Sleep Med. Clin.* 6 (2011) 171–182, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsmc.2011.03.004>.
- [2] N. Goel, Neurobehavioral effects and biomarkers of sleep loss in healthy adults, *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 17 (2017), doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s11910-017-0799-x>.
- [3] H.P. Landolt, Genetic determination of sleep EEG profiles in healthy humans, *Prog. Brain Res.* 193 (2011) 51–61, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-53839-0.00004-1>.
- [4] J.V. Rétey, M. Adam, R. Khatami, U.F.O. Luhmann, H.H. Jung, W. Berger, H.P. Landolt, A genetic variation in the adenosine A2A receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep, *Clin. Pharmacol. Ther.* 81 (2007) 692–698, doi:<http://dx.doi.org/10.1038/sj.cpt.6100102>.
- [5] Y. Dauvilliers, M. Tafti, H.P. Landolt, Catechol-O-methyltransferase, dopamine, and sleep-wake regulation, *Sleep Med. Rev.* 22 (2015) 47–53, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.smrv.2014.10.006>.
- [6] J.M. Krueger, D.M. Rector, S. Roy, H.P.A. Van Dongen, G. Belenky, J. Panksepp, Sleep as a fundamental property of neuronal assemblies, *Nat. Rev. Neurosci.* 9 (2008) 910–919, doi:<http://dx.doi.org/10.1038/nrn2521>.
- [7] A. Hida, S. Kitamura, Y. Katayose, M. Kato, H. Ono, H. Kadotani, M. Uchiyama, T. Ebisawa, Y. Inoue, Y. Kamei, M. Okawa, K. Takahashi, K. Mishima, Screening of clock gene polymorphisms demonstrates association of a PER3 polymorphism with morningness-eveningness preference and circadian rhythm sleep disorder, *Sci. Rep.* 4 (2014) 1–6, doi:<http://dx.doi.org/10.1038/srep06309>.
- [8] S. Bodenmann, C. Hohoff, C. Freitag, J. Deckert, J.V. Rétey, V. Bachmann, H.P. Landolt, Polymorphisms of ADORA2A modulate psychomotor vigilance and the effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation, *Br. J. Pharmacol.* 165 (2012) 1904–1913, doi:<http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01689.x>.
- [9] B.C. Satterfield, J.P. Wisor, S.A. Field, M.A. Schmidt, H.P. Van Dongen, TNF α G308A polymorphism is associated with resilience to sleep deprivation-induced psychomotor vigilance performance impairment in healthy young adults, *Brain Behav. Immun.* 47 (2015) 66–74, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.12.009>.
- [10] D.R. Mazzotti, C. Guindalini, R. Pellegrino, K.F. Barrueco, R. Santos-Silva, L.R.A. Bittencourt, S. Tufik, Effects of the adenosine deaminase polymorphism and caffeine intake on sleep parameters in a large population sample, *Sleep.* 34 (2011) 399–402, doi:<http://dx.doi.org/10.1093/sleep/34.3.399>.
- [11] A. Valomon, S.C. Holst, V. Bachmann, A.U. Viola, C. Schmidt, J. Zürcher, W. Berger, C. Cajochen, H.P. Landolt, Genetic polymorphisms of DAT1 and COMT differentially associate with actigraphy-derived sleep-wake cycles in young adults, *Chronobiol. Int.* 31 (2014) 705–714, doi:<http://dx.doi.org/10.3109/07420528.2014.896376>.
- [12] K.J. Livak, Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay, *Genet. Anal. Biomol. Eng.* 14 (1999) 143–149, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/s1050-3862\(98\)00019-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1050-3862(98)00019-9).
- [13] G.Q. Shen, K.G. Abdullah, Q.K. Wang, The TaqMan method for SNP genotyping, *Methods Mol. Biol.* 578 (2009) 293–306, doi:http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_19.
- [14] T. Notomi, H. Okayama, H. Masubuchi, et al., Loop-mediated isothermal amplification of DNA, *Nucleic Acids Res.* 28 (2000) E63, doi:<http://dx.doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>.
- [15] K. Nagamine, T. Hase, T. Notomi, Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers, *Mol. Cell. Probes* 16 (2002) 223–229, doi:<http://dx.doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>.
- [16] G. Chakraborty, I. Karunagasar, A. Chakraborty, Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid molecular diagnosis technique for detection of human pathogens, *NUJSH* 7 (2017) 42–48.
- [17] J.-G. Kim, S.H. Baek, S. Kim, H.I. Kim, S.W. Lee, L.M.T. Phan, S.K. Kailasa, T.J. Park, Rapid discriminative detection of dengue viruses via loop mediated isothermal amplification, *Talanta* 190 (2018) 391–396, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.019>.

- [18] C. Zhang, Y. Yao, J.L. Zhu, S.N. Zhang, S.S. Zhang, H. Wei, W.L. Hui, Y.L. Cui, Establishment and application of a real-time loop-mediated isothermal amplification system for the detection of CYP2C19 polymorphisms, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–7, doi:<http://dx.doi.org/10.1038/srep26533>.
- [19] F.F. Carlos, B. Veigas, A.S. Matias, G. Doria, O. Flores, P.V. Baptista, Allele specific LAMP- gold nanoparticle for characterization of single nucleotide polymorphisms, *Biotechnol. Rep.* 16 (2017) 21–25, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2017.10.003>.
- [20] A. Abildgaard, S.K. Tovbjerg, A. Giltay, L. Detemmerman, P.H. Nissen, Lactase persistence genotyping on whole blood by loop-mediated isothermal amplification and melting curve analysis, *Clin. Chim. Acta* 482 (2018) 50–56, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2018.03.029>.
- [21] H. Delacour, A. Leduc, A. Louçano-Perdriat, J. Plantamura, F. Ceppa, Diagnosis of genetic predisposition for lactose intolerance by high resolution melting analysis, *Ann. Biol. Clin.* 75 (2017) 67–74, doi:<http://dx.doi.org/10.1684/abc.2016.1210>.
- [22] N. Tomita, Y. Mori, H. Kanda, T. Notomi, Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products, *Nat. Protoc.* 3 (2008) 877–882, doi:<http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2008.57>.
- [23] P. Francois, M. Tangomo, J. Hibbs, E.J. Bonetti, C.C. Boehme, T. Notomi, M.D. Perkins, J. Schrenzel, Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 62 (2011) 41–48, doi:<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00785.x>.
- [24] M. Erblang, C. Drogou, D. Gomez-Merino, A. Metlaine, A. Boland, J.F. Deleuze, C. Thomas, F. Sauvet, M. Chennaoui, The impact of genetic variations in ADORA2A in the association between caffeine consumption and sleep, *Genes* 10 (2019), doi:<http://dx.doi.org/10.3390/genes10121021>.
- [25] J.A. Cohen, Coefficient of agreement for nominal scales, *Educ. Psychol. Meas.* 20 (1960) 37–46, doi:<http://dx.doi.org/10.1177/001316446002000104>.
- [26] J.R. Landis, G.G. Koch, The measurement of observer agreement for categorical data, *Biometrics* 33 (1977) 159–174, doi:<http://dx.doi.org/10.2307/2529310>, <https://159>.
- [27] Tv.O. Hansen, M.K. Simonsen, F.C. Nielsen, Y. Andersen Hundrup, Collection of blood, saliva, and buccal cell samples in a pilot study on the danish nurse cohort: comparison of the response rate and quality of genomic DNA, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 16 (2007) 2072–2076, doi:<http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0611>.
- [28] N.L. Rogers, S.A. Cole, H.-C. Lan, A. Crossa, E.W. Demerath, New saliva DNA collection method compared to buccal cell collection techniques for epidemiological studies, *Am. J. Hum. Biol.* 19 (2007) 319–326, doi:<http://dx.doi.org/10.1002/ajhb.20586>.
- [29] Y. Hu, E.A. Ehli, K. Nelson, K. Bohlen, C. Lynch, P. Huizenga, J. Kittlesrud, T.J. Soundy, G.E. Davies, Genotyping performance between saliva and blood-derived genomic DNAs on the DMET array: a comparison, *PLoS One* 7 (2012) 0033968, doi:<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0033968>.

Titre : Influence de polymorphismes génétiques sur le sommeil et l'efficacité de la caféine.

Mots clés : polymorphismes génétiques, troubles du sommeil, privation de sommeil, caféine, adénosine, cytokine

Résumé : De nombreux emplois imposent du travail de nuit ou à des périodes d'éveil prolongé qui ont des conséquences délétères sur la qualité de vie et les performances. La caféine est la contre-mesure nutritionnelle éveillante la plus utilisée pour limiter ses effets. Cependant, il existe une grande variabilité interindividuelle des effets de la caféine sur le sommeil et la performance en privation de sommeil. Celle-ci pourrait en partie être liée à des polymorphismes génétiques.

L'objectif de ce travail est de déterminer l'influence de polymorphismes génétiques associés à la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de la caféine sur la durée de sommeil, les troubles du sommeil et à la dégradation des performances au cours d'une privation totale de sommeil.

Deux études ont été réalisées : (i) sur l'influence de 15 polymorphismes génétiques d'un seul nucléotide (SNPs) sur les paramètres du sommeil et la consommation de caféine par questionnaire sur une population française (n=1023) ; (ii) en laboratoire, sur l'influence de 5 SNPs sur les performances cognitive et physique chez 41 sujets privés de sommeil recevant de la caféine ou un placebo.

Nos résultats montrent l'influence des polymorphismes de la cytokine pro-inflammatoire (TNF- α) et du récepteur à l'adénosine A2A (gène : ADORA2A) sur le risque de troubles du sommeil, la durée du sommeil, sur la dégradation des performances en situation de privation de sommeil, et sur l'efficacité de la caféine.

En conclusion, nos résultats soulignent que (i) l'influence des polymorphismes d'ADORA2A sur le temps total de sommeil et/ou le risque de troubles du sommeil s'efface dès que la consommation de caféine dépasse 50 mg par jour et que (ii) la prise aiguë de caféine en situation de privation de sommeil module l'influence du polymorphisme de TNF- α sur l'altération de la performance cognitive, notamment l'attention soutenue.

Ces résultats pourront être utilisés au profit des personnels travaillant de nuit, ou des sportifs dans des situations de dette de sommeil afin d'individualiser et d'optimiser les stratégies de consommation de caféine dans le but de limiter les dégradations des performances induites par la dette de sommeil.

Title: Influence of genetic polymorphisms on sleep and caffeine efficiency.

Keywords: genetics polymorphisms, sleep disorders, sleep deprivation, caffeine, adenosine, cytokine

Abstract: Several professions enforce to work at night or prolonged wakefulness resulting in deleterious consequences on the quality of life and performances. Caffeine is the most widely used nutritional countermeasure to counteract these effects. However, there is a large interindividual variability to caffeine effects on sleep and the degraded performance during sleep deprivation. This variability could be linked to genetic polymorphisms.

The aim of this work is to determine the influence of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with pharmacokinetics and pharmacodynamics of caffeine, on total sleep time, sleep disorders, and degraded performances during total sleep deprivation.

Two studies were carried out on: (i) the influence of 15 single nucleotide polymorphisms (SNPs) on sleep parameters and caffeine consumption which were self-reported in a questionnaire, in a French population (n=1023); (ii) in a laboratory, on the influence of 5 SNPs on cognitive and physical performances in 41 sleep-deprived healthy subjects supplemented with caffeine or placebo.

Our results highlight the influence of polymorphisms of the pro-inflammatory cytokine (TNF- α) and the adenosine A2A receptor (gene, ADORA2A) on the risk of sleep disorders, on the degraded performance induced by sleep deprivation, and on the efficiency of caffeine.

In conclusion, our results indicate that (i) influence of ADORA2A polymorphism on total sleep time and/or sleep disorders is dependent on caffeine consumption, and that (ii) acute caffeine intake during total sleep deprivation modulated the TNF- α influence on the cognitive performance degradation and particularly on sustained attention.

These results could be used for the benefit of the Forces in order to individualize and optimize caffeine consumption strategies in order to limit the degradation of performances induced by sleep debt.