



HAL
open science

Caractérisation de la réponse cérébrale à la douleur et ses modulations

Florence Pomares Borgetto

► **To cite this version:**

Florence Pomares Borgetto. Caractérisation de la réponse cérébrale à la douleur et ses modulations. Neurosciences. Université Claude Bernard - Lyon I, 2011. Français. NNT : . tel-00671420

HAL Id: tel-00671420

<https://theses.hal.science/tel-00671420>

Submitted on 17 Feb 2012

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.



THÈSE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par
L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1

École doctorale Neurosciences et Cognition

DIPLÔME DE DOCTORAT, mention Neurosciences
(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 9 Décembre 2011

par
Florence BORGETTO POMARES

Caractérisation de la réponse cérébrale à la douleur et ses modulations

JURY

- Rapporteur : Léon PLAGKHI (MD, PhD) – Université de Louvain
Rapporteur : Ron KUPERS (PhD) – Panum Institute, Copenhagen
Examineur : Michel MAGNIN (PhD) – ICD Inserm U1028
Examineur : François MAUGUIÈRE (MD, PhD) – Université Lyon 1
Directeur de thèse : Roland PEYRON (MD, PhD) – ICD Inserm U1028, CHU Saint-Etienne

A mes parents, à Jonathan

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier toutes les personnes qui ont initié les différents travaux qui sont présentés dans cette thèse : Valéry Legrain pour avoir réalisé les acquisitions de l'étude sur l'émotion, Sébastien Bassard et Fatah Torche pour avoir réalisé l'étude comportementale préliminaire de l'influence de la perception du temps sur la douleur (ou « horloge trafiquée ») et plus particulièrement Alice Martin (de Fréminville) pour le travail fourni sur les acquisitions « IRM rapide » et pour m'avoir passé le relais sur cette étude.

Je tiens à remercier tous les volontaires pour avoir accepté de participer et pour leur curiosité par rapport aux expériences ; ainsi que les équipes de l'IRMAS, et en particulier Michel Paret et Pascal Mariani, pour leur adaptation à l'installation parfois compliquée des manips et leurs conseils avisés.

Je remercie Christelle Créac'h et Philippe Convers pour leurs conseils et leur aide ponctuelle mais importante tout au long de cette thèse.

Merci à Monsieur Bernard Laurent pour m'avoir permis le financement et suivi le cours de ma thèse, toujours avec intérêt.

Merci à Monsieur Luis Garcia-Larrea, qui est un directeur d'unité qui tire les gens vers le haut et les encourage, dont les compétences servent l'intérêt de chacun des membres de l'équipe et sans qui l'équipe ne serait pas là où elle en est maintenant. Je remercie également tous les autres membres pour leurs discussions lors des réunions.

Je remercie Messieurs Ron Kupers et Léon Plaghki, ainsi que Messieurs Michel Magnin et François Mauguère pour avoir accepté de juger mon travail et de faire partie du jury.

Un grand merci à Isabelle Faillenot pour son aide technique et méthodologique indispensable, pour ses encouragements, pour tout ce qu'elle m'a appris ainsi que ses bons conseils scientifiques.

Enfin je tiens à remercier mon directeur de thèse, Roland Peyron pour m'avoir offert l'opportunité de travailler ensemble, pour avoir dirigé cette thèse avec patience et disponibilité, pour avoir facilité beaucoup de choses, pour m'avoir apporté un grand nombre de connaissances et pour les opportunités futures qui se dessinent.

Merci aussi à Estelle Raffin, pour tout ce que l'on a partagé, tant au niveau de la thèse qu'au niveau personnel.

Bien sûr je n'oublie pas mes parents sans qui je ne serai pas arrivée là où j'en suis aujourd'hui, mes frères qui ont pu mettre leur grain de sel dans ma thèse et Jonathan, sans qui je n'aurai pas pu faire tout ce chemin tant en kilomètres qu'en épanouissement, merci pour avoir toujours été présent et attentif.

Characterization of cerebral response to pain and its modulations

Intégration Centrale de la Douleur chez l'Homme

Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (U1028)

Service de Neurologie, Hôpital Nord,

Avenue Albert Raimond,

42055 Saint-Etienne cedex 2



Abstract

Pain is a complex and multidimensional experience that can be modulated by many factors. In order to better understand the respective role and function of the brain regions involved in the processing and the modulation of pain perception, the first part of this thesis focuses on the evaluation with functional magnetic resonance imaging (fMRI) of changes in the brain response to pain through two modulations of pain perception. The first study examines the effect of a negative emotional context on pain perception in order to dissociate the brain areas responding to pain from that related to the emotional context. The second study focuses on the effect of the manipulation of perceived duration of a painful stimulation on the perception of pain. The use of this illusion allows us to change the perceived intensity of pain and to assess the brain areas involved in this type of modulation at given intensity of thermal stimulation. We succeeded to increase or decrease perceived pain intensity and we observed that emotion involves pregenual part of the anterior cingulate cortex, while the illusion of a shortened duration involves an occipito-parietal attentional network. The second part of this thesis focuses on characterizing the time course of the hemodynamic response recorded with fMRI in two important areas processing pain that are the insula and the cingulate cortex. Painful sensation is characterized by a shortened latency of hemodynamic response compared to a non-painful sensation in the anterior insula and the midcingulate cortex, while it is possible to differentiate painful and non-painful sensation by the amplitude of the hemodynamic response in the posterior insula.

Key-words

pain; functional MRI; hemodynamic response; modulation; emotion; illusion

Résumé

La douleur est une expérience complexe et multidimensionnelle, elle peut donc être modulée par de nombreux facteurs. Dans le but de mieux comprendre le rôle et le fonctionnement respectif des régions cérébrales impliquées dans le traitement et la modulation de la perception douloureuse, la première partie de cette thèse s'intéresse à l'évaluation en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (fMRI) des modifications de la réponse cérébrale à la douleur grâce à deux modulations de la perception douloureuse. La première étude s'intéresse à l'effet d'un contexte émotionnel négatif sur la perception douloureuse afin de dissocier des aires cérébrales répondant à la douleur, les réponses liées à la composante émotionnelle. La deuxième étude s'intéresse à l'effet d'une manipulation de l'appréciation de la durée d'une stimulation douloureuse sur la perception de la douleur. L'utilisation de cette illusion permet, pour une intensité de stimulation thermique donnée, de modifier la perception douloureuse et d'évaluer les zones cérébrales impliquées dans ce type de modulation. Nous avons réussi à augmenter ou diminuer la douleur perçue et pu observer que l'émotion met en jeu la partie pré-génuaire du cortex cingulaire antérieur, tandis que l'illusion d'une durée raccourcie met en jeu un réseau occipito-pariétal plus attentionnel. La seconde partie de cette thèse s'intéresse à la caractérisation du déroulement temporel de la réponse hémodynamique enregistrée en fMRI dans deux régions importantes pour le traitement de l'information douloureuse qui sont l'insula et le cortex cingulaire. La douleur est caractérisée par une latence de la réponse hémodynamique plus courte, par rapport à une stimulation non-douloureuse, dans l'insula antérieure et le cortex cingulaire moyen, tandis qu'il est possible de différencier une stimulation douloureuse d'une stimulation non-douloureuse grâce à l'amplitude de la réponse hémodynamique dans l'insula postérieure.

Mots-clés

douleur ; IRM fonctionnelle ; réponse hémodynamique ; modulation ; émotion ; illusion

Table des matières

Chapitre 1 – Introduction	19
Chapitre 2 – Rappels.....	23
2.1 Neurophysiologie de la douleur	23
2.1.1 Les récepteurs, la moelle épinière, les voies et l'arrivée au cortex	23
2.1.2 Le traitement cortical de la douleur.....	26
2.1.3 Le rôle particulier de S2 et de l'insula dans la douleur	28
2.2 Les réponses cérébrales à la douleur	31
2.2.1 La réponse électrophysiologique	31
2.2.2 La réponse hémodynamique.....	32
2.3 Modulations de la douleur	35
2.4 Méthodologie	42
2.4.1 Les différents types de stimulations nociceptives utilisées	42
2.4.2 Les potentiels évoqués et l'EEG	43
2.4.3 L'IRM fonctionnelle	43
2.4.4 Le traitement des images fonctionnelles	45
2.4.5 Les logiciels alternatifs pour estimer la HR	48
2.4.6 L'analyse de connectivité effective	50
2.4.7 L'analyse en composantes indépendantes	52
2.4.8 La connectivité fonctionnelle entre réseaux.....	53
Chapitre 3 – Modulations de la douleur.....	57
3.1 Influence des émotions négatives sur la perception de la douleur	57
3.1.1 Résumé.....	57
3.1.2 Article étude n°1	58
3.1.3 Analyse complémentaire : étude n°1.....	69
3.2 Effet d'un leurre de la durée de stimulation : étude psychophysique ...	72
3.2.1 Résumé.....	72
3.2.2 Article étude n°2 : psychophysique.....	73

3.3	Peut-on modifier la perception de la douleur en modifiant la perception de la durée de stimulation ? Étude fMRI.....	83
3.3.1	Résumé.....	83
3.3.2	Article étude n°2 : fMRI.....	84
3.3.3	Analyse complémentaire : étude n°2.....	98
Chapitre 4 – Caractérisation de la réponse BOLD à la douleur		107
4.1	Caractérisation de la réponse hémodynamique à des stimuli laser douloureux ou non douloureux.....	109
4.1.1	Résumé.....	109
4.1.2	Article étude n°3.....	110
4.1.3	Figure complémentaire.....	126
Chapitre 5 – Discussion		129
5.1	Les modulations et la connectivité effective	129
5.2	La réponse hémodynamique à la douleur	131
5.3	Perspectives	134
Bibliographie		137
Annexes		153
7.1	Annexe 1 – Epreuve article publié dans PAIN	154
7.2	Annexe 3 – Résultats analyse random GLM.....	161

Index des figures et des tables

	page
Chapitre 1 – Introduction	
Chapitre 2 – Rappels	
Neurophysiologie de la douleur	
Figure 1 : <i>Organisation fonctionnelle des voies de la nociception</i>	25
Figure 2 : <i>La « matrice douleur »</i>	26
Figure 3 : <i>Anatomie et subdivisions de l'insula et de S2 chez l'homme</i>	30
Réponses cérébrales à la douleur	
Figure 4 : <i>Potentiels évoqués laser</i>	31
Figure 5 : <i>Réponse hémodynamique</i>	32
Modulations de la douleur	
Figure 6 : <i>Représentation des émotions sur le cortex cingulaire</i>	40
Méthodologie	
Figure 7 : <i>Le thermotest</i>	42
Figure 8 : <i>Le laser Nd:YAP</i>	42
Figure 9 : <i>Casque d'EEG</i>	43
Figure 10 : <i>Le scanner IRM 3T</i>	44
Figure 11 : <i>Le voxel</i>	44
Figure 12 : <i>Séquence de pré-traitements et traitements de données de fMRI dans SPM</i>	46
Figure 13 : <i>Réponse Hémodynamique (signal BOLD)</i>	49
Figure 14 : <i>Décomposition du signal observé en deux sources indépendantes</i>	53
Figure 15 : <i>Test de la corrélation entre les composants et le paradigme</i>	53
Chapitre 3 – Modulations de la douleur	
Influence des émotions négatives sur la perception de la douleur	
Suppl. table 1 : <i>List of IAPS images</i>	62
Figure 1 : <i>Experimental design</i>	62
Figure 2 : <i>Effect of emotion and thermal stimulation on intensity ratings</i>	64
Figure 3 : <i>BOLD signal changes during image presentation</i>	65
Table 1 : <i>Coordinates of activation peaks during visual stimulation</i>	65
Figure 4 : <i>BOLD signal changes during thermal stimulation</i>	65
Table 2 : <i>Coordinates of activation peaks during thermal stimulation</i>	66
Table 3 : <i>Coordinates of activation peaks for parametric modulations during thermal stimulation</i>	66
Figure 5 : <i>Structure de base des modèles</i>	70
Figure 6 : <i>Comparaison des différents modèles par BMS (DCM8)</i>	70
Figure 7 : <i>Meilleur modèle moyen (BMA)</i>	71

Effet d'un leurre de la durée de stimulation : étude psychophysique	
Figure 1 : Experimental design	77
Figure 2 : Main study and complementary study mean pain ratings	78
Peut-on modifier la perception de la douleur en modifiant la perception de la durée de stimulation ? Étude fMRI	
Figure 1 : Experimental design	87
Figure 2 : Independent component 20 showing an effect of stimulation intensity	91
Figure 3 : Independent component 30 showing an effect of stimulation intensity	92
Figure 4 : Independent component 27 showing an effect of stimulation intensity	92
Figure 5 : Independent component 23 showing an effect of duration illusion	93
Figure 6 : Independent component 29 showing an effect of duration illusion and stimulation intensity	93
Figure 7 : Independent components 10 and 13 activation maps	94
Figure 8 : Functional network connectivity	94
Table 1 : FNC correlation and lag values	95
Figure 9 : VOIs individuels pris en compte dans l'analyse DCM	99
Figure 10 : Construction des modèles	100
Figure 11 : Sélection du meilleur modèle par BMS (DCM10)	102
Figure 12 : Meilleur modèle moyen (BMA)	103

Chapitre 4 – Caractérisation de la réponse BOLD à la douleur

Caractérisation de la réponse hémodynamique à des stimuli laser douloureux ou non-douloureux

Figure 1 : Acquisition field of one representative subject	113
Figure 2 : Psychophysical results	116
Figure 3 : Shape and differences in Latency of BOLD response in the insula	117
Figure 4 : Shape and differences in Latency of BOLD response in aMCC	118
Figure 5 : Differences in amplitude of BOLD responses	119
Figure 6 : Correlation between latencies and anterior-posterior position	120
Figure 7 : Map of latency differences	120
Table 1 : Coordinates in MNI space of activation peaks for canonical HRF	121
Table 2 : Median latencies in seconds	121
Suppl. figure : Random-effects activation maps	126

Chapitre 5 – Caractérisation de la réponse BOLD à la douleur

Les modulations et la connectivité effective

La réponse hémodynamique à la douleur

Figure résumé : Double dissociation dans le cortex insulaire	132
---	-----

Liste des abréviations

AAL	Automatic Anatomic Labeling
AC-PC	Anterior Commisure – Posterior Commissure
BA	Brodman Area
BMA	Bayesian Model Averaging
BMS	Bayesian Model Selection
BOLD	Blood-Oxygen Level Dependent
can	canonical
CBF	Cerebral Blood Flow
CHEPS	Contact-heat evoked potential stimulator
DCM	Dynamic Causal Modeling
df	degree of freedom
dHb	deoxygenated Hemoglobin
dt	temporal derivative
EEG	Electro-Encephalo-Graphy
EPI	Echo-Planar Imaging
FDR	False Discovery Rate
FFX	Fixed-effects
FIR	Finite Impulse Response
fMRI	functional Magnetic Resonance Imaging
FNC	Functional Network Connectivity
FoV	Field of View
FWE	Family Wise Error
FWHM	Full-Width at Half-Maximum
GIFT	Group ICA of fMRI Toolbox
GLM	General Linear Model
Hb	Hemoglobin
HRF	Hemodynamic Response Function
IAPS	International Affective Picture System
IASP	International Association for the Study of Pain
IC	Independent Component
ICA	Independent Component Analysis
LEP	Laser Evoked Potential
MDL	Minimum Description Length
MNI	Montréal Neurological Institute
Nd:YAP	Neodyme:Yttrium-Aluminium-Perovskite
PCA	Principal Component Analysis
PPI	Psycho-Physiological Interaction
RFX	Random-effects
ROI	Region of Interest
SNR	Signal to Noise Ratio
SPM	Statistical Parametric Mapping
T	Tesla
TC	Time Course
TE	Echo Time
TTP	Time-to-Peak
TR	Repetition Time
VAS	Visual Analog Scale
VOI	Volume Of Interest
WDR	Wide Dynamic Range

Régions cérébrales

DLPF	DorsoLateral PreFrontal cortex
Fmid	middle Frontal cortex
M1	primary Motor cortex
NA	Nucleus Accumbens
PAG	PeriAqueductal Gray matter
PreCG	PreCentral Gyrus
PostCG	PostCentral Gyrus
S1	primary Somesthetic area
S2	secondary Somesthetic area
SMA	Supplementary Motor Area
Thal	Thalamus
VMpo	Ventral Medial posterior thalamic nucleus
VPL	Ventral Posterior Lateral nucleus
VPI	Ventral Posterior Inferior nucleus
VPM	Ventral Posterior Medial nucleus

Cortex cingulaire

sACC	subgenual Anterior Cingulate Cortex
pACC	pregenual Anterior Cingulate Cortex
aMCC	anterior Middle Cingulate Cortex
pMCC	posterior Middle Cingulate Cortex
dPCC	dorsal Posterior Cingulate Cortex
vPCC	ventral Posterior Cingulate Cortex

Insula/S2

AIC	Anterior Insular Cortex
ASG	Anterior Short Gyrus
Id	dysgranular Insula (Id1)
Ig	granular Insula (Ig1 & Ig2)
INS-c	contralateral INSula
INS-i	ipsilateral INSula
MSG	Middle Short Gyrus
OP	Parietal Operculum (OP1, OP2, OP3 & OP4)
PIC	Posterior Insular Cortex

Chapitre 1

Introduction

Chapitre 1 – Introduction

La douleur est une expérience que presque tout le monde connaît, dont le ressenti est propre à chacun. Elle est définie par l'IASP (*International Association for the Study of Pain*) comme une « expérience sensorielle et émotionnelle désagréable liée à des lésions tissulaires réelles ou potentielles, ou décrite en des termes évoquant de telles lésions ». Cette expérience peut être modulée par de nombreux facteurs, et sa description peut impliquer une immense variété d'adjectifs. C'est donc l'association de facteurs physiologiques et psychologiques qui permet de moduler la sensation douloureuse. La nociception quant à elle, est le processus sensoriel à l'origine du message nerveux qui provoque la douleur. Les voies nerveuses conduisant l'information nociceptive sont bien connues et vont être rappelées brièvement (voir **Rappels 2.1**).

Au niveau cérébral, l'imagerie fonctionnelle a permis d'identifier peu à peu les régions impliquées dans le traitement cérébral de la douleur. Dans les années 1990, ont été trouvées chez l'homme des régions qui s'activaient (c'est-à-dire dont l'activité neuronale était plus intense) lors de l'application de stimulations douloureuses. D'abord grâce à l'imagerie par émission de positron (PET), des régions telles que le cortex cingulaire antérieur et moyen, le thalamus et le noyau lenticulaire ainsi que les aires somato-sensorielles primaires et secondaires (S1 et S2) ont été identifiées comme activées spécifiquement par des stimuli douloureux mais n'étaient pas activées par des stimulations non-douloureuses (Jones et al., 1991 ; Talbot et al., 1991).

Plus tard, l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (fMRI) a permis de mettre en évidence un ensemble d'aires cérébrales, parmi lesquelles l'insula, le cortex préfrontal et pariétal postérieur se rajoutent aux aires précédentes, activés de manière consistante par différents types de stimulations douloureuses (pour revue : Apkarian et al., 2005 ; Peyron et al., 2000). L'ensemble de ces régions constitue la « matrice douleur » dont il convient de déterminer le rôle des sous-unités fonctionnelles dans le traitement de l'information douloureuse. La modulation de l'activation des régions comprises dans ce réseau d'aires cérébrales est une voie d'investigation permettant de mieux comprendre la fonction de chacune de ces régions (Bingel et Tracey, 2008 ; Tracey et Mantyh, 2007).

De nos jours, la définition précise du réseau appelé « matrice douleur » (c'est-à-dire l'inclusion ou non de telle ou telle région), mais aussi la façon d'évaluer l'influence d'une modulation sur le traitement de l'information douloureuse, sont sujet à controverses. De même qu'il est important de bien définir ce que l'on observe, il est important de prendre en compte les différentes dimensions de la réponse cérébrale à la douleur qui est recueillie. En effet, la réponse cérébrale à la douleur a différents aspects : intensité, forme, délai, localisation... cette dernière

n'est pas unique car il s'agit d'un ensemble d'aires qui répondent à la douleur de manière plus ou moins simultanée.

L'objectif de cette thèse est donc d'étudier la réponse cérébrale à la douleur à l'aide du fMRI en prenant deux perspectives différentes. Dans un premier temps, nous allons nous intéresser au rôle respectif des différentes régions du cerveau dans la perception de la douleur grâce à des modulations cognitives de l'expérience douloureuse perçue. Deux études nous permettront d'appréhender deux exemples différents de modulation de la perception douloureuse et de voir comment est modulée l'activité de ces régions cérébrales par ces facteurs. La première étude porte sur l'effet d'un contexte émotionnel et la deuxième étude porte sur l'influence de la perception de la durée d'une stimulation.

Parallèlement, étant donné que les études fMRI utilisent un modèle de réponse cérébrale (dite hémodynamique) commun à tout les stimuli, il convient de vérifier que la réponse à un stimulus douloureux est conforme au modèle et d'étudier les variations de cette réponse hémodynamique en fonction des régions anatomiques et en fonction du caractère douloureux ou non du stimulus. Les aspects dynamique temporelle et spatial sont importants dans la perspective de proposer un modèle de réseau d'aires cérébrales impliquées dans la perception de la douleur et de mieux connaître la façon dont ces régions interagissent.

Chapitre 2

Rappels

Chapitre 2 – Rappels

2.1 Neurophysiologie de la douleur

2.1.1 Les récepteurs, la moelle épinière, les voies et l'arrivée au cortex

Les récepteurs à la douleur sont appelés nocicepteurs, ce sont des terminaisons libres situées dans les tissus à la périphérie (il n'y a pas de nocicepteur dans le cerveau). Il existe différents types de nocicepteurs déclenchant un potentiel d'action dans des neurones dont le corps cellulaire est dans le ganglion spinal qui se situe sur la racine dorsale de la moelle épinière. Il existe des nocicepteurs mécaniques purs et des nocicepteurs mécaniques et thermiques : les nocicepteurs de type 1 répondent à des températures supérieures à 50°C et ceux de type 2 répondent à des températures supérieures à 43°C, certains répondent aussi au froid, pour des températures inférieures à 5°C. Il existe également des nocicepteurs polymodaux répondant à des stimulations mécaniques, thermiques ou chimiques et des nocicepteurs silencieux qui ne sont recrutés qu'après une sensibilisation, par exemple lors d'une inflammation. Le message provenant des nocicepteurs mécaniques purs et mécaniques et thermiques est transmis vers la moelle épinière via des fibres nerveuses de type A δ , de moyen calibre et faiblement myélinisées ayant une vitesse de conduction de 5 à 30 m/s (Basbaum et Jessell, 2000 ; Hensel et Kenshalo, 1969 ; Peyron, 2007). Le message envoyé par les nocicepteurs polymodaux et silencieux passe par des fibres nerveuses C, de petit calibre et non myélinisées ayant une vitesse de conduction inférieure à 2 m/s. L'activation des fibres A δ est responsable d'une perception douloureuse aiguë, localisée, comme une piqûre brève que l'on désigne sous le terme de douleur rapide (primaire) tandis que celle des fibres C est responsable d'une perception retardée, plus diffuse, à tendance extensive, comme une brûlure que l'on désigne sous le terme de douleur lente ou tardive (secondaire).

Les nocicepteurs afférents primaires se terminent dans la corne dorsale de la moelle épinière : les nocicepteurs transmettant des informations mécaniques et thermiques arrivent dans les couches I et II. Les fibres A δ arrivent dans les couches I et V. Les fibres C dans la couche II. Ensuite il est possible de distinguer trois types de neurones relais qui naissent dans la corne dorsale de la moelle épinière : les neurones nociceptifs spécifiques principalement localisés dans la couche I, activés seulement par des stimulations mécaniques ou thermiques nocives ; les neurones nociceptifs non spécifiques qui répondent aussi bien à des stimuli mécaniques non nociceptifs qu'à des stimuli mécaniques ou thermiques nocifs mais ne pouvant pas coder la modalité. Ce sont les neurones *wide dynamic range* (WDR) localisés principalement dans la couche V, mais aussi dans les couches plus superficielles et enfin une population de découverte plus récente, localisée dans la couche I, recevant les afférences A δ et C et codant graduellement et spécifiquement la

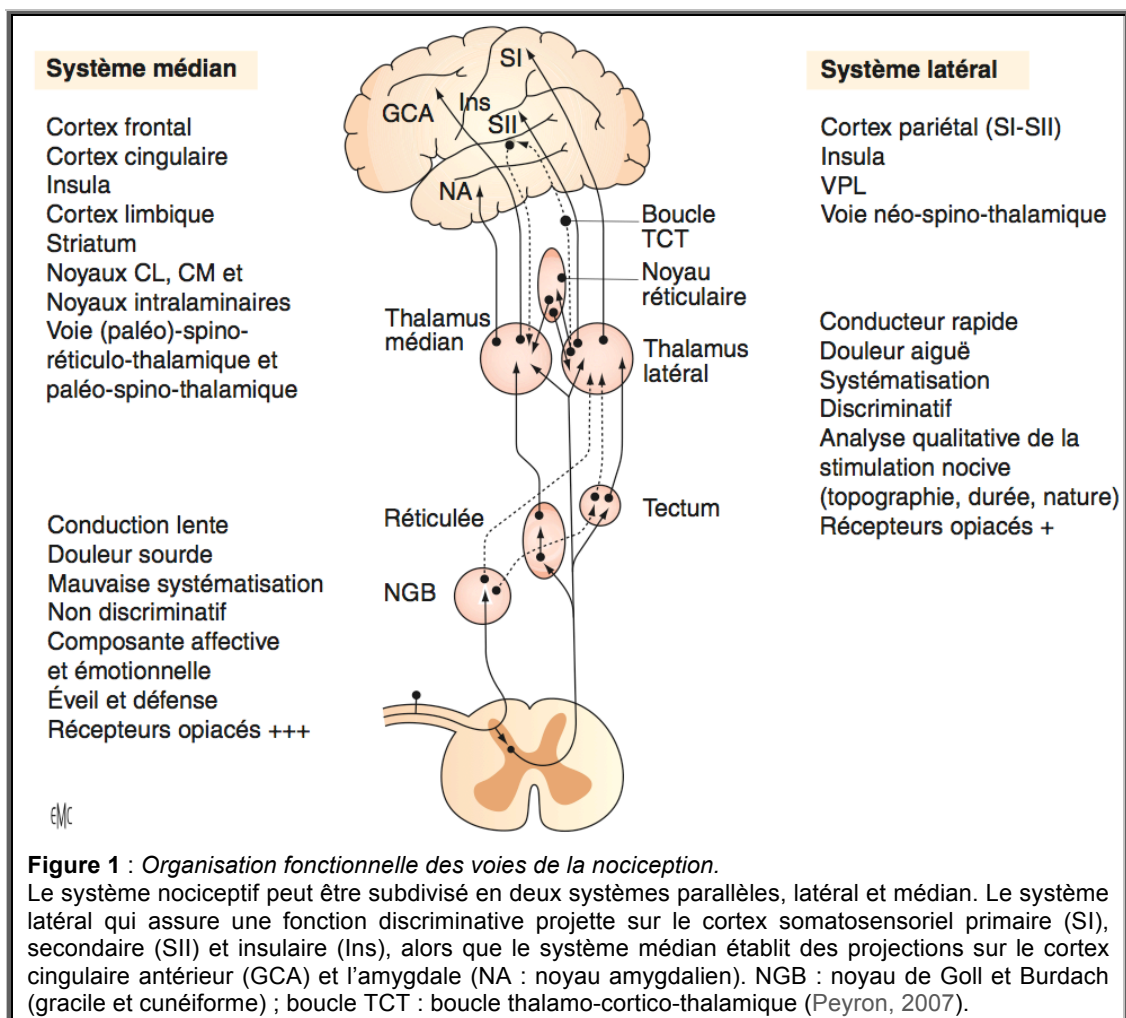
sensation de froid et de douleur au froid.

Il existe trois principales voies conduisant l'information nociceptive de la moelle épinière jusqu'au cerveau (Millan, 1999). Le faisceau spinothalamique est le plus important, il comprend les axones des neurones nociceptifs spécifiques et WDR provenant des couches I et IV à VIII. Ces axones croisent la ligne médiane dans la commissure antérieure de la moelle pour rejoindre la partie ventrolatérale de la substance blanche médullaire et arriver soit au thalamus latéral, soit aux noyaux médians du thalamus. Cette voie véhicule une information somatotopique et jouerait un rôle dans les aspects sensori-discriminatifs et affectifs de la douleur. Le faisceau spinoréticulaire comprend les axones des neurones principalement nociceptifs et des couches VII et VIII (Willis et Westlund, 1997). Les axones de ces cellules projettent sur la formation réticulée et le thalamus médian. Les projections de la voie spinoréticulaire ne sont pas organisées de façon somatotopique et permettraient d'alerter le système nerveux central sur la stimulation nociceptive. Le faisceau spinomésencéphalique comprend les axones provenant des couches I et V et projette dans la substance réticulée mésencéphalique et la substance grise péri-aqueducule (PAG) et jouerait un rôle dans l'aspect affectif de la douleur.

Le thalamus est le principal relais entre la périphérie et le cortex pour les informations douloureuses. Plusieurs noyaux sont impliqués dans la nociception, en particulier les parties médiane et latérale. Les noyaux médians (noyaux central latéral et complexe intralaminaire) reçoivent des informations provenant du faisceau spinothalamique (couches VII et VIII) et spinoréticulaire. De nombreux neurones du thalamus médian répondent de manière optimale à des stimulations nociceptives mais projettent à de nombreuses régions du cortex cérébral impliquées dans le traitement des informations nociceptives mais aussi dans le système d'éveil. Ces régions sont le cortex précentral, cingulaire et frontal, le cervelet, le striatum, l'hypothalamus et le système limbique (Peyron, 2007). Les noyaux latéraux (noyau ventro-postérieur latéral, VPL ; noyau ventro-postérieur médian, VPM ; noyau ventro-postérieur inférieur, VPI) reçoivent des informations provenant du faisceau spinothalamique qui sont principalement nociceptives (couches I et V). Les champs récepteurs de ces neurones sont restreints ce qui permet aux noyaux du thalamus latéral de transmettre principalement des informations sur la localisation. Les neurones du thalamus latéral projettent sur le cortex somesthésique primaire (S1) et secondaire (S2) et permettent l'analyse sensori-discriminative du stimulus nocif (localisation, type et intensité). Le transit du message nociceptif par S1 n'est toutefois pas indispensable puisque des projections s'effectuent directement du thalamus sur l'aire S2 et suffisent à transmettre les informations nociceptives. Des projections directes du thalamus vers un cortex insulaire qui est spécialisé dans l'analyse discriminative de la sensation de froid, y compris pour le froid douloureux, ont récemment été identifiées. Cette voie spécifique au froid, relayée dans la partie

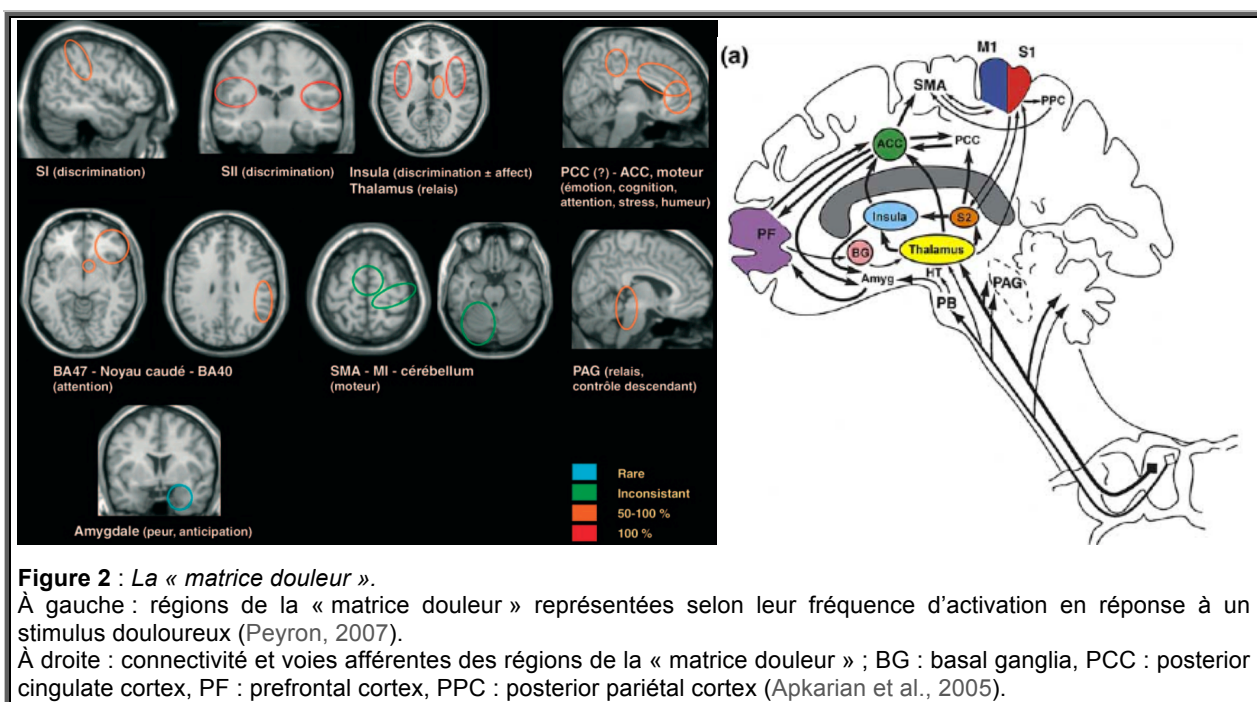
postérieure du noyau ventral médian (VMpo) projette massivement sur le cortex insulaire, à proximité des aires gustatives (Craig, 1995), dans une proportion moindre dans S1 et dans le cortex prémoteur (Peyron, 2007).

L'intégration de la douleur est un processus complexe, qui nécessite une distribution de l'information dans plusieurs régions du cortex cérébral. Comme nous l'avons vu précédemment, il est possible de dissocier le système du traitement de la douleur en un système latéral principalement associé à l'aspect sensori-discriminatif et un système médian principalement associé aux aspects affectif, motivationnel et cognitif. Le système latéral correspond au faisceau spinothalamique dont les neurones projettent du noyau VPL du thalamus vers les cortex S1, S2 et l'insula. Le système médian quant à lui correspond au faisceau spinothalamique dont les neurones projettent des noyaux central latéral et intralaminaire vers les cortex cingulaire antérieur, l'amygdale, l'hippocampe et l'hypothalamus ainsi que les faisceaux spinoréticulaire et spinomésencéphalique. Différents types de paradigmes expérimentaux permettent de mettre en évidence le rôle respectif de ces différentes régions dans le traitement de la douleur et leur implication dans la modulation de la perception douloureuse.



2.1.2 Le traitement cortical de la douleur

Le réseau d'aires cérébrales identifié en imagerie fonctionnelle par une augmentation de son activité en réponse à un stimulus nociceptif est appelé « matrice douleur ». Il comprend les aires S1, le thalamus, le gyrus cingulaire, l'insula, S2, les cortex dorso-latéral pré-frontal (DLPF), pariétal postérieur, moteur primaire (M1), l'aire motrice supplémentaire (SMA), le cervelet et la PAG (Apkarian et al., 2005 ; Peyron et al., 2000 ; Tracey et Mantyh, 2007) (**figure 2**). L'activation de S1 est inconstante et dépend des sommations temporelle et spatiale, plus la stimulation recouvre une grande partie du corps et plus elle dure longtemps, plus l'activation de S1 sera importante. Cette activation de S1 peut également être modulée par l'attention portée au stimulus (Bushnell et al., 1999). Le gyrus cingulaire est activé dans de nombreuses études, la partie moyenne (BA 24) correspondant à la subdivision MCC (cortex cingulaire moyen, Vogt, 2005) est plutôt impliquée dans l'orientation et la préparation motrice ; tandis que la partie plus antérieure (BA 32) correspondant à la subdivision ACC (cortex cingulaire antérieur, Vogt, 2005) est plutôt impliquée dans l'émotion, la cognition et le contrôle de la douleur. L'activation des cortex associatifs tels que le cortex préfrontal dorsolatéral (BA 44-46) et le cortex pariétal postérieur (BA 40) correspond à la localisation et à l'encodage en mémoire de travail du stimulus douloureux. L'activation de M1, de la SMA et du cervelet, correspond à la réponse motrice (évitement) qui accompagne la douleur ou à son inhibition (douleur expérimentale). La PAG a un rôle dans le contrôle inhibiteur descendant de la douleur. L'activation du cortex insulaire et de S2 en réponse à un stimulus douloureux est la plus reproductible, dans certaines circonstances attentionnelles, elle peut être la seule activation observée (Peyron et al., 1999). Ces activations reflètent l'aspect sensori-discriminatif de la douleur.



Ce réseau d'aires cérébrales est utilisé pour construire des modèles de traitement de l'information douloureuse ainsi que pour essayer de comprendre comment les processus nociceptifs cérébraux peuvent contribuer à la douleur chronique. L'activité de ces régions est corrélée à la saillance du stimulus (Baliki et al., 2009 ; Legrain et al., 2010), ces activités correspondraient à des processus liés à la détection de la nouveauté et de la pertinence d'une stimulation. L'équipe de Iannetti (Iannetti et Mouraux, 2010 ; Mouraux et al., 2011) a tenté de démontrer expérimentalement la spécificité de cette neuro-matrice dans la nociception, en utilisant des stimuli de différentes modalités et en regardant les activations cérébrales associées. Cette étude montre que la « matrice douleur » n'est pas activée de manière spécifique par des stimuli douloureux, mais elle est aussi activée par tout un panel de stimulations. Une grande partie de ce réseau est multimodale, car répondant de manière non spécifique à des stimulations visuelles, auditives, tactiles, ou nociceptives. Ces résultats posent donc la question de la pertinence de la manière dont sont utilisés les résultats des études d'imagerie fonctionnelle pour étudier spécifiquement le traitement cérébral de la douleur.

Dans le but d'identifier les régions impliquées spécifiquement dans la douleur, certaines études ont essayé de dissocier les activations dépendant de l'intensité du stimulus de celles de la perception de la douleur. Les régions identifiées dans ces études correspondent aux régions de la « matrice douleur » telles que le cervelet, le putamen, le thalamus, l'insula, l'ACC, S1, S2, la SMA et le cortex prémoteur ventral, dont l'activité est corrélée à l'intensité de la stimulation (Bornhövd et al., 2002 ; Büchel et al., 2002 ; Coghill et al., 1999). En réalité, il est difficile de dissocier les activations dépendantes de l'intensité de celles liées à la perception douloureuse. Mais certaines études, grâce à l'utilisation de différents types de stimulations, douloureuses ou non, ont trouvé dans la « matrice douleur » des régions dont l'activité est corrélée à l'intensité de la douleur perçue, telles que l'ACC ventral postérieur (correspondant à la partie antérieure du MCC [aMCC] décrite dans Vogt, 2005) (Büchel et al., 2002); l'insula antérieure, l'insula postérieure/S2, la partie pré-génuaire de l'ACC (pACC) et l'amygdale (Bornhövd et al., 2002); le gyrus précentral, le gyrus postcentral, l'insula moyenne et le putamen (Oertel et al., 2011). Il est donc important de ne pas recueillir les activations non-spécifiques de la douleur, pour cela il est nécessaire de bien définir les critères d'observation ainsi que contraster les activations liées à la douleur à celles non-spécifiques de la douleur.

D'un autre côté, les études d'électrophysiologie et de lésions ont mis en évidence le rôle important de l'insula et de S2 dans le traitement des informations thermiques et douloureuses (Frot et al., 2007 ; Garcia-Larrea et al., 2010 ; Greenspan et al., 1999 ; Isnard et al., 2011). L'insula antérieure (AIC) est activée par des stimuli douloureux car elle est impliquée dans les aspects cognitifs du traitement de la douleur, tels que l'attention, l'anticipation et l'affect. La partie

postérieure de l'insula (PIC) et S2 sont impliqués dans le traitement des informations sensorimotrices, thermiques et nociceptives. (Brooks et Tracey, 2007 ; Eickhoff et al., 2006a ; Kurth et al., 2010b).

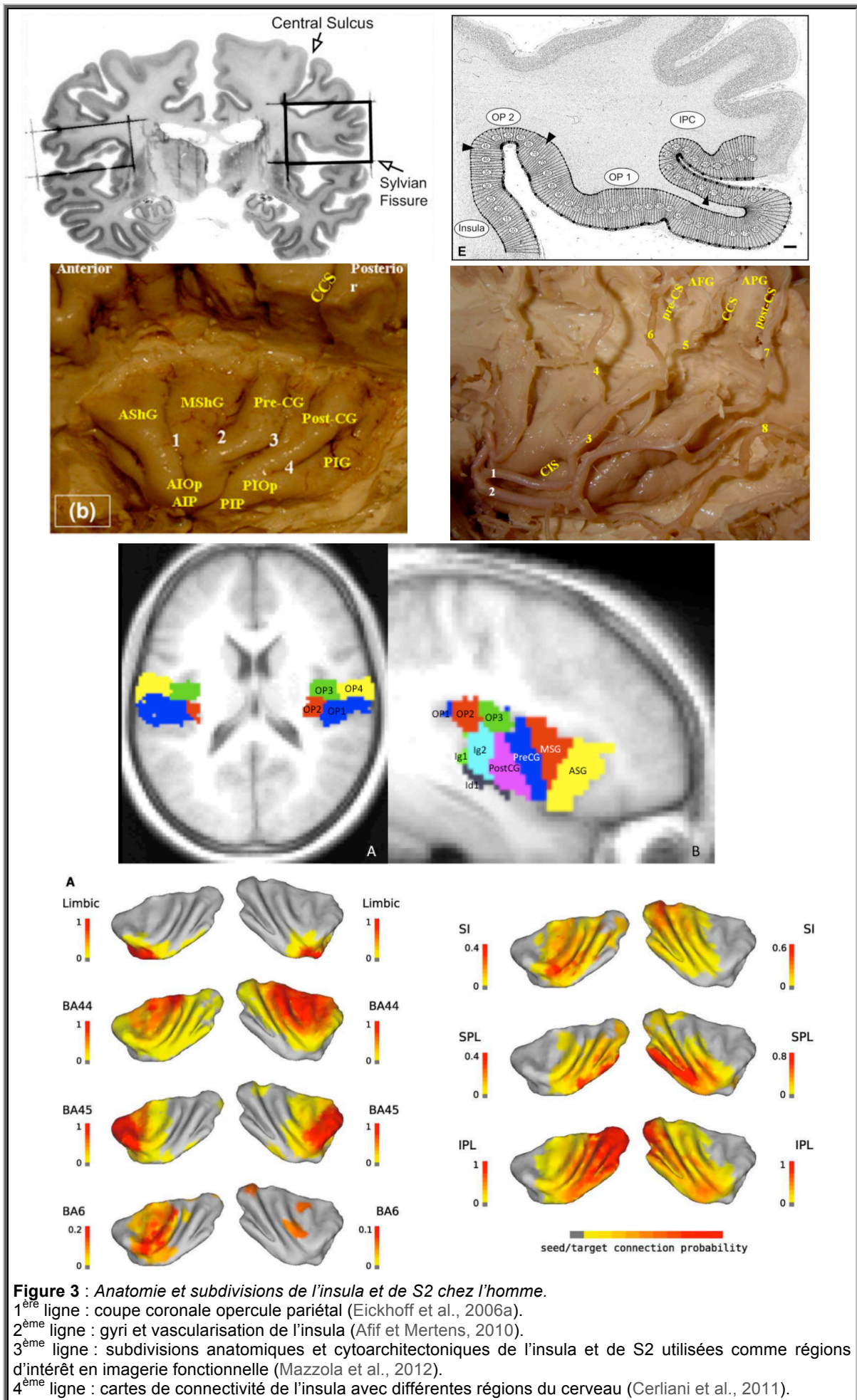
2.1.3 Le rôle particulier de S2 et de l'insula dans la douleur

Le cortex somesthésique secondaire ou S2 est situé dans l'opercule pariétal (OP), il peut être séparé cytoarchitectoniquement en 4 régions : OP1, OP2, OP3 et OP4 qui sont granulaires (c'est-à-dire qui contiennent une grande couche IV, Eickhoff et al., 2006a, 2006b). OP1 et OP4 sont situées dans la partie supérieure de l'opercule pariétal, tandis que OP2 et OP3 sont situées à la limite entre l'opercule pariétal et l'insula (on peut considérer que OP2 et OP3 sont dans l'insula postérieure). OP1 et OP2 se situent dans la partie postérieure et OP3 et OP4 dans la partie antérieure (**figure 3**). S2 est activé par différents types de stimulations somatosensorielles telles que la stimulation électrique, la vibration, le toucher et la douleur. La douleur active spécifiquement OP1, tandis que les stimulations non douloureuses activent la partie plus antérieure (OP4). Il existe une somatotopie dans S2 : la face et la main se situent dans la partie à la jonction entre OP1 et OP4 tandis que le tronc et les jambes sont représentés deux fois : de part et d'autre de la représentation de la face et de la main (Baumgärtner et al., 2010 ; Eickhoff et al., 2007).

L'insula, située dans la partie inférieure et interne du lobe limbique, est une région fondamentale dans la perception de la douleur. C'est un cortex sous le cortex, elle a une forme triangulaire (dans le plan sagittal), elle est délimitée à l'extérieur par le sillon circulaire, le sillon central quand à lui sépare la partie antérieure de la partie postérieure. L'insula antérieure comporte trois gyri : le gyrus court antérieur (ASG), le gyrus court moyen (MSG) et le gyrus pré-central (PreCG) et l'insula postérieure comporte deux gyri longs : antérieur et postérieur. Cytoarchitectoniquement il est possible de différencier trois parties dans l'insula : une partie dysgranulaire (Id1 : insula dysgranulaire 1), une partie granulaire (Ig1 et Ig2 : insula granulaire 1 et 2, contient une couche IV importante qui a un rôle plutôt récepteur des informations sensorielles provenant du thalamus) ; l'insula antérieure est agranulaire (ne contient pas la couche IV, a un rôle plutôt effecteur), on décrit donc ses subdivisions par les trois gyri (Afif et Mertens, 2010 ; Kurth et al., 2010a ; Kurth et al., 2010b) (**figure 3**). Les afférences thalamiques arrivent dans Ig1 (Craig et Zhang, 2006). L'insula est impliquée dans un grand nombre de fonctions, elle est multimodale (Brooks et Tracey, 2007 ; Kurth et al., 2010b) et ces différentes fonctions sont représentées à des endroits préférentiels de l'insula : les aspects cognitifs, tels que l'attention, l'anticipation ou l'affect sont plutôt représentés dans l'insula antérieure dorsale ; la perception chimique dans l'insula médiane ventrale ; les aspects affectifs dans l'insula antérieure ventrale, les aspects

sensori-moteurs et la douleur dans l'insula postérieure, mais cette partie de l'insula est mal représentée dans les études d'imagerie fonctionnelle. Son activité dépend de l'intensité de la stimulation, c'est-à-dire que plus l'intensité de la stimulation est grande, plus l'activité de cette partie de l'insula sera importante. Elle est donc impliquée dans la discrimination d'une stimulation douloureuse. Il existe une zone commune à tous ces aspects, qui est l'insula moyenne et qui correspondrait à l'interoception (perception que l'on a de notre état physiologique et psychologique, selon Craig, 2010). Il existe également une somatotopie dans l'insula, mais qui est moins précise que dans les régions somato-sensorielles primaires (Baumgärtner et al., 2010 ; Brooks et Tracey, 2005 ; Mazzola et al., 2009). Les sensations associées à la face sont plutôt localisées dans la partie antérieure de l'insula postérieure tandis que celles associées à la main (membres supérieurs) et au pied (membres inférieurs) sont plutôt localisées dans la partie postérieure de l'insula postérieure. L'insula est connectée à de nombreuses structures et l'analyse de sa connectivité confirme le rôle fonctionnel des différentes sous-parties de l'insula. La partie antérieure et inférieure est connectée au système limbique, la partie antérieure et supérieure est connectée aux régions impliquées dans le langage (BA 45 et 46) et au cortex cingulaire, la partie moyenne est plutôt connectée à S1 et au cortex prémoteur et enfin la partie postérieure est connectée au cortex pariétal (Cerliani et al., 2011 ; Peltz et al., 2011).

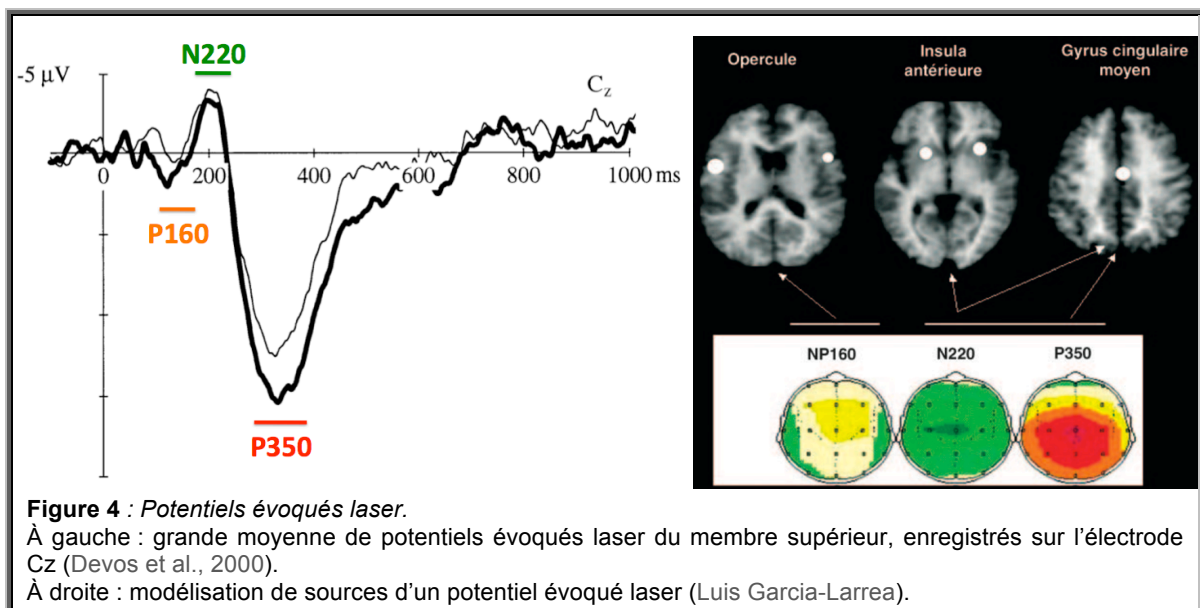
Les « modèles » lésionnels humains confortent le rôle prépondérant de l'insula et de S2 dans la nociception puisqu'une lésion operculo-insulaire entraîne un déficit de la sensation thermique et douloureuse (Garcia-Larrea et al., 2010), observable par une augmentation des seuils sensitifs et nociceptifs et des potentiels évoqués laser altérés. Alors qu'une stimulation des aires sensorielles primaires n'évoque pas de sensation douloureuse, une stimulation directe des régions operculo-insulaires où l'on enregistre des potentiels évoqués nociceptifs ainsi qu'une épilepsie ayant pour origine l'insula postérieure se manifeste par des crises douloureuses pures (Isnard et al., 2011 ; Mazzola et al., 2009 ; Mazzola et al., 2011). Bien que l'expérience douloureuse soit multifocale, l'insula postérieure apparaît cruciale pour déclencher l'activation des autres régions de la « matrice douleur » et faire émerger l'expérience subjective qu'est la perception de la douleur. A l'inverse la stimulation des autres aires cérébrales ne s'accompagne jamais de douleur induite à l'exception de paresthésies dans S1 (Penfield et Faulk, 1955).



2.2 Les réponses cérébrales à la douleur

2.2.1 La réponse électrophysiologique

Les potentiels évoqués laser (LEP) sont le reflet de l'activité électrique enregistrée en réponse à une stimulation laser nociceptive. Les stimulations douloureuses au laser sont très brèves et ont l'avantage de générer une réponse nociceptive sans contact cutané, activant majoritairement les fibres A δ et C (Iannetti et al., 2003 ; Kakigi et al., 2005 ; Treede et al., 2003 ; Truini et al., 2007). La présence des réponses LEPs cérébrales traduit l'intégrité du système spinothalamique, les anomalies de ces réponses traduisant une lésion plus qu'un dysfonctionnement spécifiquement nociceptif. Les réponses électrophysiologiques à la douleur sont bien identifiées et montrent deux réponses électriques consécutives, une première réponse apparaissant à environ 150 ms, provenant des aires operculo-insulaires et une deuxième réponse apparaissant à environ 250 ms, provenant de l'ACC (Bromm et Chen, 1995 ; Frot et Mauguière, 2003 ; Garcia-Larrea et al., 2003 ; Tarkka et Treede, 1993 ; Valeriani et al., 1996) (**figure 4**). Les enregistrements intracérébraux, grâce à leur bonne résolution temporelle et spatiale, montrent qu'il est possible de différencier les réponses à l'intérieur de la région operculo-insulaire (Frot et al., 2007).



La réponse de S2 a un profil différent de celle de l'insula postérieure : tout d'abord la réponse de S2 est plus précoce que celle de l'insula postérieure, ensuite la dynamique de réponse de S2 en fonction de l'intensité de la stimulation est différente. S2 encode l'intensité de la stimulation du seuil de détection au seuil nociceptif et montre une saturation de la réponse au-delà. L'insula postérieure code bien l'intensité douloureuse mais ne détecte pas les stimulations

en dessous du seuil nociceptif. Il en est de même pour les réponses provenant du cortex cingulaire : en plus de la réponse tardive dans l'ACC, il existe une réponse précoce provenant de la partie postérieure du MCC (pMCC) arrivant en même temps que celle de S2. Cette réponse précoce du système médian correspondrait à la partie motrice du cortex cingulaire impliquée dans le retrait du membre soumis à une stimulation douloureuse (Frot et al., 2008). Cela montre que le « système médian » et « latéral » peuvent être impliqués en parallèle, ou bien que la partie postérieure du MCC fait partie non pas du « système médian » mais du « système latéral » du traitement de la douleur, impliqué dans les fonctions sensori-discriminatives et que la partie antérieure de l'ACC fait partie du « système médian » impliqué dans les fonctions cognitives et émotionnelles.

2.2.2 La réponse hémodynamique

Un des objectifs de cette thèse est de caractériser la réponse hémodynamique (HR) à la douleur (**figure 5**), en particulier dans l'insula et le cortex cingulaire, deux régions qui jouent un rôle prépondérant dans le traitement des informations douloureuses. Il est en effet nécessaire de définir les caractéristiques de la HR à la douleur afin d'être capable de reconnaître par rapport à la HR à une même stimulation non-douloureuse celles qui lui sont spécifiques.

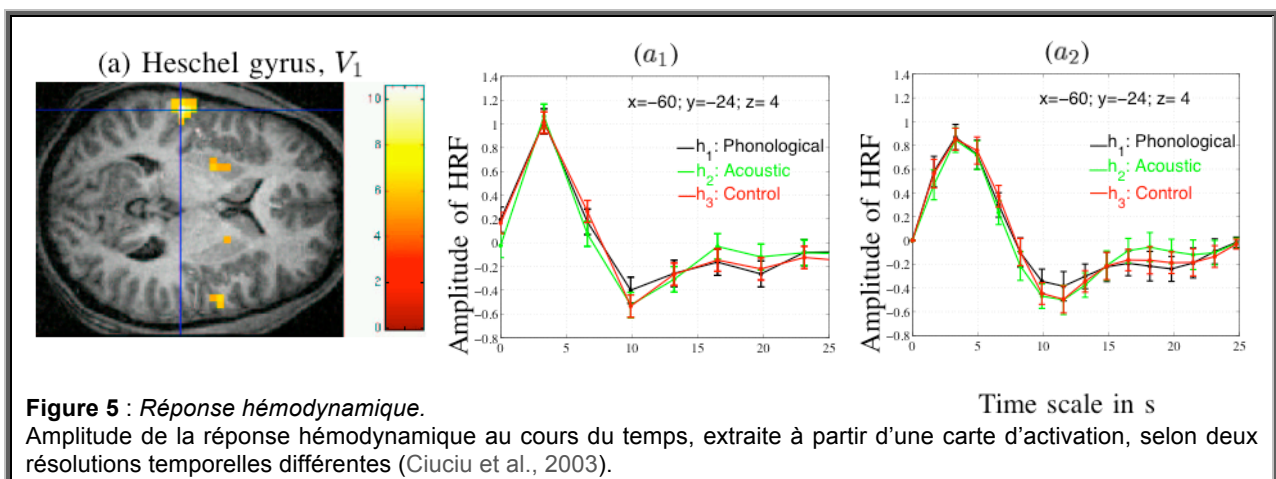


Figure 5 : Réponse hémodynamique.

Amplitude de la réponse hémodynamique au cours du temps, extraite à partir d'une carte d'activation, selon deux résolutions temporelles différentes (Ciuciu et al., 2003).

Plusieurs études ont essayé de caractériser la réponse BOLD (*blood-oxygen level dependent*) à la douleur (voir partie **Méthodologie 2.4.3**). Les premières ont montré que l'amplitude maximale du signal BOLD dans S1 bilatéralement, le cortex intrapariétal et le pMCC était corrélée à l'intensité d'une stimulation laser (Bornhövd et al., 2002 ; Büchel et al., 2002). De la même façon, l'amplitude du signal BOLD dans S1 bilatéralement et le thalamus est corrélée à l'intensité d'une stimulation électrique chez la souris anesthésiée (Bosshard et al., 2010). L'utilisation de stimulations douloureuses longues (16 s) avec une thermode par Moulton et al. (2005), a permis de visualiser

les régions activées par les conditions douloureuses mais pas par les conditions non-douloureuses, telles que S1 controlatéral, la SMA, le gyrus frontal inférieur controlatéral, l'insula postérieure controlatérale et l'ACC rostral. Cette équipe a aussi montré qu'il existe une différence de latence entre la réponse BOLD à une stimulation thermique douloureuse et celle à une stimulation non-douloureuse dans S1, le aMCC et la SMA. La réponse à la douleur atteint son maximum 6 à 8 s après la réponse à une stimulation non-douloureuse, montrant une différence de traitement de l'information nociceptive dans ces régions. En 2009, Becerra et al. ont utilisé une technique d'imagerie optique (*diffuse optical tomography, DOT*) qui consiste à mesurer un changement de concentration en oxyhémoglobine en réponse à une stimulation thermique de 5 s. Grâce à cette technique les auteurs ont identifié la réponse hémodynamique dans S1 ipsi- et controlatéral à un stimulus nociceptif ou non-nociceptif. Cette réponse est principalement précoce lors d'un stimulus non-douloureux (pic à 3-8 s) tandis qu'elle est principalement tardive lors d'un stimulus douloureux (deuxième pic à 10-12 s) et peut être biphasique. Cet aspect biphasique, spécifique de la réponse hémodynamique à la douleur a été retrouvé par la même équipe dans une étude en signal BOLD, dans S1 mais aussi dans d'autres régions de la « matrice douleur » telles que le cervelet, le thalamus, le cortex cingulaire antérieur, S2, le cortex pariétal inférieur, l'insula antérieure et le gyrus frontal moyen (Upadhyay et al., 2010). La principale critique que l'on peut apporter à ces études est que les deux types de stimulations utilisées ne sont pas comparables : une stimulation tactile non-douloureuse (brosse) et une stimulation thermique douloureuse (thermode), qui ne mettent pas en jeu les mêmes fibres nerveuses, ce qui pourrait donc expliquer les différences observées au niveau des activations.

D'autres études se sont appliquées à étudier la réponse BOLD à des stimulations impliquant spécifiquement soit les fibres A δ soit les fibres C. Qiu et al. en 2006 ont montré que la stimulation laser des fibres A δ et C active S2 bilatéralement, l'insula moyenne ipsilatérale et le pMCC controlatéral. Tandis que l'intensité et la latence du signal BOLD sont plus importantes pour les fibres C que pour les fibres A dans l'insula antérieure. De la même manière, cette différence dans l'insula antérieure/opercule frontal a été montrée dans une étude suivante (Weiss et al., 2008). Ces auteurs ont également montré une latence du signal BOLD plus importante pour les fibres C que pour les fibres A δ dans l'insula postérieure/opercule pariétal et l'ACC. Une étude plus récente utilisant quand à elle une stimulation thermique avec un stimulateur CHEP (*contact-heat evoked potential*), permettant de faire des stimulations très courtes (quelques centaines de millisecondes), a montré que l'insula antérieure bilatéralement et l'insula postérieure ipsilatérale sont activées spécifiquement par les fibres A δ car montrant une amplitude de signal BOLD plus importante et une latence plus courte pour les fibres A δ que pour les fibres C (Matre et al., 2010). Le signal BOLD dans ces études ne possède qu'un seul pic et la forme est plutôt similaire entre les

fibres A δ ou C bien que les stimulations soient plus souvent douloureuses pour les fibres A δ que C. Elles montrent qu'il y a une partie commune et une partie spécifique au traitement des informations provenant des fibres A δ et des fibres C, correspondant à la douleur primaire et à la douleur secondaire.

Les résultats de ces études sur le signal BOLD ne sont pas toujours concordants, cela peut être dû au type de stimulation utilisé, ainsi qu'au paradigme, qui ne permet pas toujours une bonne dissociation de la réponse à la stimulation de celle à la cotation de l'intensité douloureuse qui est souvent recueillie immédiatement après. La durée de la stimulation n'est pas toujours adaptée à l'obtention d'une réponse purement sensorielle, sans trop de facteurs cognitifs. Dans ce cadre, l'utilisation de stimulations laser très brèves et uniques (au lieu de trains de stimuli) est importante afin d'identifier et extraire au mieux la réponse BOLD correspondant à l'activation neuronale en réponse à un événement unique, douloureux ou non. Les études précédentes sur l'estimation de la réponse hémodynamique ont montré qu'il est important de pouvoir faire la différence entre la réponse hémodynamique à la douleur et à une stimulation non-douloureuse car ces réponses sont différentes. La HR observée après une stimulation douloureuse comporterait deux pics tandis que celle observée après une stimulation tactile non nociceptive serait plus précoce et ne comporterait qu'un seul pic (Becerra et al., 2009 ; Moulton et al., 2005 ; Upahyay et al., 2010). Avec des stimulations plus brèves, le traitement des informations principalement douloureuses (fibres A δ) serait plus rapide que le traitement des informations principalement non-douloureuses (fibres C) (Matre et al., 2010 ; Qiu et al., 2006 ; Weiss et al., 2008). Il est donc important de pouvoir correctement estimer les latences, qui semblent être la caractéristique importante pour dissocier les informations douloureuses des informations non-douloureuses.

L'objectif du **chapitre 4** est d'observer des différences de latence, d'amplitude et/ou de forme, existant entre la HR à la douleur et à celle d'une stimulation de même type mais non-douloureuse, ce qui n'a encore jamais été fait. L'objectif secondaire étant d'essayer de retrouver en fMRI les différences observées en électrophysiologie entre l'insula et l'ACC, correspondant à la différence de traitement existant entre le système latéral et médian du traitement de la douleur. Il est crucial d'avoir une bonne connaissance des caractéristiques de la réponse hémodynamique et de ses corrélats neuronaux chez le sujet sain dans la perspective de pouvoir effectuer des comparaisons chez des patients souffrant de douleur chronique ou dans des conditions différentes (telle que la prise de médicaments).

2.3 Modulations de la douleur

Afin de mieux comprendre les bases physiologiques du traitement cérébral de la douleur il est important d'étudier comment la modulation de la perception de la douleur peut influencer l'activité des régions impliquées dans le traitement cérébral des informations douloureuses. En effet, l'intensité de la douleur n'est pas toujours associée de façon linéaire à l'intensité de la stimulation nociceptive, il peut donc exister un découplage entre ces deux intensités. De nombreux facteurs extérieurs tels que les émotions et la cognition, l'état psychologique dans lequel se trouve la personne ainsi que le contexte général peuvent aboutir à ce découplage. Bien que les aspects émotionnels et cognitifs pouvant influencer la perception d'une douleur se chevauchent considérablement, les manipulations expérimentales des facteurs cognitifs sont les plus fréquentes dans la littérature. Les études d'imagerie fonctionnelle ont apporté beaucoup de connaissances sur les bases neuronales de la modulation de la douleur, en particulier, de nombreuses études ont porté sur l'effet de l'attention, des attentes, de l'anticipation, de l'hypnose, de la distraction et de l'émotion sur la douleur. Le but de ces études est de savoir 1/ dans quel sens un facteur peut moduler la perception douloureuse, 2/ s'il existe une interaction entre le réseau activé par la douleur et le réseau activé par le facteur en question, s'il existe une région commune modulée par les deux, 3/ ou bien s'il est possible de dissocier complètement le réseau de la douleur de celui du facteur en question (ce sont alors deux processus effectués en parallèle dans le cerveau).

La modulation la plus étudiée est l'effet de l'**attention** sur la douleur : lors d'une stimulation douloureuse, l'attention est automatiquement orientée vers la zone douloureuse et le système d'alerte entraîne le retrait immédiat du membre stimulé ou bien cette réaction sera réfrénée si l'on demande au sujet de ne pas bouger dans le cadre d'une expérience. L'attention dirigée vers la région du corps qui reçoit la stimulation douloureuse amplifie de façon significative sa perception subjective (Garcia-Larrea et al., 1997). Cette modulation de la perception douloureuse est accompagnée par une variation de l'activité de plusieurs régions de la « matrice douleur », qui correspondent à la composante attentionnelle de la douleur. Elle concerne le cortex pariétal postérieur (gyrus supramarginal), le DLPF et le cortex cingulaire antérieur (Peyron et al., 1999). C'est la partie correspondant à l'aire BA 32 de ce dernier qui est impliquée dans l'attention et l'aire BA 24 qui est spécifique de la douleur (Davis et al., 2000 ; Frankenstein et al., 2001). L'activité de S1 qui est corrélée à l'intensité de la douleur perçue est également modulée par l'attention (Bushnell et al., 1999). L'activité synchrone des neurones de S2 est également modulée par l'attention (Steinmetz et al., 2000). La modulation de l'activité de S1, S2 et de l'insula par

l'attention a également été montrée par des enregistrements intracérébraux (Ohara et al., 2004). Le profil d'activité du DLPF a amené Bornhövd et al. (2002) à suggérer que cette structure peut avoir un rôle important dans le recrutement de ressources attentionnelles face à la douleur mais aussi dans la mise en mémoire des expériences douloureuses. La douleur entraîne une redistribution des ressources attentionnelles, qui sont augmentées pour la perception douloureuse et diminuées pour une tâche cognitive (Seminowicz et Davis, 2007). Cette redistribution des ressources attentionnelles passerait par un système de modulation ascendant (*bottom-up*) des ressources attentionnelles par la douleur ainsi qu'un système descendant (*top-down*) de modulation de la perception douloureuse par l'attention (Legrain et al., 2009).

La **distraction** grâce à une tâche cognitive diminue l'intensité de la douleur (Davis et al., 2000 ; Peyron et al., 1999) mais elle diminue encore plus le caractère désagréable (Bantick et al., 2002 ; Petrovic et al., 2000 ; Valet et al., 2004). Cette modulation de la douleur diminue l'activité dans les aires S2, le gyrus supramarginal, S1 et la PAG et augmente l'activité dans le cortex orbitofrontal et l'ACC prégenual pendant la distraction par rapport à la douleur (Bantick et al., 2002 ; Petrovic et al., 2000 ; Valet et al., 2004). Ces modulations douloureuses par l'attention ne sont pas restreintes aux régions corticales mais s'étendent aussi à la PAG où une corrélation a été mise en évidence entre l'activité BOLD et l'attention à la douleur (moins on porte attention à la douleur, moins la PAG est activée, Tracey et al., 2002).

L'**anticipation** de la stimulation douloureuse module les activités cérébrales liées à la douleur ; elle peut induire une augmentation du caractère désagréable d'une stimulation non douloureuse (Sawamoto et al., 2000) ainsi que de l'intensité d'une stimulation douloureuse (Clark et al., 2008). De la même façon que l'attention a pu être dissociée de la douleur, Ploghaus et al. (1999) ont réussi à dissocier les activités liées à l'anticipation de celles liées à la perception de la douleur, montrant l'implication de la partie antérieure du cortex frontal médial, de l'insula antérieure et de la partie postérieure du cervelet dans l'anticipation. Le rôle important de l'ACC dans la modulation de la douleur par l'anticipation a également été prouvé par Hsieh et al. (1999), l'activité de l'ACC est corrélée à l'imprévisibilité de la stimulation : plus l'arrivée de la stimulation est imprévisible, plus l'ACC est activé (Sawamoto et al., 2000). De la même façon, l'activité des régions impliquées dans le traitement de la douleur, comme l'ACC, l'insula antérieure et le cortex préfrontal est modulée par l'anticipation (Porro et al., 2002). En effet, ces régions s'activent avant la stimulation douloureuse, pendant l'anticipation. Il est également possible d'observer que lors de l'anticipation d'une stimulation, l'activité des régions prémotrices et préfrontales commence à augmenter avant la stimulation pour atteindre son maximum pendant la stimulation. Ces activations sont corrélées à l'activité de l'ACC et à l'intensité de la douleur perçue (Lopez-Solà et al., 2010).

La **suggestion hypnotique** peut influencer le caractère désagréable de la douleur : pendant l'hypnose, la diminution de la douleur perçue et de son caractère désagréable passe par une désactivation du aMCC (Faymonville et al., 2000 ; Rainville et al., 1997). Dans une deuxième étude, Rainville et al. (1999) ont montré qu'il est possible, en orientant la suggestion hypnotique, de moduler le caractère affectif (agréable/désagréable) mais aussi l'intensité de la douleur. Ces deux composantes sont dissociables et mettent en jeu la modulation de deux régions cérébrales observées en PET : le caractère désagréable de la douleur est codé dans le aMCC (Rainville et al., 1997) et l'intensité de la perception douloureuse est codée dans S1 (Hofbauer et al., 2001). Il n'est d'ailleurs pas impossible que les processus hypnotiques empruntent des réseaux communs avec les phénomènes attentionnels puisque la pratique elle-même de l'induction hypnotique, indépendamment de la douleur, recrute les régions pré-frontales (Rainville et al., 2002) connues pour abriter aussi les fonctions attentionnelles.

L'attente que l'on peut avoir d'une stimulation (expectation) peut également influencer l'intensité de la douleur perçue. Le fait de s'attendre à ce que la douleur soit moins intense, diminue effectivement l'intensité de la douleur perçue ainsi que l'activation dans le thalamus, S1, S2, l'insula, le ACC, le cortex préfrontal et le cervelet (Koyama et al., 2005). L'incertitude quand à la stimulation c'est-à-dire le fait de ne pas savoir à quoi s'attendre augmente la douleur perçue et s'accompagne de l'activation du cortex préfrontal ventromédian, du MCC et de l'hippocampe (Ploghaus et al., 2003). Tandis qu'avoir des connaissances sur la qualité et le type de stimulation à venir diminue la douleur perçue et s'accompagne d'une activation du cortex cingulaire antérieur rostral et du cervelet.

Enfin, **l'idée que l'on a de pouvoir contrôler ou non la douleur** peut avoir une influence non pas sur l'intensité de la douleur perçue mais sur l'activité des régions impliquées dans l'aspect affectif de la douleur que sont le pACC, l'insula et S2 (Salomons et al., 2004). L'activité de ces régions est corrélée à la différence individuelle de cotation de la douleur entre les conditions de contrôle perçu ou de non contrôle ; la corrélation est positive dans le pACC, la PAG et l'insula/S2 et est négative dans le cortex préfrontal ventrolatéral. Ces régions jouent un rôle dans la modulation cognitive de la perception douloureuse, elles nous intéresseront donc particulièrement pour l'étude des modulations de la douleur.

Toutes ces études montrent que non seulement ces facteurs cognitifs sont capables de moduler la perception de la douleur, en l'augmentant ou en la diminuant, mais également que ces modulations ont pour conséquence des modifications significatives de l'activité du cerveau, dans des régions impliquées dans le traitement de l'intensité douloureuse telles que S1, S2, l'insula, la PAG, le cortex cingulaire (localisations variées) et/ou les régions impliquées dans

l'attention comme les cortex DLPF et pariétal postérieur. Ces modulations permettent de mieux comprendre le rôle respectif de chacune des régions de la « matrice douleur » dans la perception de la douleur et son traitement cognitif, dans la perspective de trouver des moyens d'agir sur la perception douloureuse et de trouver des cibles cérébrales pour le traitement de la douleur ou son soulagement. La **composante émotionnelle**, tout comme la composante cognitive, fait partie intégrante de la perception douloureuse et a été étudiée dans de nombreuses études psychophysiques et plus récemment d'imagerie fonctionnelle, qui montrent de quelle manière les émotions peuvent influencer la perception de la douleur et son traitement cérébral.

La banque d'images de l'IAPS (Lang et al., 2008, voir encadré « **International Affective Picture System** ») a beaucoup été utilisée pour induire des états émotionnels négatifs, neutres ou positifs. En 2001, de Wied et Verbaten ont montré que les images positives augmentent la tolérance au *cold-pressor test*, tandis que les images négatives la diminuent. Les sujets laissent leur main dans le bain d'eau froide moins longtemps quand ils voient des images négatives que quand ils voient des images positives, mais l'intensité de la douleur ressentie au moment du retrait est la même dans les deux situations. La tolérance sera d'autant plus diminuée si les images négatives ont une connotation douloureuse. La même année, Meagher et al. ont étudié des témoins des deux sexes à travers deux expérimentations: dans la première, ils ont observé que les images qui induisaient de la peur augmentaient la cotation de l'intensité douloureuse et de sa déplaisance, et diminuaient la tolérance à la douleur. Les images induisant un sentiment de dégoût diminuaient également le seuil de la douleur et augmentaient sa déplaisance, mais sans modifier la tolérance. La deuxième expérimentation a montré une réduction de la douleur exclusivement chez les hommes, par la présentation d'images positives à caractère érotique.

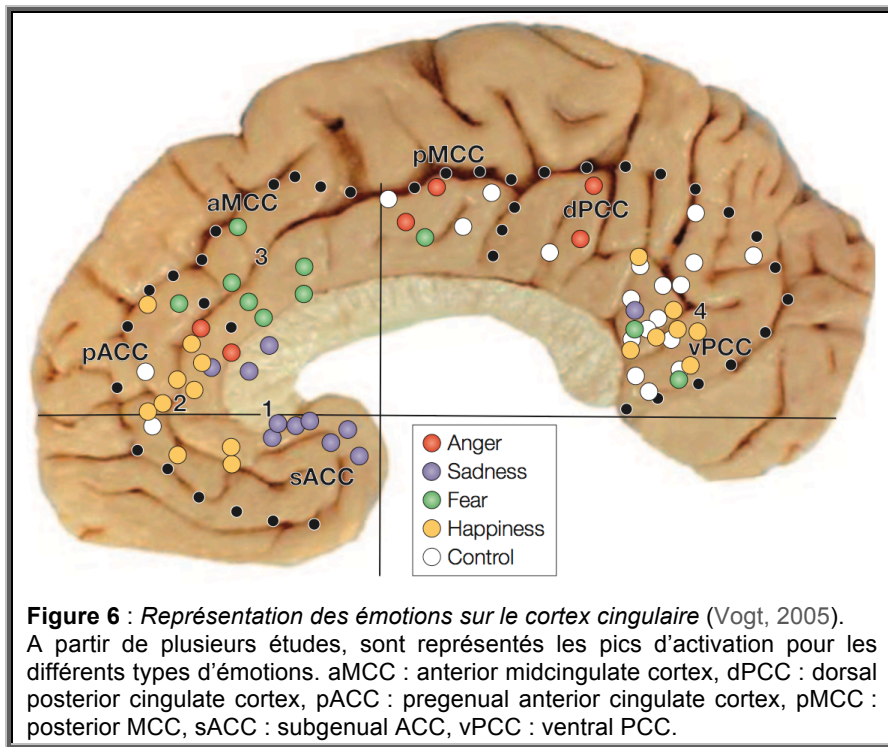
Ensuite, Wunsch et al. (2003) ont démontré la possibilité de modifier la perception sensorielle d'un stimulus thermique par un processus d'apprentissage affectif inconscient. L'induction d'un contexte émotionnel négatif par la projection d'images désagréables (stimulus non-conditionné) était capable d'augmenter l'intensité et la déplaisance de la stimulation douloureuse (stimulus conditionné). Plus tard, il a été montré que l'amplitude du réflexe de flexion nociceptif (R_{III}) et l'intensité douloureuse associée peuvent être modulés par la vision d'images de l'IAPS plaisantes, neutres ou déplaisantes (Rhudy et al., 2005). Les images déplaisantes (valence affective faible) augmentent le réflexe et l'intensité de la douleur, tandis que les images plaisantes (valence affective élevée) les inhibent. Enfin, Kenntner-Mabiala et al. (2008) ont dissocié l'effet de l'attention de celui de l'affect, montrant que l'état émotionnel influence la déplaisance et l'intensité douloureuse tandis que l'attention ne module que l'intensité douloureuse. L'intensité perçue est augmentée par le contexte négatif, pour des stimulations électriques qu'elles soient douloureuses ou non.

International Affective Picture System (IAPS)

The International Affective Picture System is being developed to provide a set of normative emotional stimuli for experimental investigations of emotion and attention. The goal is to develop a large set of standardized, emotionally-evocative, internationally-accessible, color photographs that includes contents across a wide range of semantic categories. The IAPS is being developed and distributed by the NIMH Center for Emotion and Attention at the University of Florida.

Ce n'est que plus récemment que les mécanismes neuronaux sous-tendant la modulation de la perception douloureuse par un contexte émotionnel ont été étudiés au-delà des expériences psychophysiques, soit avec l'imagerie fonctionnelle, soit avec la neurophysiologie (Godinho et al., 2006 ; Godinho et al., 2011). Les images plaisantes, neutres et déplaisantes de l'IAPS ont été utilisées pour moduler la perception à des stimulations électriques ; les images déplaisantes en rapport avec le corps étaient les seules à moduler la perception douloureuse. Le contexte émotionnel négatif activant plus le DLPFC bilatéralement, le cortex pariétal postérieur (BA7), le cortex préfrontal antérieur (BA10), le pACC, le sillon temporal supérieur (BA 21/22) et la jonction temporo-pariéto-occipitale (BA39/40) que les contextes neutre ou positif. Les émotions peuvent donc moduler la perception douloureuse par des mécanismes non sensoriels car l'activité au sein de la « matrice douleur » n'est pas modifiée par le contexte émotionnel, et pourraient induire un biais dans l'encodage mnésique de l'information nociceptive.

Parmi toutes les modulations que nous venons de présenter, une région revient de manière récurrente : le **cortex cingulaire**. En effet, il est impliqué dans la perception des émotions simples et de la douleur quelle que soit sa localisation sur le corps (pour revue : Vogt, 2005) et celles-ci interagissent en différentes localisations de ce cortex (**figure 6**). Le cortex cingulaire est impliqué dans trois principaux aspects du traitement de la douleur : la peur et l'évitement engagent le aMCC, l'orientation du corps en réponse à des stimuli douloureux engage le pMCC et dPCC qui sont deux régions généralement impliquées dans la planification motrice et qui ont peu d'implication dans la sensation. La partie subgéniale de l'ACC (sACC) quant à elle est activée par des stimulations de la peau et des viscères ainsi que dans la tristesse, son activation dépendrait plutôt de l'état interne du sujet. Le désagrément engage le pACC : l'augmentation de la déplaisance augmente l'activité dans cette région. Le pACC est également impliqué dans l'effet placebo, l'analgésie opioïde, et la perception de la joie. L'implication du cortex cingulaire dans de multiples aspects de la douleur et des émotions nous engage donc à étudier cette région de manière plus attentive dans les modulations que nous allons utiliser mais aussi dans l'étude de sa réponse hémodynamique à la douleur.



Dans le **chapitre 3**, notre travail consistera à envisager les modulations de la perception douloureuse et des cartes d'activation cérébrale par deux types de modulateurs de cette perception. Dans la continuité des études sur la modulation émotionnelle de la douleur et particulièrement des études de F. Godinho, **la première** modulation vise à étudier en fMRI l'effet d'un contexte émotionnel négatif sur l'intensité perçue en réponse à une stimulation thermique douloureuse ou non. De la même manière que dans les études précédentes, nous faisons l'hypothèse que la douleur perçue sera plus importante dans le contexte émotionnel négatif que dans le contexte neutre et qu'il sera possible de dissocier l'implication de la composante émotionnelle de celle de la composante sensorielle. **La seconde**, tend à approcher l'effet que peut avoir la durée de stimulation sur la perception douloureuse. En effet, très peu d'études portent sur l'influence de la perception de la durée dans une situation douloureuse et encore moins sur la façon dont la perception de la douleur peut être influencée par la perception de la durée.

La perception du temps a beaucoup été étudiée (en particulier pour des intervalles de temps courts, de plusieurs centaines de millisecondes) et il a été mis en évidence que plusieurs régions corticales telles que les cortex pariétal, prémoteur, préfrontal et insulaire, et sous corticales telles que les ganglions de la base et le cervelet sont impliquées dans le traitement des informations temporelles (pour revue voir Rubia et Smith, 2004). Le rôle de l'insula dans ce traitement a été discuté : l'insula antérieure aurait plutôt un rôle dans la comparaison d'intervalles (Kosillo et Smith, 2010), tandis que l'insula postérieure aurait un rôle dans la perception du passage du temps (Wittman et al., 2010). Contrairement à ce qui était admis il y a quelques années, on parle

maintenant d'un « réseau cérébral distribué » impliqué dans la perception du temps dont l'activation dépendrait de la tâche, de la modalité sensorielle et de la durée de l'intervalle temporel (Buetti, 2011). Ce qui impliquerait qu'une distorsion du temps ne serait pas la même en fonction de la modalité dans laquelle elle se joue. Par exemple, les émotions négatives (comme la colère ou la peur) entraînent une surestimation du temps (intervalle perçu comme plus long) que les émotions positives (comme la joie) (Droit-Volet et Gil, 2009 ; Droit-Volet et Meck, 2007 ; Tipples et al., 2008).

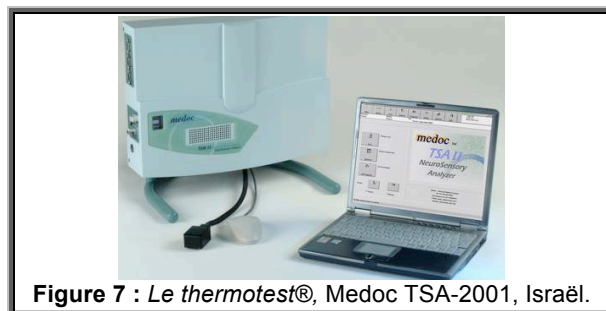
La perception du temps lors d'une stimulation douloureuse a peu été étudiée, mais une expérience de *cold-pressor test* en 1993 a montré que le fait d'avoir mal entraîne une sous-estimation du temps (les sujets pensent que moins de temps est passé qu'en réalité, ils sont enfermés dans un présent qui dure, le temps leur semble durer plus longtemps, Hellström et Carlsson, 1997 ; Thorn et Hansell, 1993). Cet effet peut être diminué lorsque l'on donne aux sujets une durée cible à atteindre. De plus, donner des informations temporelles pendant l'expérience douloureuse diminue l'intensité et la déplaisance de la douleur, cela a été montré chez des enfants soumis au *cold-pressor test* ; de la même manière que les dentistes peuvent donner des indications sur le début, la durée et la fin des actes pour aider les enfants à supporter la douleur (Coldwell et al., 2002).

En partant du principe que la durée réelle d'une stimulation thermique a une influence sur l'intensité de la douleur perçue, pour des températures élevées (Koyama et al., 2004 l'ont montré pour une température de 49°C), l'objectif de cette seconde étude de modulation est de tenter de moduler l'intensité douloureuse en faisant varier l'estimation de la durée de stimulation grâce à un leurre et d'en étudier le substrat neuronal. Nous faisons donc l'hypothèse que lorsque les sujets pensent être soumis à des stimulations « longues » la perception douloureuse sera plus intense que lorsque les sujets pensent être soumis à des stimulations « courtes » et que cette modulation sera supportée par les régions sensorielles codant la perception douloureuse.

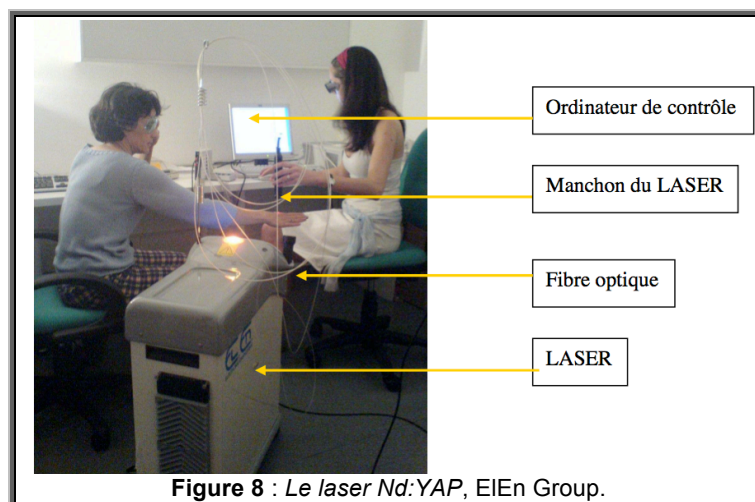
2.4 Méthodologie

2.4.1 Les différents types de stimulations nociceptives utilisées

Le **thermotest** est un appareil couramment utilisé en clinique, permettant de créer une douleur thermique grâce à une thermode (**figure 7**). La thermode de taille 30 x 30 mm et un élément Peltier qui se fixe sur la peau du sujet. Un ordinateur permet de contrôler la température délivrée, qui peut aller de 0 à 50°C. Les variations de température programmables ne sont pas très rapides, mais permettent de faire des stimulations prolongées. L'inconvénient de cet appareil de stimulation est qu'il active conjointement aux fibres A δ et C, les fibres A β car il nécessite un contact cutané.



Le **laser** permet grâce à l'émission d'un rayonnement infrarouge conduit par une fibre optique, de stimuler les fibres A δ et C sans stimuler les fibres A β car il ne nécessite pas de contact cutané (**figure 8**). Il permet de stimuler une région restreinte de la peau, pour une durée très brève (de l'ordre de plusieurs millisecondes) car l'élévation de la température est extrêmement rapide. La sensation évoquée est une sensation de piqûre (correspondant à l'activation des fibres A δ) et/ou une sensation de brûlure diffuse (correspondant à l'activation des fibres C). Plus la longueur d'onde du laser sera courte, plus l'absorption de l'énergie se fera en profondeur dans la peau. Nous avons utilisé un laser Nd:YAP (Néodyme:Yttrium-Aluminium-Pérovskite) possédant une longueur d'onde de 1.34 μ m, permettant de stimuler les fibres A δ et C avec une faible quantité d'énergie.



2.4.2 Les potentiels évoqués et l'EEG

L'électro-encéphalographie (EEG) enregistre l'activité électrique synchrone de milliers ou de millions de neurones qui ont la même orientation spatiale, elle est enregistrée par de multiples électrodes à la surface du crâne (**figure 9**). L'EEG de surface représente principalement l'activité des neurones corticaux proches des électrodes, par conséquent les structures cérébrales profondes comme l'hippocampe, le thalamus ou le tronc cérébral ne contribuent pas directement au signal EEG.

Les potentiels évoqués consistent en un moyennage de l'activité EEG enregistrée en réponse à une stimulation. Ce moyennage se fait par rapport au début de chaque stimulation et permet d'augmenter le rapport signal sur bruit afin de visualiser l'activité synchronisée correspondant à la stimulation des fibres nociceptives en périphérie, dans le cas des potentiels évoqués laser.

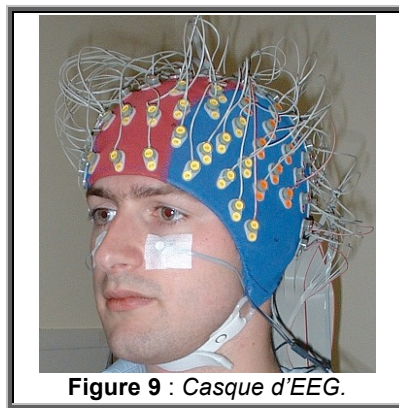


Figure 9 : Casque d'EEG.

2.4.3 L'IRM fonctionnelle

L'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle utilise les propriétés magnétiques des protons contenus dans les tissus biologiques (en particulier l'eau et la graisse). Les protons sont soumis à un champ magnétique statique et excités par une onde radiofréquence. Le signal détecté en IRM est celui qui est libéré lors du retour à l'équilibre (phénomène de relaxation). Il y a plusieurs phénomènes de relaxation, celui utilisé en fMRI est appelé T2* et correspond à la relaxation transversale, qui prend en compte les inhomogénéités de champ créées par les variations de la perfusion sanguine cérébrale.

La technique d'IRM fonctionnelle utilise la réponse BOLD (*blood-oxygen-level dependent*) comme mesure indirecte de l'activité neuronale. En effet, il existe un couplage entre le débit sanguin cérébral (CBF) et l'activité neuronale (plus l'activité neuronale augmente, plus le CBF augmente) et un découplage entre le CBF et la consommation d'oxygène (appelé hyperhémie fonctionnelle). Donc quand l'activité neuronale augmente, l'augmentation du CBF associée est plus importante que la consommation d'oxygène : le sang est trop oxygéné, ce qui correspond à une diminution de la concentration en désoxyhémoglobine (dHb). La dHb est utilisée ici comme traceur endogène car elle est paramagnétique, donc crée des inhomogénéités locales dans le

champ magnétique. La diminution de sa concentration diminue les inhomogénéités, donc augmente l'intensité du signal T2*. La réponse hémodynamique due à l'effet BOLD présente un retard de 5 à 8 s sur le stimulus présenté et dure une vingtaine de secondes au total.

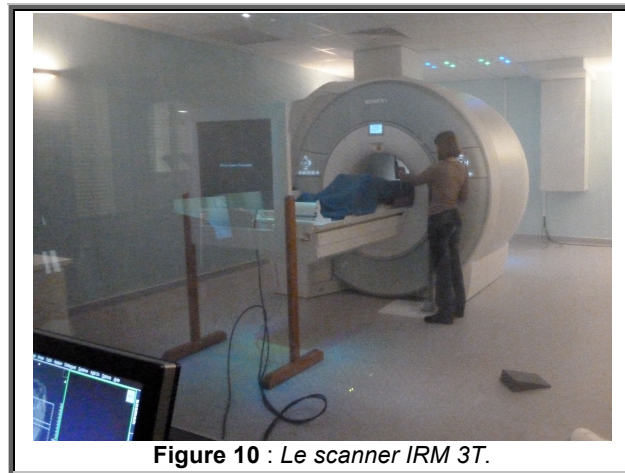
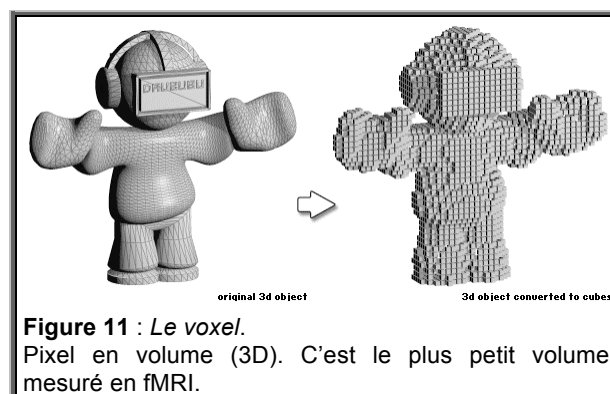


Figure 10 : Le scanner IRM 3T.

Paramètres d'acquisition

L'*echo-planar imaging* (EPI) permet d'acquérir des images de la distribution de la dHb dans l'ensemble du cerveau sur plusieurs coupes, en quelques secondes. Le rapport signal sur bruit (SNR) de ces images peut être modifié par plusieurs facteurs, qui seront manipulés dans l'étude n°3 (**Chapitre 4**) :

- augmentation du SNR : par l'augmentation de l'épaisseur de coupe, mais cela augmente aussi les effets de volume partiel ; ou par la réduction de la taille de la matrice (espace où sont enregistrés les données) sans modifier le FoV (*Field of View*, espace visualisé), mais cela diminue la résolution spatiale (taille du voxel, **figure 11**), ainsi que le temps nécessaire à l'acquisition
- diminution du SNR : par réduction du FoV sans modifier la taille de la matrice d'acquisition, ce qui permet d'améliorer la résolution spatiale ; ou par réduction du FoV et de la taille de la matrice en gardant la même résolution spatiale, cela permet de diminuer le temps nécessaire à l'acquisition, mais le FoV ne doit pas être plus petit que la taille de la tête (afin d'éviter des effets de repliement).



2.4.4 Le traitement des images fonctionnelles

Le logiciel SPM

Contrairement aux images anatomiques, les images fonctionnelles nécessitent d'être analysées afin de pouvoir être interprétées, c'est-à-dire afin de pouvoir dire qu'une zone est « activée » ou non dans un groupe et pour une tâche donnée. Le logiciel le plus couramment utilisé est le logiciel SPM (*Statistical Parametric Mapping*, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London), dans ce type d'analyse, la valeur de chaque voxel est une statistique qui exprime l'idée de l'hypothèse nulle (H_0 : absence d'activation induite expérimentalement) pour chaque voxel. Les cartes statistiques (*SPMs*) réfèrent donc à la construction de processus statistiques spatialement étendus permettant de tester des hypothèses sur des effets spécifiques régionaux. Une séquence de pré-traitements et traitements classiques de SPM, utilisant le modèle linéaire général comporte plusieurs étapes qui vont être décrites (Pélégriani-Issac et al., 2006, **figure 12**).

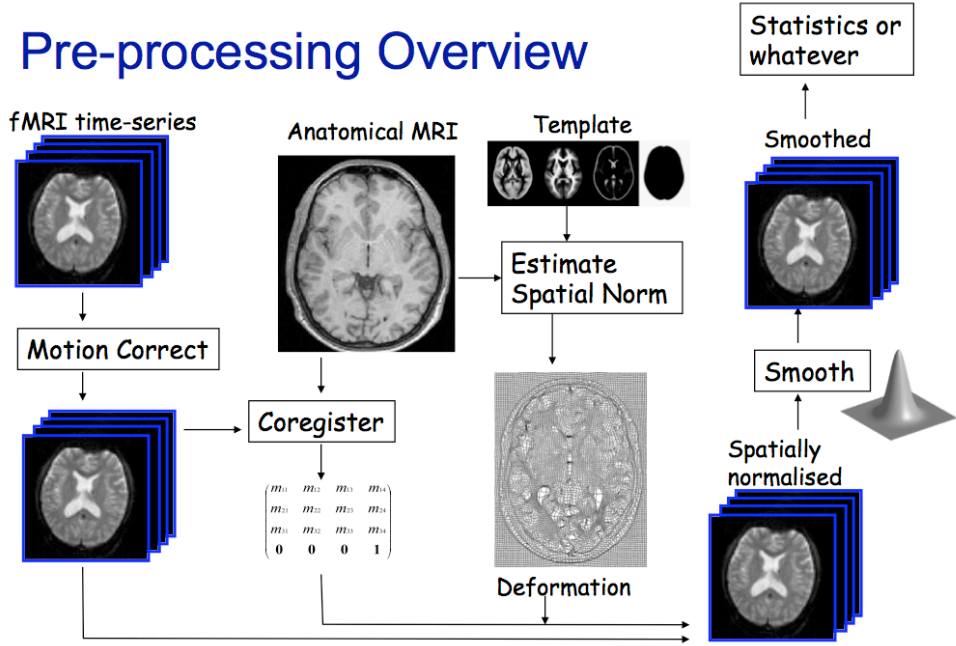
Lors d'une acquisition fonctionnelle, les différentes coupes d'un même volume ne sont pas acquises simultanément, mais successivement (en mode séquentiel ou en mode entrelacé) pendant une durée égale au temps de répétition (TR). Par exemple, avec un TR égal à 2 s et une acquisition où les coupes sont acquises du bas vers le haut du cerveau, la coupe la plus haute est systématiquement acquise 2 s après la coupe la plus basse. Le **slice timing** permet donc de prendre en compte ce décalage en faisant une interpolation temporelle, qui consiste à « ramener » l'instant d'acquisition de toutes les coupes à un instant commun (correspondant à la coupe de référence). Lors des analyses statistiques, on considérera ensuite que toutes les coupes du volume ont été acquises simultanément.

La **correction des artefacts dus aux mouvements** de la tête du sujet, inévitables pendant une acquisition qui peut durer plusieurs dizaines de minutes, est nécessaire pour ne pas avoir de faux positifs apparaissant typiquement à la périphérie du cerveau. Le principe du recalage consiste à choisir une image de référence au sein de la série temporelle acquise, et à corriger le déplacement des autres images de la série par rapport à cette image de référence. Le déplacement est supposé rigide, c'est-à-dire composé uniquement de rotations et de translations. Avec SPM, les images fonctionnelles de chaque sujet sont recalées à deux niveaux : à l'intérieur de chaque série acquise et entre les différentes séries acquises pour ce sujet.

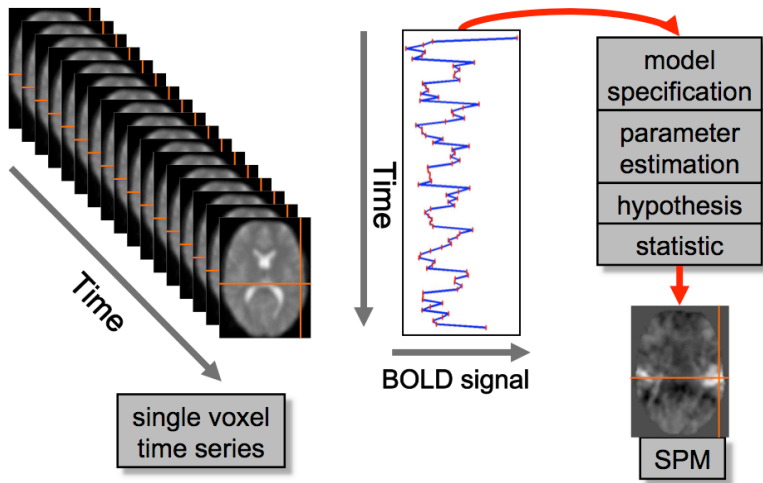
La **segmentation** permet de créer, à partir d'une seule image, une image de la matière blanche, une image de la matière grise et une image du liquide céphalo-rachidien. Il est possible d'utiliser les paramètres de ces images pour améliorer la qualité de la normalisation.

La **normalisation spatiale** permet de mettre toutes les images anatomiques et fonctionnelles de tous les sujets dans un espace commun : l'espace MNI (*Montreal Neurological*

Pre-processing Overview



Voxel-wise time series analysis



Overview of SPM

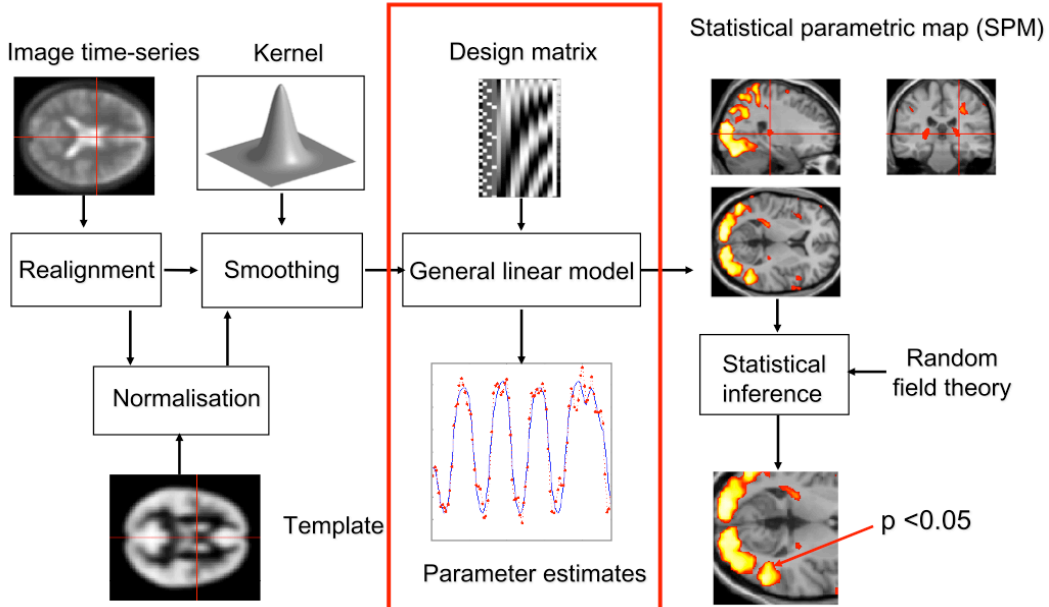


Figure 12 : Séquence de pré-traitements et traitement des données de fMRI dans SPM (SPM courses oct. 2009, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging).

Institute). Ce qui permettra de déterminer les coordonnées des zones activées dans un repère commun, et donc de comparer des activations entre les différents sujets en contournant les problèmes posés par la variabilité anatomo-fonctionnelle interindividuelle, nécessaire pour les études de groupe.

Le **lissage spatial** des données permet de « contourner » les problèmes de corrélation spatiale, notamment au moment de l'étape de seuillage des cartes d'activation. En effet, les données d'IRM fonctionnelle présentent des corrélations spatiales, c'est-à-dire que le signal acquis dans un voxel donné n'est pas indépendant du signal acquis dans les voxels voisins. Les caractéristiques de ces corrélations spatiales sont difficiles à estimer. Les données sont lissées avec un filtre passe-bas (qui coupe les hautes fréquences) de façon à ce que, dans les images lissées, les caractéristiques des corrélations spatiales soient connues et imposées par les propriétés du filtre utilisé (Gaussien le plus souvent).

Le **recalage de l'image anatomique avec les images fonctionnelles** (*coregister*) permet de mettre en correspondance des images issues d'une même modalité, ou des images issues de modalités différentes. Typiquement, on l'utilise pour recalibrer les images fonctionnelles et l'image anatomique d'un même sujet.

L'**analyse statistique** comprend plusieurs étapes : la spécification du modèle, où on associe à chaque condition expérimentale un (ou plusieurs) régresseurs qui décrivent la forme théorique des variations du signal fMRI associé à cette condition. Puis, l'estimation des paramètres du modèle pour chacun des régresseurs, de sorte que le modèle « modélise au mieux les données » ou, en termes mathématiques, que la variance de l'erreur résiduelle soit minimale. Ensuite, la définition et l'estimation de contrastes permettent, par des tests statistiques effectués sur les valeurs des paramètres β , d'étudier l'influence des différentes conditions sur les variations du signal BOLD.

Les **contrastés T** permettent de tester, dans chaque voxel du cerveau (à l'intérieur du masque d'analyse) si l'activation associée à une condition donnée est plus grande que celle associée à une autre condition ; ou si l'activation associée à un groupe de conditions est plus grande que celle associée à un autre groupe.

Les **contrastés F** permettent de tester plusieurs régresseurs à la fois, par exemple pour tester l'interaction entre différents régresseurs ou un effet d'intérêt mettant en jeu plusieurs conditions. Les contrastés F permettent de montrer que les activations associées à deux conditions (ou deux groupes de conditions) sont différentes, mais n'indiquent pas le sens de la différence.

L'**analyse de groupe à effets aléatoires** (*random-effects analysis*) s'utilise après avoir effectué des analyses individuelles chez chacun des sujets du groupe. Elle s'applique aux images

de contrastes calculées lors des analyses individuelles. L'analyse à effets aléatoires prend en compte à la fois la variabilité intra-individuelle puisqu'elle utilise les résultats issus d'analyses individuelles, mais aussi la variabilité inter-individuelle. Elle permet donc, en théorie, d'inférer des conclusions généralisables à l'ensemble de la population de laquelle est tiré le groupe de sujets sur lequel est conduite l'étude.

2.4.5 Les logiciels alternatifs pour estimer la HR

Le choix du logiciel d'analyse des données est très important car il détermine la façon dont sera modélisée la réponse hémodynamique. Dans l'objectif de caractériser la réponse BOLD à une stimulation douloureuse ou non, faire le moins possible *d'a priori* sur les données est le mieux. L'utilisation de la modélisation de type *hemodynamic response function* (HRF) canonique et dérivée temporelle est dans ce cas là indiquée pour un design événementiel, mais les contraintes sur la HRF sont très fortes. En effet, la HRF canonique qui est la combinaison de deux courbes gaussiennes, est définie pour atteindre son maximum à 5 s. Notre hypothèse étant que la HRF à la douleur peut être différente d'une HRF traditionnelle (canonique), qu'elle peut comporter un ou plusieurs pic(s) et que nous ne connaissons pas sa durée, nous n'avons pas considéré l'option de cette modélisation dans le logiciel SPM pour **décrire** la HRF. C'est pourquoi notre choix premier s'est porté sur le logiciel *pyHRF* développé par T. Vincent (Vincent et al., 2010) grâce aux travaux précédents de P. Ciuciu et S. Makni (Ciuciu et al., 2003 ; Makni et al., 2005 ; Makni et al., 2008). Ce logiciel permet de faire une estimation de la HR région-spécifique mais qui est indépendante de la condition, avec comme *a priori* sur la HRF le fait qu'elle commence et se termine à zéro dans la fenêtre de temps choisie et qu'elle soit lisse/régulière. Cette méthode qui permet d'avoir une très bonne estimation de la HRF n'a pas été retenue car elle ne permet pas de comparer les conditions douloureuse et non-douloureuse.

Plusieurs autres méthodes existent pour estimer au mieux la HR et ont été comparées (Lindquist et Wager, 2007 ; Lindquist et al., 2009), la méthode développée par ce groupe (*inverse logit functions*) est meilleure que la méthode *smooth FIR* qui arrive en deuxième position. Ensuite viennent les techniques de modélisation non-linéaire avec deux fonctions gaussiennes, puis la HRF canonique avec la dérivée temporelle et en dernier la HRF correspondant à deux fonctions gaussiennes dont les paramètres sont fixes (utilisée dans SPM). Les deux meilleures méthodes sont donc *inverse logit functions* et *smooth FIR* car elles sont capables d'estimer correctement et avec un bon pouvoir statistique la latence (*time-to-peak*), la durée (largeur) et l'amplitude (hauteur) de la réponse hémodynamique. Ces méthodes n'ont pas été retenues car elles n'étaient pas implémentées dans une interface facile d'utilisation avec la grande quantité de données dont nous disposons (à cause de la haute résolution temporelle d'acquisition). Nous avons donc choisi

la méthode *finite impulse response* (FIR) implémentée dans SPM qui permet d'estimer la HR en « découpant » le signal en « morceaux » (*time bins*) de la taille du TR dans une fenêtre de temps prédéfinie (25 s habituellement, Henson, 2003, **figure 13**). Cette approche donne une très bonne estimation de la HR, qui peut être condition-spécifique, en contrepartie la puissance statistique peut être un peu réduite par le fait d'estimer un grand nombre de régresseurs, étant donné que la résolution temporelle que nous avons choisie est élevée.

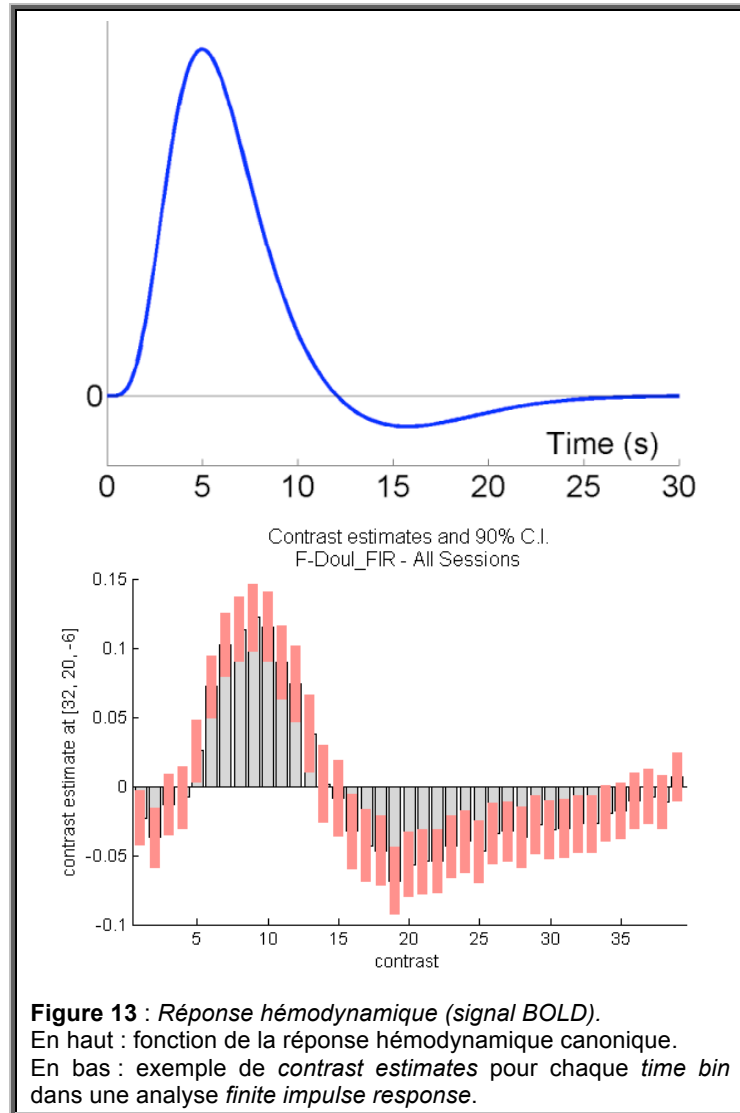


Figure 13 : Réponse hémodynamique (signal BOLD).
En haut : fonction de la réponse hémodynamique canonique.
En bas : exemple de *contrast estimates* pour chaque *time bin* dans une analyse *finite impulse response*.

2.4.6 L'analyse de connectivité effective

La connectivité effective, ou *dynamic causal modeling* (DCM) est un système bayésien permettant de faire des inférences sur les états neuronaux à partir de mesures électrophysiologiques ou hémodynamiques de l'activité du cerveau (Friston et al., 2003). Avec cette méthode il est possible d'estimer de quelle manière une activité neuronale (état neuronal non connu) provoque la réponse hémodynamique (état hémodynamique non connu) qui à son tour induit un signal BOLD (mesuré). La connaissance du déroulement temporel du signal BOLD permet, grâce à l'inversion du *balloon model*, d'en estimer les paramètres (qui sont contraints par des *a priori*) et donc l'activité neuronale. Le DCM permet donc de tester différents modèles d'interaction entre des populations neuronales (régions) et comment ces interactions peuvent être influencées par des facteurs expérimentaux.

La connectivité effective se définit comme l'influence causale qu'a une population neuronale sur une autre (Friston et Price, 2001). A partir des séries temporelles des données (signal BOLD) le DCM fournit des estimations interprétables sur la force des connexions synaptiques entre des populations neuronales (**connexions intrinsèques**) et la modulation de ces forces de connexion selon la stimulation et le contexte expérimental (**modulations**). Le DCM permet de tester l'effet du contexte expérimental, c'est-à-dire l'influence que peut avoir un facteur externe sur l'activité du réseau. L'effet d'un facteur externe correspond à l'effet modulateur que peut avoir le contexte expérimental sur l'activité d'une ou plusieurs région(s) ou sur une ou plusieurs connexion(s) entre deux régions. Les connexions intrinsèques correspondent à la force de la relation qui lie deux régions du réseau. Un facteur du paradigme expérimental peut donc influencer l'activité du réseau *via* la modulation de la force de connexion entre deux régions ou de l'activité propre d'une région. La force des connexions et l'effet des modulations correspondent à une activité en fonction du temps, exprimée en Hertz, en théorie elle peut donc prendre n'importe quelle valeur. Toutefois ces valeurs d'activité sont associées à deux probabilités : *expected posterior probability* et *exceedence probability*. La première correspond à la taille de l'effet et la deuxième à sa probabilité d'exister. Plus cette dernière sera grande, plus l'effet aura des chances d'exister, quelque soit sa taille. C'est sur cette probabilité que l'on se base pour attester de la présence ou non d'un effet chez un individu, pour un modèle donné.

La causalité du DCM est basée sur la théorie du contrôle qui permet de décrire comment l'état d'une population neuronale peut changer l'état neuronal d'une autre population via les connexions synaptiques (taux de variation, activité) et comment ces interactions peuvent être modifiées sous l'influence de perturbations externes (manipulations expérimentales) ou de l'activité cérébrale endogène (Stephan et al., 2010).

Pouvoir faire des déductions sur les influences entre les populations neuronales ne nécessite pas d'information concernant les délais de conduction dans le cas du fMRI. Du fait de la très grande variabilité inter-régionale de la réponse hémodynamique, le fMRI ne donne pas assez d'informations temporelles pour estimer le délai de conduction. Dans le cas de données fMRI les latences différentes de la réponse hémodynamiques sont prises en compte par des paramètres biophysiques région spécifique dans le modèle hémodynamique.

L'intérêt du DCM est qu'il permet de comparer des modèles comprenant plusieurs régions et dont on va tester l'influence des facteurs manipulés sur différentes connexions et/ou régions. La comparaison des modèles se fait par *Bayesian Model Selection* (BMS), méthode permettant de choisir le modèle expliquant le mieux les données, tout en prenant en compte la complexité des modèles (en pénalisant les modèles trop complexes). La méthode BMS renvoie deux probabilités pour chaque modèle de la comparaison :

- ***expected posterior probability*** : probabilité que les données aient été produites par le modèle, elle permet de dire quel modèle est le meilleur ;
- ***exceedance probability*** : probabilité que le modèle explique un maximum de pourcentage des données, plus cette probabilité est proche de 1, plus le modèle est bon.

La méthode BMS avec analyse à effets aléatoires renvoie des probabilités relatives sur l'ensemble des modèles inclus dans la comparaison (c'est-à-dire que le total des probabilités des modèles sera égal à 1). Tandis que l'analyse à effets fixes renverra des probabilités absolues.

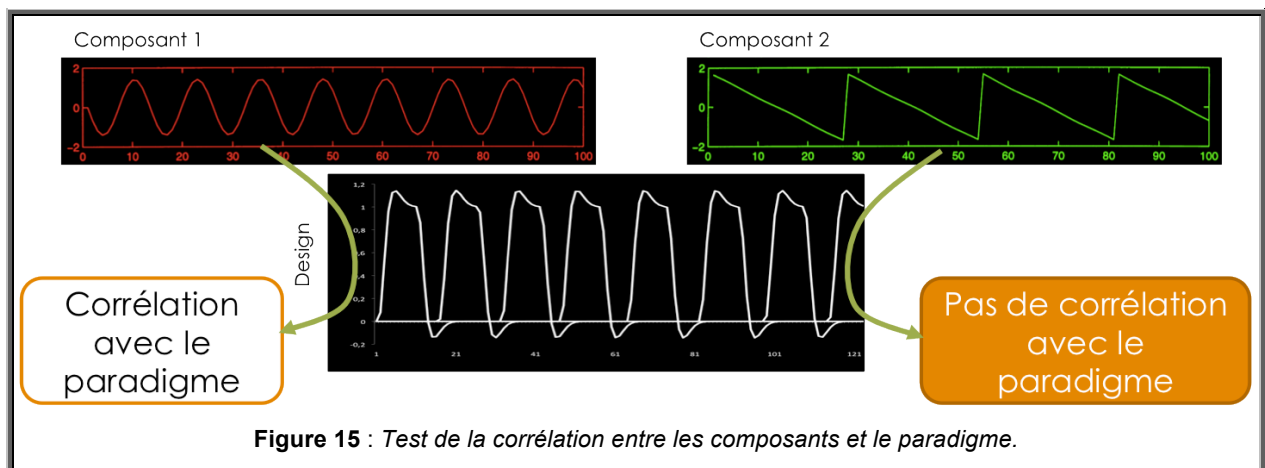
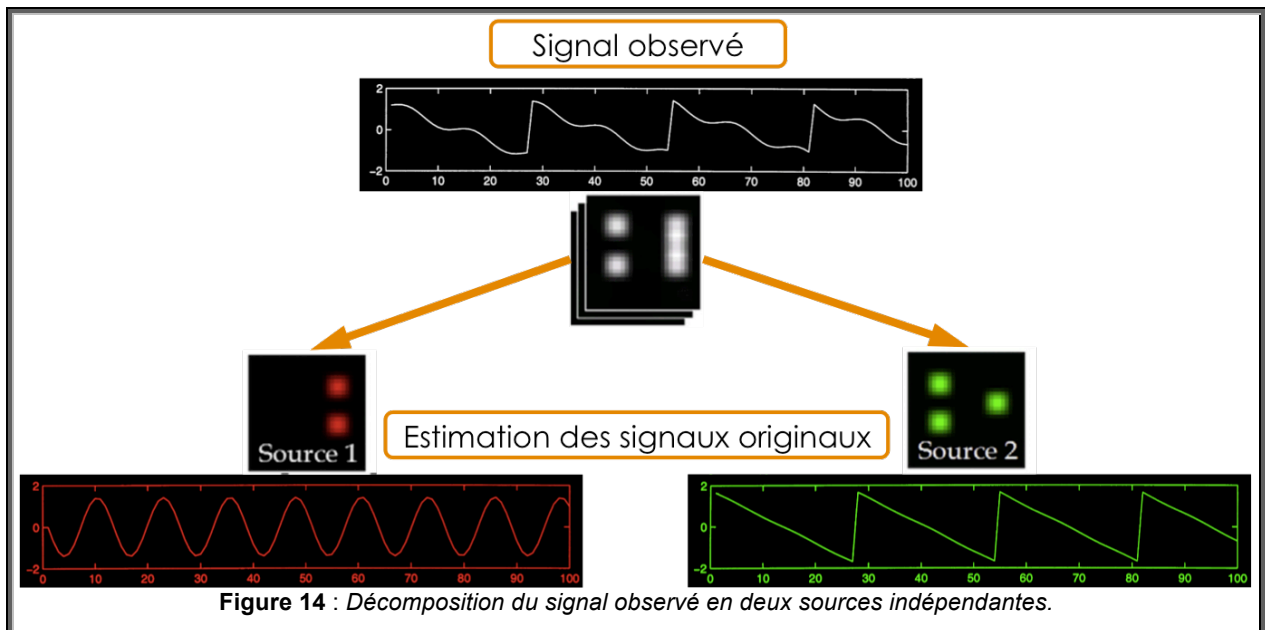
L'intérêt des analyses de connectivité effective telles que le DCM est de pouvoir tester différentes hypothèses sur la façon dont interagissent les aires cérébrales impliquées dans le traitement de la douleur. Dans notre cas, le DCM permettra de savoir comment une modulation connue pour avoir un effet sur l'intensité de la douleur perçue telle que les émotions négatives ou une illusion sur la durée de stimulation peut perturber le fonctionnement du réseau impliqué dans le traitement de l'information douloureuse. Le DCM est de plus en plus utilisé, il est donc également critiqué sur le fait qu'il ne soit pas possible d'écarter les modèles qui sont ne sont pas plausibles physiologiquement ou qui sont faux (sauf en ne les rentrant pas dans l'analyse) et que la méthode d'estimation utilisée ne pénalise pas suffisamment les modèles compliqués (Daunizeau et al., 2011 ; Lohmann et al., 2011). Ces critiques sont pondérées par le fait que le DCM s'avère meilleur pour des données de fMRI que des données électromagnétiques (EEG ou magnéto-encéphalographie) et qu'il est important de construire les modèles qui vont être testé sur des données anatomiques, telles que la tractographie, et sur des hypothèses physiologiques valables par rapport aux connaissances du domaine (Daunizeau et al., 2011). Il est également important de noter que la relation entre la modélisation DCM et l'activité neuronale sur des données d'électrophysiologie a été validée chez l'animal (Moran et al., 2008) et chez l'homme (David et al.,

2006, 2008). Peu d'études ont investigué la connectivité effective par DCM dans le domaine de la douleur car la technique ne s'est vraiment développée que récemment. Les modèles de réseaux étudiés étaient très simples : une étude a montré que la tristesse augmente la perception de la douleur et que dans une condition de tristesse dans une situation douloureuse l'amygdale et le cortex cingulaire antérieur interagissent (Yoshino et al., 2010). Une autre étude a montré que le traitement des informations nociceptives et non-nociceptives se faisait en parallèle dans S1 et S2, bien que ces régions reçoivent toutes les deux des inputs provenant du thalamus (Liang et al., 2011).

2.4.7 L'analyse en composantes indépendantes

L'analyse en composantes indépendantes (ICA) est une méthode de séparation aveugle de sources de signal. L'ICA spatiale permet à partir d'un signal fMRI complexe, composé de multiples sources (réseaux indépendants spatialement, dont on suppose qu'ils ont des fonctions différentes) de séparer les différentes sources ayant contribué au signal mixé (**figure 14**). Dans l'analyse ICA que nous utiliserons dans l'étude n°2, les sources sont maximalelement indépendantes spatialement les unes des autres mais leur déroulement temporel peut être corrélé, ces différentes sources sont appelées composants indépendants (IC). Chaque IC est représenté par un déroulement temporel (TC) associé à une carte spatiale, de la même manière que des données d'imagerie fonctionnelle. Le principe de l'analyse en composantes indépendantes est basé sur « l'effet cocktail » : dans une soirée où plusieurs personnes parlent vous entendez simultanément plusieurs conversations (signal mixé), mais en vous concentrant, vous êtes capable de dire d'où vient telle ou telle conversation : vous pouvez retrouver les sources du signal mixé. L'ICA va permettre d'estimer, de reconstruire le signal original produit par chacune des sources (Hyvärinen et Oja, 2000).

Pour les données de fMRI, le logiciel GIFT (*Group ICA of fMRI Toolbox*, Calhoun et al., 2001) estime un nombre choisi (en fonction d'une estimation du nombre moyen de composant par sujet, *MDL criterion*) de composants indépendants, que l'on peut classer selon leur corrélation avec une ou plusieurs conditions du dessin expérimental (**figure 15**). Il est ensuite possible de tester si le niveau d'activité du composant au cours du temps est soumise à l'influence d'un ou plusieurs facteurs.



2.4.8 La connectivité fonctionnelle entre réseaux

La connectivité fonctionnelle entre réseaux (FNC) permet de tester la significativité d'une relation temporelle entre le décours temporel de différents composants indépendants. L'objectif est d'essayer de maximiser la corrélation entre deux TC en testant le décalage temporel entre ces deux TC. Elle permet également de montrer s'il existe un délai significatif (au minimum supérieur ou égal au TR) entre le décours temporel d'activation de ces deux composants, ce qui peut donner des indications sur une éventuelle relation de causalité entre les composants inclus dans l'analyse FNC (Jafri et al., 2008). Cela signifie que les différents composants entrés dans l'analyse peuvent être activés de manière décalée dans le temps bien que leurs décours temporel soient corrélés.

L'analyse FNC permet de supposer (mais pas de démontrer) un éventuelle relation de causalité entre les différents réseaux, auxquels on attribue des fonctions différentes.

D'une manière générale, l'analyse ICA suivie de la FNC permet plus de liberté et est intéressante en particulier pour des designs non-conventionnels, car elle impose moins *d'a priori* qu'une analyse SPM classique (en particulier sur le design expérimental et la forme de la réponse hémodynamique). D'un autre côté les résultats sont souvent plus difficiles à interpréter car contrairement à une analyse SPM classique qui permet trouver les aires cérébrales dont l'activité est plus importante dans une condition que dans une autre, il « reconnaître » grâce au pattern d'activation des différents réseaux les régions impliquées dans le processus ou la fonction en question. Il est donc plus difficile d'interpréter des résultats ne correspondent pas à des résultats attendus.

Chapitre 3

Modulations de la douleur

Chapitre 3 – Modulations de la douleur

3.1 Influence des émotions négatives sur la perception de la douleur

3.1.1 Résumé

Remarque

Cette étude a été construite et les données fonctionnelles ont été acquises par V. Legrain et I. Faillenot, le travail effectué dans cette thèse correspond à l'analyse et à l'interprétation des résultats.

Objectif

D'un côté nous savons que les émotions ont une influence sur la perception de la douleur et d'un autre côté nous connaissons les régions cérébrales qui sont impliquées dans la perception des émotions. L'objectif de cette étude est d'évaluer en IRM fonctionnelle l'effet d'un contexte émotionnel négatif sur la perception douloureuse et les modulations de l'activité cérébrale qui y sont associées.

Méthodes

L'expérience comparera, pour une stimulation thermique donnée (nociceptive ou non), l'influence respective de deux contextes émotionnels, l'un neutre, l'autre déplaisant, induit à partir de scènes photographiques projetées juste avant la délivrance de la stimulation thermique sur la perception douloureuse et l'activité cérébrale de dix volontaires sains.

Résultats & Discussion

Le contexte émotionnel négatif augmente l'intensité de la douleur perçue, mais aussi l'intensité perçue en réponse à une stimulation non nociceptive. Aucune interaction entre l'intensité de stimulation et le contexte émotionnel n'a été détectée. Dans cette étude, nous avons répliqué la dissociation entre les activités liées à l'intensité de la stimulation (insula antérieure ipsilatérale, aMCC, SMA et IPL gauche) de celles liées à la perception de la douleur (insula antérieure bilatérale et aMCC). Cette étude montre également qu'il est possible de dissocier les activations liées à la composante émotionnelle associée aux stimulations visuelles (aires occipito-temporales) de celles persistant pendant la stimulation thermique (pACC, precuneus et IPL droit).

3.1.2 Article étude n°1

Submitted in EMOTION

The emotional influence on pain

Florence B Pomares^{a, b, c, d}, Isabelle Faillenot^{a, b, c, e}, Valéry Legrain^{f, g}, Roland Peyron^{a, b, c, d}

^a Central Integration of Pain, Neuroscience Research Center, U1028 INSERM, F-42023, France;

^b Université de Lyon, Saint-Etienne, F42023, France;

^c Jean Monnet University, Saint-Etienne, F-42023, France;

^d Department of Neurology and Pain Center, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

^e CMRR Unit, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

^f Department of Experimental Clinical and Health Psychology, Ghent University, B-9000 Ghent, Belgium

^g Institute of Neuroscience, Université catholique de Louvain, B-1200 Brussels, Belgium

Abstract

While pain and emotional processes have been investigated separately, the effect of emotional context on pain is a recent challenge to be studied with fMRI. The aim of our experiment was to investigate how emotionally negative images can influence the perception of pain induced by thermal heat stimulations. Behavioral results replicated the finding that negative emotional pictures resulted in higher intensity ratings of heat stimuli than neutral images. Using parametric modulations on fMRI data, we extracted BOLD signal changes that were modulated by stimulus intensity, pain intensity and emotional context. Visual presentation of emotional images elicited activations in temporo-occipital cortex, bilaterally. In agreement with previous literature, correlates of intensity coding and pain coding were found in ipsilateral (left) anterior insula and anterior midcingulate cortex (aMCC). Negative emotional effect during thermal stimulation involved the precuneus, the inferior parietal lobe (IPL) and the perigenual anterior cingulate cortex (pACC). These regions are possibly the place of multimodal integration of sensory and visual information from various sources, including nociceptive and visual, and enabling the modulations of pain intensities.

Introduction

The perception of pain is widely influenced by cognitive but also by emotional factors. In clinical context, the link between chronic pain and negative mood is well known (see Janssen, 2002 for a review). From an empirical point view, the issue of emotional influence on nociceptive processes was mainly investigated by psychophysical studies (see Wiech and Tracey, 2009 for a review). For instance, studies having used IAPS (International Affective Pictures System) images to manipulate emotional state of healthy volunteers showed that negative (unpleasant) images reduced tolerance and increased pain intensity and unpleasantness (de Wied and Verbaten, 2001; Meagher et al., 2001). The negative impact of images was replicated on the amplitude of the nociceptive flexion reflex, a measure of spinal nociceptive activity (Rhudy et al., 2005). Electrophysiological studies have also showed that induction of negative emotions increased pain ratings and cortical event-related potentials evoked by electrocutaneous painful stimuli, especially if the emotional images used to manipulate emotional state were related to the body (Godinho et al., 2006). Electrophysiological effects of negative emotions were shown on late-latency components thought to be generated in dorsolateral prefrontal and temporo-occipital cortices and in temporal pole, while responses from the primary and secondary somatosensory cortices (S1 and S2) were unaffected.

Surprisingly, while neuroimaging studies mostly investigated the cognitive modulation of nociceptive processing and pain perception (*e.g.* Bingel et al., 2007; Bushnell et al., 1999; Davis et al., 2000; Frankenstein et al., 2001; Hsieh et al., 1999; Peyron et al., 1999; Ploghaus et al., 1999; Valet et al., 2004), the issue of the emotional influence was less systematically and directly addressed. It is, for instance, proposed that the emotional valence of a painful sensation could be supported by the activity of the anterior cingulate cortex (ACC) because modulation of pain unpleasantness induced by affective hypnotic suggestion (Rainville et al., 1997) or by negative odors (Villemure and Bushnell, 2009) was found correlated with the activity of that area. Additionally, pain intensity ratings to electrical shocks were modulated by emotional images and this modulation was supported by the right (ipsilateral) insula, paracentral lobule, parahippocampal gyrus, thalamus and amygdala (Roy et al., 2009). The involvement of the ACC and insular cortex in the affective component of pain was also suggested by studies on pain empathy (Botvinick et al., 2005; Jackson et al., 2006; Singer, 2006; however see Legrain et al., 2010 about an alternative function of these two areas). The amygdala could also play a role in the emotional dimension of pain (Neugebauer et al., 2004). Prefrontal cortex could play a pivotal function in regulating the affect associated with the painful sensation (Lorenz et al., 2003).

The aim of the present functional magnetic resonance imaging (fMRI) study was to specify the brain correlates to the perceptions of thermal intensity, of pain intensity and of emotional context.

Materials and methods

Participants

Ten right-handed healthy volunteers (5 female, 5 male), aged 21 ± 3 years (mean \pm SD), without history of chronic pain, neurological or psychiatric disease participated in the experiment. They were not taking analgesic or any psychotropic drugs during the experimental period. They gave written informed consent and received financial compensation for their participation to the study that was approved by the local Ethics Committee.

Stimuli, task and experimental design

Somatosensory thermal stimuli were delivered through a MRI-compatible thermode (TSA-2001, Medoc, Ramat Yishai, Israel) applied on the participant's left hand. The temperature on the 30 mm² Peltier probe was continuously maintained at 33 °C and rose in 2 s to either 42 °C (warm: non-nociceptive stimulation temperature) or 48 °C (heat: nociceptive stimulation temperature). Then the plateau temperature was delivered for 2 seconds and felt down to basal level in 2 s. Warm and heat stimuli were delivered in a pseudo-random order, and the participants were unaware of what would be the next temperature.

Thermal stimuli were systematically preceded by the visual presentation of one of the 120 images from the IAPS database (Lang et al., 2008, see **supplementary table**). Half of the pictures was emotionally negative (depicting aggressions, mutilations, animals attacks, etc.; valence: 2.03 ± 0.57 , arousal: 6.17 ± 0.76) and the other half was selected for their neutral content (depicting landscapes, love, persons, food, abstract figures, etc.; valence: 5.78 ± 0.66 , arousal: 5.07 ± 0.9). Arousal was intrinsically different between negative and neutral images because of an existing attentional bias toward non-neutral stimuli (Pourtois et al., 2004).

To maintain a similar visual input over the whole experiment, 4 scrambled meaningless images unrelated to the IAPS database were presented during the rest condition. Images were projected onto a screen (70 x 90 cm) that was facing the participants and that was seen at a distance of 4.5 m by means of mirrors placed on the headcoil.

Images were explicitly presented for 3 s, and their presentation started 2 s before the beginning of thermal stimulation. This design was chosen because of a prior experience showing that visual and thermal stimulation had to be presented consecutively (rather than simultaneously) to induce a

modulation of pain ratings (Godinho et al., 2011). Rating phase started with the end of the plateau and ended when the temperature of the thermode returned to baseline. Participants were instructed to rate their pain during the presentation of a green square superimposed on a scrambled image for 2 s (**figure 1**). They were asked to indicate with their right hand, using a predefined manual code, the perceived intensity on a five points scale: 1 = no sensation; 2 = warm (non-painful) sensation, 3 = soft pain, 4 = moderate pain, 5 = the highest pain. Between conditions, participants were instructed to stay at rest without task for randomized periods of 3.2 to 9.7 s (mean delay: 5.6 ± 2 s).

The experimental design included a total of 120 trials distributed across 8 sessions of 15 trials, each session lasting only 4 minutes because of memory limitation on the hard disk of the scanner. The total length of the experiment was 1 hour. 42 °C and 48 °C temperatures as well as neutral and negative images were pseudo-randomized over the entire experiment.

Data acquisition

Brain imaging was conducted on a 1.5 T MR scanner (Symphony Maestro Class, Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany). Blood oxygenation level dependent (BOLD) images were recorded using a single shot echo planar imaging sequence (repetition time: 2600 ms, echo time: 50 ms, flip angle: 90°, field of view: 256 mm, imaging matrix: 64 x 64, 27 axial slices, 4 mm thick). An anatomical image was also collected for each participant (MPRAGE; inversion time: 920 ms, repetition time: 1780 ms, echo time: 4.33 ms, flip angle: 90°, field of view: 256 mm, imaging matrix: 256 x 256).

Data analysis and statistics

fMRI data were analyzed using SPM8 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, UK). The first three brain volumes of each session were discarded from the analyses to account for stabilization of magnetization. The functional images were corrected for slice time acquisition. The remaining functional images were then realigned and resliced. The anatomical image was co-registered with the mean realigned image and then normalized to the standard T1 MNI (Montreal Neurological Institute) template. The normalization parameters were applied to the functional images which were resampled to 3 mm of isotropic voxel size and spatially smoothed using an isotropic Gaussian kernel of 8 mm full-width half-maximum. High-pass filtering (cutoff period of 120 s) was applied to reduce the effect of slow signal drifts and the serial correlation was compensated by “prewhitening” the data with a first-order autoregressive model (AR1).

Negative			Neutral		
image #	valence	arousal	image #	valence	arousal
1120	3.79	6.93	1121	5.79	4.83
1205	3.65	5.79	1390	4.5	5.29
1300	3.55	6.79	1560	5.97	5.51
1525	3.09	6.51	1640	6.16	5.18
2095	1.79	5.25	1650	6.65	6.23
2205	1.95	4.53	1850	6.15	4.06
2352.2	2.09	6.25	2191	5.3	3.61
2730	2.45	6.8	2220	5.03	4.93
2750	2.56	4.31	2230	4.53	4.13
2800	1.78	5.49	2351	5.49	4.74
3000	1.55	7.26	2410	4.62	4.13
3005.1	1.63	6.2	2435	5.84	3.94
3010	1.71	7.16	2487	5.2	4.05
3015	1.52	5.9	2600	5.84	4.16
3030	1.91	6.76	2616	5.97	4.96
3053	1.31	6.91	2635	5.22	4.42
3060	1.79	7.12	2780	4.77	4.86
3061	2.32	5.28	4100	6.11	4.39
3062	1.87	5.78	4613	5.34	4.66
3063	1.49	6.35	5395	5.34	4.23
3064	1.45	6.41	5455	5.79	4.56
3068	1.8	6.77	5535	4.81	4.11
3069	1.7	7.03	5622	6.33	5.34
3071	1.88	6.86	5626	6.71	6.1
3080	1.48	7.22	5628	6.51	5.46
3100	1.6	6.49	5661	5.96	4.15
3101	1.91	5.6	5890	6.67	4.6
3102	1.4	6.58	5900	5.93	4.38
3110	1.79	6.7	5920	5.16	6.23
3120	1.56	6.84	5940	4.23	6.29
3130	1.58	6.97	5950	5.99	6.79
3168	1.56	6	7182	5.16	4.02
3170	1.46	7.21	7195	6.02	4.54
3180	1.92	5.77	7195	6.02	4.54
3181	2.3	5.06	7238	6.43	4.17
3230	2.02	5.41	7284	6.21	4.06
3261	1.82	5.75	7289	6.32	5.14
3266	1.56	6.79	7291	6.35	4.81
3300	2.74	4.55	7351	5.82	4.25
3301	1.8	5.21	7402	5.98	5.05
3350	1.88	5.72	7501	6.85	5.63
3400	2.35	6.91	7550	5.27	3.95
3530	1.8	6.82	7560	4.47	5.24
3550	2.54	5.92	7600	5.9	5.5
3550.1	2.35	6.29	7620	5.78	4.92
6313	1.98	6.94	7640	5	6.03
6831	2.59	5.55	8031	6.76	5.58
6838	2.45	5.8	8160	5.07	6.97
9040	1.67	5.82	8178	6.5	6.82
9252	1.98	6.64	8179	6.48	6.99
9253	2	5.53	8191	6.07	6.19
9265	2.6	4.34	8192	5.52	6.03
9405	1.83	6.08	8251	6.16	6.05
9410	1.51	7.07	8260	6.18	5.85
9420	2.31	5.69	8280	6.38	5.05
9433	1.84	5.89	8341	6.25	6.4
9490	3.6	5.57	8460	6.4	4.55
9570	1.68	6.14	8475	4.85	6.52
9635.1	1.9	6.54	8600	6.38	4.26
9910	2.06	6.2	8620	6.04	4.6

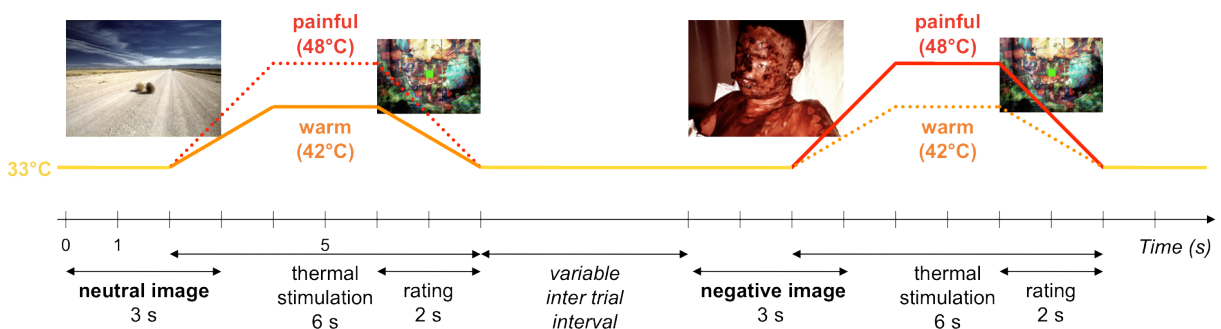
Supplementary table

List of the 120 IAPS images.

Negative and neutral IAPS (International Affective Picture System) images used in the experiment are listed with their respective valence and arousal values.

Figure 1: Experimental design.

Time-course of trial cycles: Image presentation (negative or neutral) lasted for 3 s and was followed by a thermal stimulation (warm, 42 °C or heat, 48 °C) of the left hand. Thermal stimulations lasted for 6 s (plateau: 2 s). Then, during the return to basal temperature (33 °C), participants were invited by a superimposed green square to score the intensity of the stimulation during a two seconds period by using a manual rating with the right hand. Between cycles, variable inter-trial intervals were used to limit habituation and anticipation.



First, we performed single-subject analyses in which task-related neural activities for the three phases (Visual, Thermal, Rating) were modeled with a canonical hemodynamic response function (HRF). Since we wanted to investigate the global effect of pain perception across sessions and across conditions (emotional context or stimulus intensity), we collapsed all the thermal stimulations into one regressor and then defined 3 parametric modulations. The first and the second modulations were categorical: emotional context (e/Th : neutral or negative) and temperature (t/Th : 42 °C or 48 °C), respectively. The third parametric modulation was the perceived intensity ratings (p/Th : 1 to 5 digit code provided by the participants in the rating phase). The 8 sessions were merged into one and the session effect was modeled as nuisance covariate by using specific regressors. In the same way, visual stimulation (V) was parametrically modulated by emotional context (e/V : negative or neutral) and by arousal value (a/V : according to the IAPS definition). Thus, V and Th contrasts described a BOLD response regardless of pain intensities, temperatures, emotional contexts and arousal values. A total of eight individual contrasts were computed and were used to perform a random-effects analysis (one sample t-tests). All the results were thresholded at a voxel level of $p < 0.001$ (uncorrected), but only clusters surviving the $p < 0.05$ threshold (family wise error [FWE] correction for multiple comparisons) were considered.

Intensity ratings (represented as mean \pm SD) were compared with non-parametric tests due to the categorical class of the data; false discovery rate (FDR) correction was used to deal with multiple comparisons.

Results

Behavioral analysis

The analysis of intensity ratings with a non-parametric two-ways analysis of variance (Friedman χ^2 test, first factor: temperature, non-nociceptive or nociceptive; second factor: emotion, neutral or negative) revealed significant effects of experimental conditions ($\chi^2 = 26.16$, $df = 3$, $p < 0.001$). Mean intensity ratings were significantly stronger at high temperature (48 °C, neutral: 2.90 ± 0.55 , negative: 3.09 ± 0.65) compared to warm (42 °C, neutral: 1.37 ± 0.24 , negative: 1.57 ± 0.37) stimulations (paired Wilcoxon tests, $p = 0.002$ FDR). Ratings were significantly higher after a negative, compared to a neutral emotional context (paired Wilcoxon tests, $p < 0.05$ FDR) (**figure 2**).

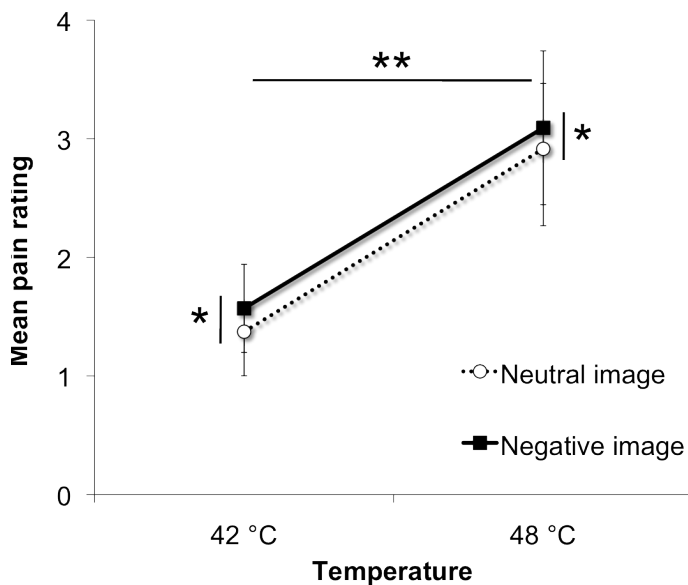


Figure 2: Effect of emotion and thermal stimulation on intensity ratings.

Mean perceived intensity ratings (\pm SD) in the neutral (dotted line) and negative (solid line) emotional context, as a function of stimulation temperature (warm, 42 °C or heat pain, 48 °C). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.005$.

Visual stimulations (V) elicited activations in the occipital cortex (Brodmann area [BA] 18), extending to the fusiform gyrus bilaterally (BA 19) and to superior parietal cortex (BA 7) bilaterally. Lateral prefrontal cortex activations were observed bilaterally as well as medial prefrontal and premotor cortices activations (**figure 3a, table 1a**). Emotional context succeeded in modulating BOLD signal response to visual stimulations (e/V) in the occipital-temporal junction bilaterally (BA 19/37) (**figure 3b, table 1b**). Arousal modulation did not elicit any significant modulation of the BOLD response.

The contrast depicting thermal stimulations (Th) showed activations in the anterior and mid insula bilaterally, S2 bilaterally and S1-M1 contralateral to thermal stimulation. Other activations were found in supplementary motor area (SMA), midcingulate cortex (MCC, BA 24), posterior parietal cortex bilaterally (supramarginal gyrus, BA 40), dorsolateral prefrontal (DLPF) cortex bilaterally, caudate nucleus and thalamus bilaterally (**figure 4a, table 2**). BOLD signal during the thermal stimulation was modulated by the emotional context (e/Th), by the real intensity of thermal stimulation (t/Th), and also by the perceived intensity of stimulation (p/Th). The increase of BOLD signal is correlated with the increase of perceived intensity scores (p/Th) in the anterior insula bilaterally, midcingulate cortex (MCC), SMA, precuneus and left prefrontal cortex. Bilateral S1, left inferior parietal cortex, anterior midcingulate cortex (aMCC according to Vogt, 2005), SMA and ipsilateral (left) anterior insula were significantly more activated by heat pain than by warm stimuli (t/Th). Negative images activated more than neutral images (e/Th) right inferior parietal lobe (IPL), precuneus and perigenual ACC (pACC according to Vogt, 2005) (**figure 4b, table 3a-c**).

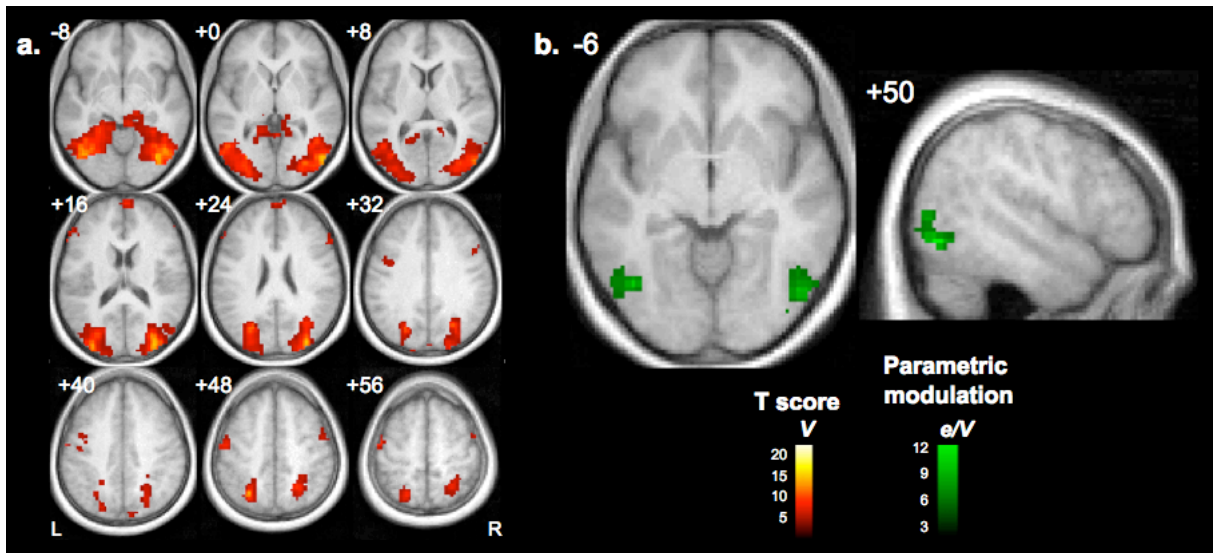


Figure 3: BOLD signal changes during image presentation.

(a) Group random-effects results show an increased BOLD signal (activations) elicited by viewing images contrasted to the rest condition (V, hot). (b) BOLD signal response modulated by emotional context (e/V, green). Results are thresholded at a voxel level of $p < 0.001$ and a cluster level of $p < 0.05$ FWE corrected.

Region	Side	Cluster p (corr)	Voxels (size)	Peak T	MNI coordinates x y z
a. V					
Extrastriate (BA 19)	R	< 10 ⁻³	3934	20.02	33 -85 22
				14.44	36 -88 13
				13.61	51 -76 4
Premotor	L	< 10 ⁻³	110	8.23	-48 -7 55
				7.42	-60 -10 43
				6.28	-36 2 34
DLPF	L	0.018	38	8.07	-57 29 22
Medial frontal	R	0.001	61	8.04	0 62 22
Premotor	R	0.038	32	7.00	51 2 52
DLPF	R	0.038	32	6.15	60 23 25
				5.97	48 11 28
				5.29	54 38 19
b. e/V					
Temporo-occipital junction (BA 37/19)	R	< 10 ⁻³	86	12.64	51 -70 -8
				6.45	51 -73 4
				4.95	42 -82 -5
Temporo-occipital junction (BA 37/19)	L	< 10 ⁻³	98	9.06	-45 -67 -2
				8.15	-54 -73 1
				6.43	-45 -70 7

Table 1: Coordinates of activation peaks during visual stimulation.

(a) Group random-effects results for visual stimulation contrast (V, visual presentation of the images – rest). (b) There is a modulation of BOLD signal by emotional context (e/V). Results are thresholded at a voxel level of $p < 0.001$ and a cluster level of $p < 0.05$ FWE corrected. BA: Brodmann area, DLPF: dorsolateral prefrontal cortex.

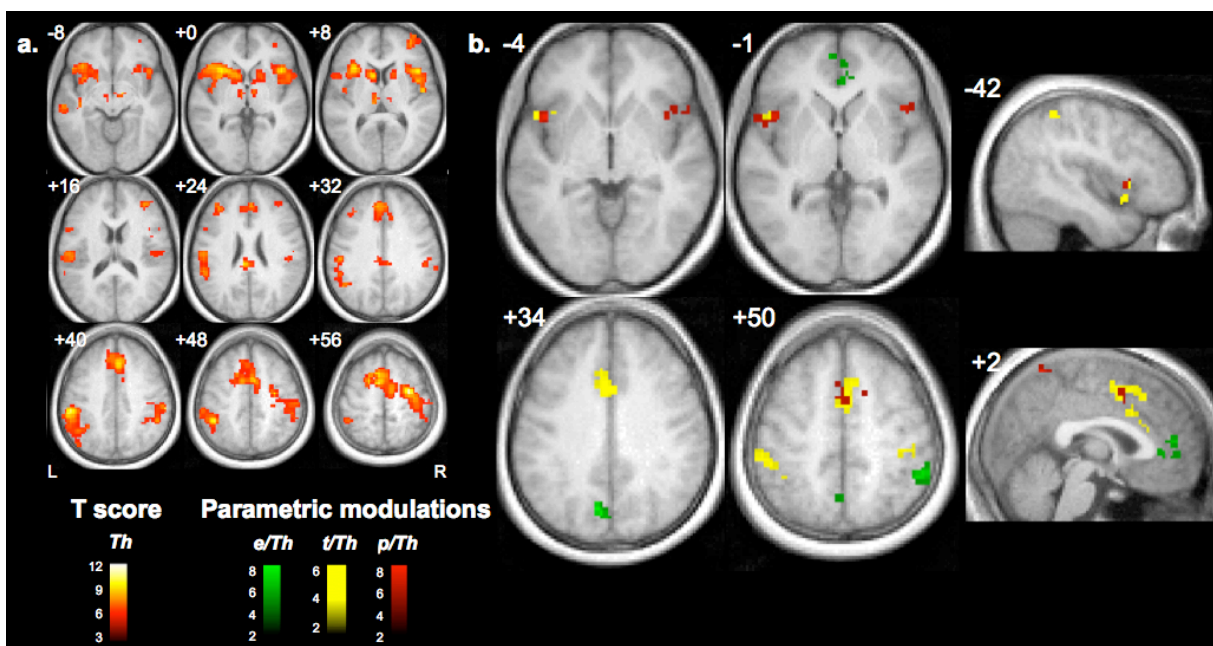


Figure 4: BOLD signal changes during thermal stimulation.

(a) Group random-effects results show an increased BOLD signal (activations) elicited by thermal stimulations to rest (*Th*, in yellow to red color). (b) Significant activations are superior during negative than neutral contexts (*e/Th*, green), in nociceptive versus warm stimulations (*t/Th*, yellow) and there is a linear correlation between intensity rating and BOLD response to stimulation (*p/Th*, red). Results are thresholded at a voxel level of $p < 0.001$ and a cluster level of $p < 0.05$ FWE corrected.

Region	Side	Cluster p (corr)	Voxels (size)	Peak T	MNI coordinates		
				T	x	y	z
<i>Th</i>							
Premotor	R	$< 10^{-3}$	1557	12.58	33	-7	58
SMA	L			9.40	-6	2	55
IPL (BA 40)	R			9.25	60	-28	40
IPL (BA 40)	L	$< 10^{-3}$	697	10.38	-57	-31	43
				9.28	-42	-43	49
				7.07	-33	-49	37
Thalamus	R	$< 10^{-3}$	498	9.75	12	-10	-5
Anterior insula	R			8.86	42	17	4
				8.08	42	11	13
Anterior insula	L	$< 10^{-3}$	684	9.26	-33	20	4
				8.64	-33	8	-5
				8.19	-39	-1	-2
pMCC	L	0.003	67	8.43	-6	-31	25
	R			6.62	6	-31	28
Frontal mid	L	0.014	50	7.72	-36	32	28
Frontal mid	R	$< 10^{-3}$	131	7.69	39	41	19
				6.92	36	50	7
				5.89	39	59	7
IPL (BA 40)	L	0.017	48	7.63	-57	-25	-14

Table 2: Coordinates of activation peaks during thermal stimulation.

Group random-effects results for thermal stimulation contrast (*Th*, thermode application on the skin – rest). Results are thresholded at a voxel level of $p < 0.001$ and a cluster level of $p < 0.05$ FWE corrected. BA: Brodmann area, IPL: inferior parietal lobe, pMCC: posterior part of the midcingulate cortex, SMA: supplementary motor area.

Region	Side	Cluster p (corr)	Voxels (size)	Peak T	MNI coordinates		
				T	x	y	z
a. <i>p/Th</i>							
Precuneus	L	$< 10^{-3}$	92	9.01	-6	-52	61
	R			7.01	9	-52	64
SPL	R			6.50	21	-55	64
Anterior insu	L	0.018	37	8.43	-45	11	-2
MCC	R	0.001	62	7.50	12	11	40
SMA	L			4.96	0	5	49
				4.74	-3	17	55
Anterior insu	R	0.011	41	6.73	39	11	-8
				5.51	45	17	1
				4.59	51	14	-8
Premotor	L	0.005	47	6.57	-27	-13	67
SMA	L			6.26	-18	2	64
b. <i>t/Th</i>							
MCC	L	$< 10^{-3}$	140	6.98	-3	11	34
SMA	R			6.24	3	5	49
ACC	L			6.19	-6	20	31
S1	R	0.016	42	6.83	54	-22	58
				5.40	42	-28	52
IPL	L	0.002	64	5.82	-51	-51	-31
				5.40	-48	-37	49
				5.22	-39	-43	52
Anterior insu	L	0.032	36	5.48	-48	11	-8
				4.79	-39	14	-2
c. <i>e/Th</i>							
precuneus	L	0.002	48	8.17	-9	-70	34
				4.65	0	-61	49
				4.63	-6	-85	22
IPL (BA 40)	R	$< 10^{-3}$	65	7.77	57	-34	46
				7.45	54	-43	52
				4.87	45	-55	46
pACC	R	0.003	44	6.05	3	47	10
	L			5.61	-6	53	1
pACC	R	0.032		5.15	3	38	1

Table 3: Coordinates of activation peaks for parametric modulations during thermal stimulation.

(a) Group random-effects results for the modulation of BOLD signal by perceived intensity ratings (*p/Th*), (b) by stimulation temperature (*t/Th*) and (c) by emotional context (*e/Th*) during thermal stimulation. Results are thresholded at a voxel level of $p < 0.001$ and a cluster level of $p < 0.05$ FWE corrected. BA: Brodmann area, ACC: anterior cingulate cortex, IPL: inferior parietal lobe, MCC: midcingulate cortex, pACC: perigenual anterior cingulate cortex, SMA: supplementary motor area, SPL: superior parietal lobe.

Discussion

In the present study, we succeeded to observe an increase of the perception of pain intensity ratings by presenting negative emotional images to the participants immediately before the application of a thermal stimulation. This finding replicates previous results (Godinho et al., 2006) demonstrating that negative emotion can increase pain intensity. The present study extended these results to innocuous ranges since the negative emotional modulation observed for nociceptive inputs (48 °C), was also found for non-painful events (42 °C). Thus, the negative influence of the emotional context on the perception of a somatosensory stimulus is not specific to nociception.

Emotional context, stimulation temperature and perceived intensity ratings were found to modulate different neural networks. Visual stimulations (*V*) elicited expected activations in occipital and posterior parietal cortices that are bilaterally involved in visual information processing, while emotional processing of IAPS images involved the temporo-occipital junction bilaterally. The emotionally negative content (compared to neutral context, *e/V*) provided activations that replicated those from others with IAPS images (Lane et al., 1997; Schienle et al., 2006). In the Godinho et al. (2006) study having used dipole modeling of event-related potential (ERP) data and a similar emotional manipulation, negative images were also found to activate specifically the temporo-occipital cortex but only on the right hemisphere. Several confounds may explain such differences in the lateralization of activation: images in the present study had a body-related content and therefore possibly includes (bilateral) activities related to face perception (Botvinick et al., 2005), body representation (Cavanna and Trimble, 2006; Lloyd et al., 2006), body space and/or attention to the painful body space (Peelen and Downing, 2007). This temporo-occipital activation was interpreted as a support of emotional processes (Adolphs, 2002) and confirms that the presented images effectively modulated emotional state of the participants.

Thermal stimulations (*Th*) activated the regions usually found in response to painful stimuli. A first set of brain areas which intensity of BOLD signal changes correlated with perceived intensity ratings (*p/Th*) corresponded with anterior insular cortices and ACC. This is a well-established finding that activations in the anterior insular cortices (Bornhövd et al., 2002; Coghill et al., 1999) and ACC (Büchel et al., 2002; Coghill et al., 1999) correlated (almost linearly) with the perceived intensities. Another subset of brain areas that was isolated here likely reflects how the brain segregates between 42 °C and 48 °C (*t/Th*), independently of whether the stimuli were considered by the participants as painful or not. In this respect, it is interesting that these areas included the ipsilateral (left) anterior insula, anterior cingulate and contralateral (right) S1 cortices, in agreement with a pattern of sensory discriminative function (Bornhövd et al., 2002; Büchel et al., 2002).

What was new in this study was that after an exposure to negative emotional context, the brain activity might be influenced, even during a delayed thermal stimulation. It was expected, from previous psycho-physiological results, that the emotional context could interact with stimulation intensity, but only in the painful range (Godinho et al., 2006; Valeriani et al., 2008). Such a specificity for pain was not replicated here since emotional context also influenced intensity rating scores for 42 °C stimulations. A third set of brain areas that was associated with differential responses according to the emotional context during thermal stimulation (*e/Th*) concerned (whatever the stimulation intensity) the right IPL, the precuneus and the pACC.

According to these findings, it is conceivable that the emotional context could influence as a priming the activities of other brain regions responding to painful stimuli, *via* the pACC. The pACC is known to be involved in affective processing of pain (Vogt, 2005). As previously shown for several conditions that concur to reduce pain, the pACC is a key structure for pain control and modulation (Garcia-Larrea and Peyron, 2007). The right IPL may also play a role in the modulation of intensity perception by negative images as it is involved in sustaining attention (Singh-Curry and Husain, 2009). fMRI data suggest further that this modulation of pain perception by negative emotional images is probably mediated through parallel processes since nociceptive, intensity coding and emotional processing during thermal stimulation involved different brain areas. The lack of interaction between emotional and pain processing provides additional arguments in favor of parallel processes in a very similar manner as for attentional processes (Peyron et al., 1999) and processing of compassion hyperalgesia (Godinho et al., 2011). It seems that the effect of the emotional context on sensory stimulations could extend beyond pain sensations, even to thermal stimulations within non-noxious ranges. However the involvement of areas such as IPL and pACC suggests that the emotional modulation of pain perception is possibly driven by multimodal integration and parallel integrations of both visual and sensory information.

Acknowledgments

This work was supported by an Institut UPSA de la Douleur grant (appel d'offre 2003-2004). VL is supported by the Research Funds of the French-speaking community of Belgium (F.R.S.-FNRS) and the Research Foundation Flanders (FWO), Belgium.

3.1.3 Analyse complémentaire : étude n°1

Objectifs

L'objectif de l'analyse de connectivité effective (avec la méthode DCM) est de pouvoir tester où et comment un contexte émotionnel négatif peut influencer la communication entre les différentes régions du réseau cérébral impliquées dans la perception visuelle-émotionnelle et thermo-nociceptive. Nous avons construit un réseau cérébral en accord avec les résultats des analyses précédentes (SPM) et les hypothèses *a priori* que nous avons sur l'effet des émotions négatives à deux intensités de stimulation différentes. L'analyse DCM va permettre de tester les connexions et/ou les régions sur lesquelles le contexte émotionnel négatif et la stimulation thermique pourraient avoir une influence, mais elle permettra aussi de définir si leur influence respective est activatrice ou inhibitrice.

Méthode

Extraction des VOIs

Nous avons utilisé le design en modulations paramétriques défini précédemment pour extraire les données utilisées dans l'analyse DCM8 dans SPM8. Le choix de l'inclusion de la SMA, du pACC, du aMCC et des deux insulæ dans l'analyse DCM a été guidé par les résultats obtenus pour les modulations paramétriques dans l'analyse de groupe. Au niveau individuel, les séries temporelles de chaque volume d'intérêt (VOI, région incluse dans le modèle) ont été extraites en prenant une sphère de 5 mm de rayon, centrée sur la coordonnée maximale correspondant à l'analyse de groupe (seuil : $p < 0.001$ non-corrigé). La SMA a été identifiée sur le contraste *Th*, aux coordonnées MNI $x = 3, y = 8, z = 52$; les insulæ sur le contraste *p/Th* à $x = -45, y = 11, z = -2$ pour l'insula ipsilatérale et à $x = 39, y = 11, z = -8$ pour l'insula controlatérale ; le aMCC sur le contraste *t/Th* à $x = -3, y = 11, z = 34$ et le pACC sur le contraste *e/Th* à $x = 0, y = 46, z = 4$. Tous les sujets ont été inclus dans l'analyse DCM.

Construction et comparaison des modèles

Le modèle anatomique comporte 5 régions reliées par des connexions intrinsèques. Tous les modèles possédaient les mêmes connexions réciproques entre les régions (**figure 5**).

Nous avons testé les variantes de modèles suivantes :

- 1/ l'input externe (stimulation thermique) pouvait avoir une influence sur l'activité de l'insula ipsilatérale (INS-i), controlatérale (INS-c) ou les deux insulæ à la fois ;
- 2/ nous avons émis l'hypothèse que la température de la stimulation influait sur l'activité insulaire et nous avons testé son influence soit directement sur l'INS-c soit l'INS-i soit sur les 2 insulæ mais aussi sur les connexions entre les deux insulæ ;

3/ nous avons émis l'hypothèse que le contexte émotionnel influait sur l'activité du pACC et nous avons testé son influence sur les connexions soit entre les insulæ et le pACC, soit entre SMA et pACC ou encore entre aMCC et pACC.

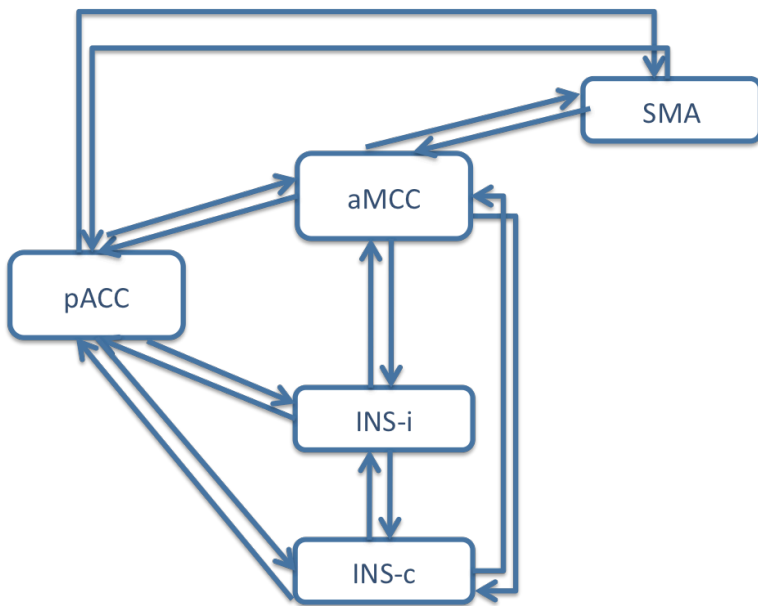


Figure 5 : Structure de base des modèles. Tous les modèles ont été construits avec les mêmes régions et les mêmes connexions intrinsèques. Seuls l'input externe et les modulations étaient différents.

Au total, 57 modèles ont ainsi été définis et comparés les uns par rapport aux autres par la méthode BMS (*Bayesian Model Selection*, Penny et al., 2004 ; Stephan et al., 2009) à effets aléatoires, elle retourne deux probabilités (*expected posterior probability* et *exceedance probability*) sur un graphe ; plus ces deux probabilités sont élevées, meilleur est le modèle (**figure 6**).

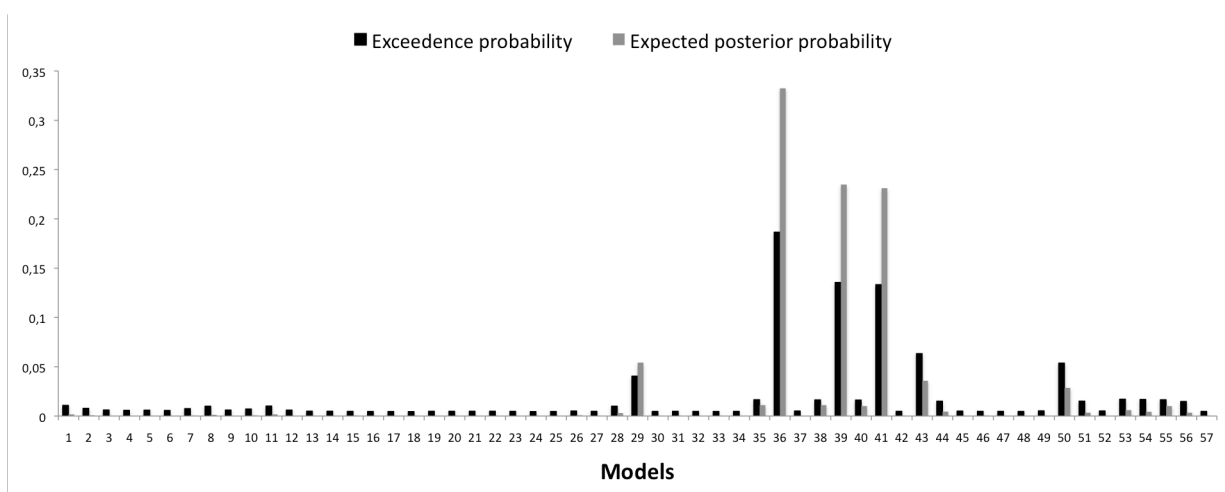


Figure 6 : Comparaison des différents modèles par BMS (DCM8). Le meilleur modèle est le n°36, qui a les probabilités les plus élevées par rapport à tous les autres modèles.

Résultats

Le meilleur modèle est le numéro 36. Le BMA (*Bayesian Model Averaging*) permet de rendre compte des paramètres moyens du meilleur modèle (**figure 7**). Un paramètre positif rend compte d'une activation tandis qu'un paramètre négatif rend compte d'une inhibition. Les différentes possibilités de connexions intrinsèques n'ont pas été testées, mais celles qui ont été choisies sont représentées sur la **figure 7**.

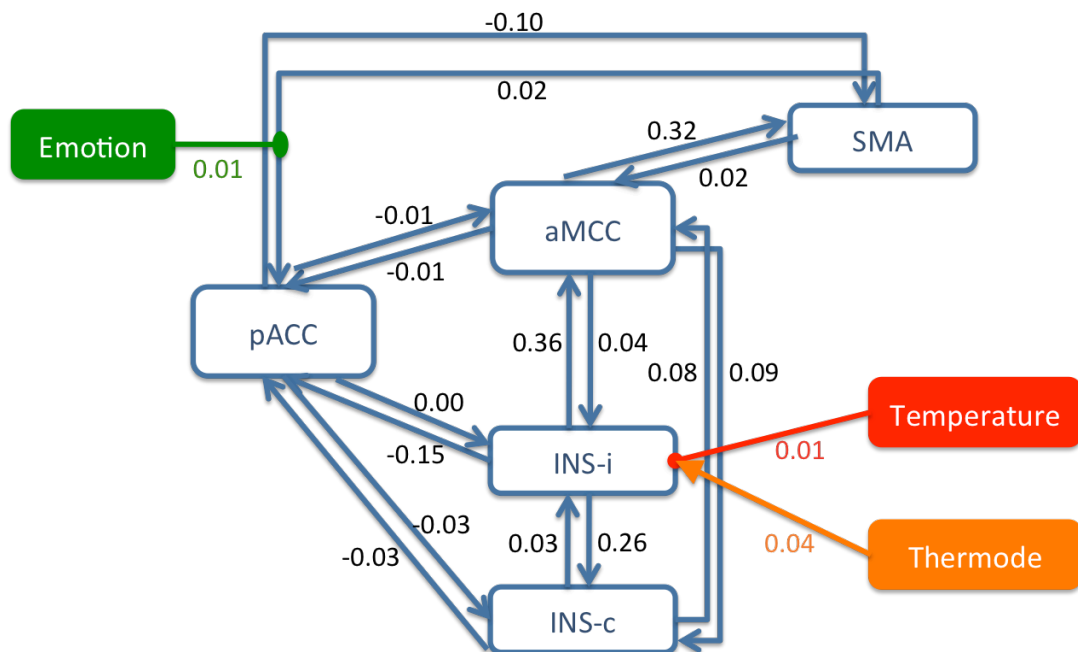


Figure 7 : Meilleur modèle moyen (BMA).

Le meilleur modèle est représenté avec les paramètres moyens qui le caractérisent. Thermode : entrée externe de la stimulation thermique, Temperature : modulation par la température de stimulation, Emotion : modulation par le contexte émotionnel ; aMCC : partie antérieure du cortex cingulaire moyen, INS-c : insula controlatérale, INS-i : insula ipsilatérale, pACC : partie prégnénaue du cortex cingulaire antérieur, SMA : aire motrice supplémentaire.

Conclusions

Le meilleur modèle montre que l'entrée externe ainsi que la modulation de la température de stimulation ont un effet faible mais excitateur sur l'insula ipsilatérale. Tandis que la modulation du contexte émotionnel a un effet faible sur la connexion activatrice allant de la SMA au pACC. Le modèle testé est complexe, mais prend en compte des régions qui sont importantes dans le traitement cérébral et la modulation de la douleur par le contexte émotionnel. Contrairement à ce qui était attendu, l'entrée externe influence de préférence l'insula ipsilatérale (et non pas controlatérale ou des deux côtés). Comme observé dans le contraste *e/Th*, la modulation émotionnelle passe par le pACC et l'analyse de connectivité nous permet de dire qu'un contexte émotionnel négatif aura tendance à renforcer l'influence activatrice que la SMA peut avoir sur le pACC, qui par ailleurs a plutôt une influence inhibitrice sur les autres régions. Les résultats de cette analyse de DCM sont un argument supplémentaire montrant l'implication du pACC dans la modulation émotionnelle de la perception douloureuse.

3.2 Effet d'un leurre de la durée de stimulation : étude psychophysique

3.2.1 Résumé

Remarque

Les données de la première partie de l'étude comportementale (horloges en couleur) ont été acquises auprès des 36 volontaires sains par S. Bassard et F. Torche. L'épreuve de l'article publié dans PAIN (2011) se situe en **Annexe 1**.

Objectif

L'objectif de cette étude est d'évaluer les modulations de la perception douloureuse par l'effet temps.

Méthodes

Pour manipuler l'appréciation de la durée du stimulus nous avons utilisé un artifice technique (horloge) permettant à 36 volontaires sains de savoir si la durée de la stimulation thermique va être longue ou courte, alors qu'en réalité elle a toujours la même durée. Pour chaque stimulation, nous avons recueilli l'intensité de la douleur perçue par les volontaires.

Résultats & Discussion

L'illusion d'une stimulation plus courte (alors qu'elle ne l'est pas) est associée à une intensité de douleur perçue comme plus faible. Il est donc possible de moduler la perception douloureuse d'une stimulation dont l'intensité physique n'a pourtant pas été modifiée.

3.2.2 Article étude n°2 : psychophysique

Published in PAIN 152 (2011), pp. 230-234

How a clock can change your pain? The illusion of duration and pain perception

**Florence B. Pomares^{a,b,c}, Christelle Creac'h^{a,b,c}, Isabelle Faillenot^{c,d},
Philippe Convers^{a,c}, Roland Peyron^{a,b,c}**

^a Department of Neurology, CHU, 42055 Saint-Etienne, France

^b Pain Center, CHU, 42055 Saint-Etienne, France

^c INSERM U879, UCB Lyon1, UJM Saint-Etienne, France

^d CMRR Unit, CHU, 42055 Saint-Etienne, France

Abstract

The intensity of experimental pain is known to be dependent on stimulation duration. However, it remains unknown whether this effect arises largely from the actual stimulus duration or is substantially influenced by the subject's perception of the stimulus duration. In the present study, we questioned this issue by misleading the perception of the duration of pain in a population of 36 healthy volunteers stimulated with a thermode. To this aim, time was signified by a clock with rotating hands in which imperceptible differences in speed rotation had been introduced. Subjects were therefore immersed in 2 comparative conditions in which time was manipulated to provide the illusion of either long or short duration of the painful stimulus. In a first condition ("full-length" clock), participants were instructed that pain would last for a complete revolution of the clock's hands, whereas in the second condition ("shortened" clock), revolution was reduced by 25 %. Although the intensity and the real duration of stimulation were identical in both conditions, the intensity of pain was significantly reduced when the perception of time was misleadingly shortened by the manipulated clock. This study suggests that the perceived duration of a noxious stimulation may influence the perceived intensity of pain.

Introduction

Experimental studies on pain generally deliver acute painful stimuli (i.e., brief events) to normal volunteers. Intuitively, it seems logical that pain duration could influence the intensity of pain perception in a sense that the longer is the pain stimulus, the higher should be the pain perception. By manipulating the representation of time in normal volunteers during a painful stimulation, our study aimed at investigating the time dimension as a part of pain perception.

The influence of various contexts on pain intensity has been investigated previously. Emotion (i.e., seeing unpleasant pictures during painful stimuli) was found to enhance pain ratings (Godinho et al., 2006) and to decrease pain threshold (Meagher et al., 2001), whereas distracting the subject from pain with a cognitive task was found to reduce pain ratings (Petrovic et al., 2000; Valet et al., 2004). Anxiety (Ploghaus et al., 2001) and anticipation of pain, particularly for expected stimuli (Sawamoto et al., 2000) have also been found to increase pain intensity. Only a few studies assessed the relationships between pain perception and time. It is generally admitted that long-duration stimuli are perceived as more painful than short stimuli for high temperatures (Koyama et al., 2004). What has been shown is that time perception was underestimated as the subjects experienced pain (Hellström and Carlsson, 1997; Jokic-Begic et al., 2009; Thorn and Hansell, 1993) and that pain coping strategies integrating temporal information in children can help to decrease pain rating (Coldwell et al., 2002), but the reverse (i.e., the effect of time perception on pain intensity) has not been investigated so far. Time perception is known to involve contextual information, and duration estimation is known to rely, for example, on stimulus size (Xuan et al., 2007), velocity and speed (Kanai et al., 2006), visual information (Johnston and Nishida, 2001; Johnston et al., 2006), auditory clues (Droit-Volet et al., 2004), or interaction between modalities (Van Wassenhove et al., 2008). Subjective perception of time can also be distorted by emotional context (Droit-Volet and Meck, 2007; Meagher et al., 2001) and attention (Chaston and Kingstone, 2004; Jokic-Begic et al., 2009; Tse et al., 2004); we used these properties to modify subjective duration of our painful stimulations.

In the present study, we investigated how the perception of time may influence the intensity of perceived pain: by using a misleading representation of time, participants were immersed in 2 different conditions, relative to the duration of stimulations that were delivered by a heat thermode on the left leg or on the left hand. Compared with a control context in which subjects received a “full-length” nociceptive stimulation, a second context in which they were convinced that they had received a “shortened” stimulation succeeded in modulating (i.e., minimizing) pain perception. Here we present the details of this experiment showing that believing you are suffering for a shorter period of time will decrease your pain intensity.

Methods

Participants

A total of 36 right-handed subjects (18 male and 18 female, age [mean \pm SD] 23.2 \pm 2.85 years) were included in the main study. All were free of treatment and did not practice intensive sport. They were not paid for their participation, and all provided informed consent. Twenty-four additional subjects were included in a complementary study (12 male and 12 female, age 22 \pm 2.98 years). They were paid for their participation, and all provided informed consent. The local ethics committee approved the experimental protocols.

Task and procedure

Thermal stimulations were delivered by a 3 x 3-cm thermal probe (TSA-2001, Medoc). Nociceptive thresholds were determined by methods of limits. Basal temperature, set at 32 °C, rose to individual pain threshold with a slope of 1 °C/s. Subjects had to press a button as the heat temperature reached a painful level. The measure was repeated 4 times. Mean pain thresholds were 45.2 °C \pm 1.46 °C in the main study (range 40.2 to 46) and 44.1 °C \pm 0.68 °C in the complementary study (range 43 to 45.5). In both studies, maximal temperature was set to 47 °C to prevent skin damage.

Subjects received a standardized instruction that there would be 2 painful conditions and that a clock would materialize the course of time. In one condition, the hands of the clock described a complete revolution, whereas in the second condition they described only three-fourths of the revolution (**figure 1**). Subjects were instructed that in this latter condition, pain duration would therefore be reduced by 25%. In the main experiment, this instruction was reinforced by the green color of the shortened clock and by adding a happy-face emoticon, whereas the clock with a complete revolution was filled with a red color and associated with a sad-face emoticon. The aim of this presentation was to convince the subjects that in the context with the shortened clock, the painful stimulation was shorter compared with the context with the full-length clock. Stimulation temperature was set to the individual pain threshold + 1 °C with the thermode applied on the left leg for 30 s (plateau duration, slope 6 °C/s [up] and 8 °C/s [down]). Subjects were kept blinded to the fact that stimulation temperature and duration were kept constant in both conditions. Immediately after each stimulation, the subject was asked to rate the intensity of pain on a 10-cm Visual Analog Scale. To minimize memory bias in their activity of scoring pain, subjects were asked to score their pain immediately after the temperature had returned to baseline. In a first session (passive session), 4 stimulations (2 stimulations with the full-length clock and 2 stimulations with the shortened clock) were delivered to volunteers according to a predefined sequence that was randomly ordered. To minimize the known influence of pain

predictability on pain perception (Salomons et al., 2004) and to exclude confounds that may relate to the chosen or the forced aspects of the decision, we replicated the experiment in a second session in which subjects were asked to choose (active session) the sequence (*i.e.*, the order of the 4 stimulations). Thus, subjects experienced a total of 8 stimulations. The order between passive and active sessions was counterbalanced.

Then, a complementary experiment was designed to exclude the effects of colors and emoticons, and therefore, both full-length and shortened clocks were similarly represented in gray color. The ensuing experiment was then similar to what was performed in the forced session of the main study. Two different lengths of painful stimuli applied on the dorsum of the left hand were tested (either 25 or 15 s) at the individual pain threshold or at the individual pain threshold + 1 °C. Although it could be interesting to investigate the effects of time representation on innocuous stimuli, we preferred not to introduce innocuous intensities of stimulation (below pain threshold) that would have required an additional scoring and would have increased the complexity of the experiment. Subjects were asked to score their pain after the temperature had returned to baseline with a variable delay (jitter) that was introduced between the end of the stimulation and the signal for rating: 2.08 ± 1.38 s) to prepare the rating conditions of the future fMRI experiment in which stimulation should be easily dissociated from scoring.

Time perception

Throughout the main and the complementary experiments, we deliberately omitted investigating explicitly the perception of time and the perception of rotation speed of the hands of the clock by the subjects. Specifically, it would probably have been interesting to assess their own perception of time representation or to compare with a real 75% reduction of stimulus duration. However, we anticipated that orienting attention toward the representation of time and the distortions introduced here would have exposed them to the risk of giving a temporal reference, and therefore possibly the key of the illusion. At the end of the session, for the same reasons, we systematically checked with a vague but standardized question (“Did you notice anything wrong or bizarre with the clocks or the experiment?”) that they did not recognize the illusion and that they were really misled.

Statistical analyses

Statistical analyses were conducted on SPSS (version 16.0.2, SPSS, Inc., Chicago, IL) with parametrical tests. Pain intensity ratings were normally distributed in the 2 x 2 conditions and sessions (Kolmogorov–Smirnov $Z < 0.71$, $P > .05$). Repeated-measures analysis of variance tests were conducted on mean pain ratings. We defined 2 within-subject factors: condition (shortened or full-length) and session (passive or active) in the main study, condition (shortened or full-length) and temperature (pain threshold or pain threshold + 1 °C) in the complementary study. These analyses allowed us to test the main effect of condition, as well as the condition by session/temperature interactions. Student paired t tests were used for post hoc analyses, and P values were corrected for multiple comparisons with the Bonferroni correction, when appropriate ($P_{(corr)}$). To verify whether the illusion was maintained for the short time duration, the 15-s session was analyzed with Student paired t test because these conditions were only manipulated by the condition factor (shortened or full-length).

When necessary, the pain intensity rating obtained in different sessions in the conditions of the full-length clock were averaged together, as well as the pain intensity rating obtained in the conditions of the shortened clock. Results are reported in the text as the mean \pm SD and in **figure 2A and B** as the mean \pm SEM. The significance criterion was set at $P < .05$.

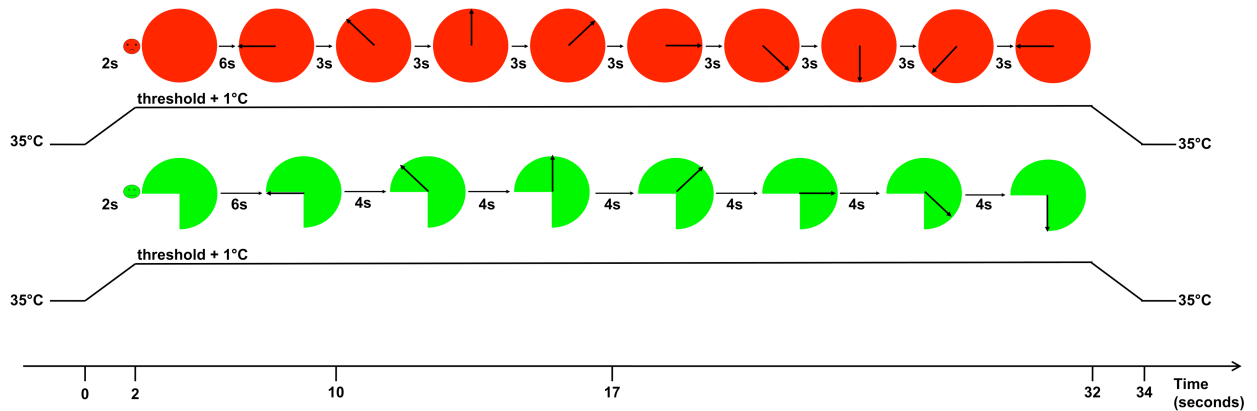


Figure 1: *Experimental design*

In the two conditions, the clock with the smiley was first presented for 2 seconds corresponding to the delay for the temperature to reach the plateau; Then the first hand position on the clock was presented for 6 seconds. In the “shortened” green clock with a happy smiley condition the hand moved every 4 seconds whereas in the “full-length” red clock with a sad smiley condition the hand moved every 3 seconds. After 30 seconds, the temperature felt down to 35°C (baseline) and the clock was removed.

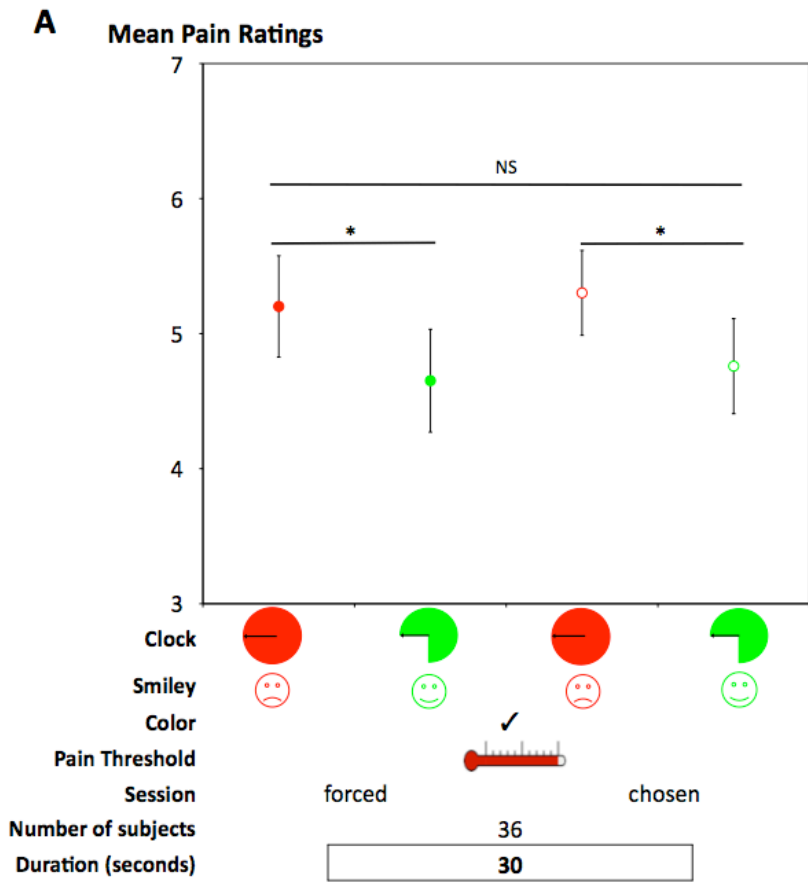


Figure 2A: Main study. Mean pain ratings from 36 subjects were obtained in 2 sessions by 2 conditions. “Full-length” condition corresponds to a red, full clock with a sad smiley and “shortened” condition corresponds to a green, 3/4-full clock with a happy smiley. During the whole experiment, stimulation temperature was set to pain threshold + 1°C and duration to 30 seconds. In both chosen and forced sessions, “shortened” stimulations were perceived as significantly less painful than “full-length” ones. Mean pain ratings (\pm SEM) during chosen sessions did not differ from those recorded in forced sessions.

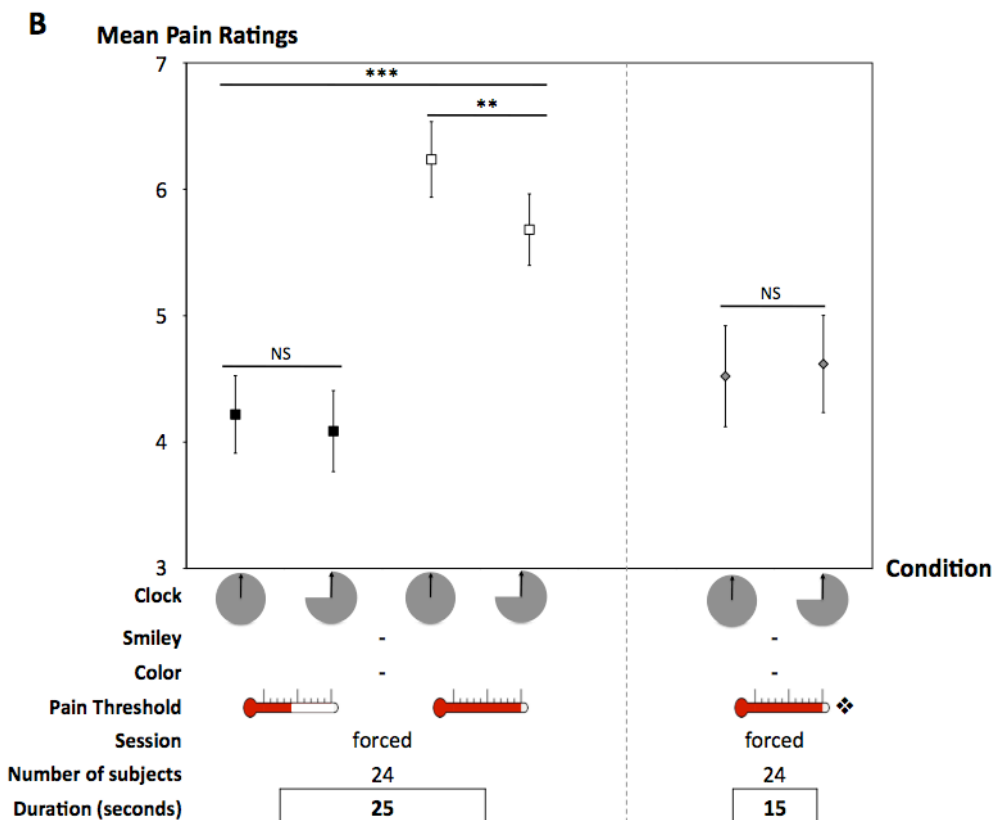


Figure 2B: Complementary study.

Mean pain ratings from 24 subjects were obtained in 2 sessions. “Full-length” condition corresponds to a full clock and “shortened” condition corresponds to a 3/4-full clock, both grey. In one session, stimulation duration was set to 25 seconds and temperature to pain threshold or pain threshold + 1°C. In the other session, stimulation duration was set to 15 seconds and temperature to pain threshold + 1°C (v except for 6 subjects out of 24, who would not support the repetition of stimulations at pain threshold + 1°C). “Shortened” stimulations were perceived as significantly less painful (mean pain ratings \pm SEM) than “full-length” ones only for longer conditions at pain threshold + 1°C. Statistically significant difference: * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.001$ and NS: Non-Significant.

Results

Main study, 30-s duration

A main effect of condition (shortened-length clock vs. full-length clock) was found ($F_{1,35} = 7.778$, $P = .008$) (**figure 2A**) and showed that the shorter the stimulus seemed to be, the lower was the intensity of pain (mean pain score \pm SD for full-length clock: 5.25 ± 1.86 , shortened clock: 4.71 ± 2.14). No significant effect of session (passive session vs. active session) was found ($F_{1,35} = 0.238$, $P = .629$) and showed that the selection mode of conditions had no significant effect on pain intensity scores (passive: 5.03 ± 1.90 , active: 4.93 ± 2.14). No significant interaction was found between selection mode and perceived duration ($F_{1,35} = .001$, $P = .978$). Detailed results showed a significant effect of condition for both passive (full-length clock: 5.30 ± 1.89 , shortened clock: 4.76 ± 2.11 ; $T = 2.524$, $P = .016$) and active sessions (full-length clock: 5.20 ± 2.25 , shortened clock: 4.65 ± 2.29 ; $T = 2.169$, $P = .037$). Magnitude of pain modulation in the chosen sessions was correlated with those of the forced sessions (mean differences in pain scores: 0.55 ± 1.52 and 0.54 ± 1.29 , respectively; $R = 0.394$, $P = .018$).

Complementary study: colorless sessions, 25-s duration

Regarding the main study in which thermal pain stimulations lasted 30 s, a main effect of condition (shortened-length clock vs. full-length clock) was found ($F_{1,23} = 12.214$, $P = .002$ [**figure 2B**]; mean pain score \pm SD for full-length clock: 5.23 ± 1.79 , shortened clock: 4.88 ± 1.67). A positive main effect of temperature (pain threshold vs. pain threshold + 1 °C) on pain intensity ratings was found ($F_{1,23} = 78.873$, $P < .001$; mean pain score \pm SD for pain threshold: 4.15 ± 1.52 , pain threshold + 1 °C: 5.96 ± 1.44).

A significant interaction was found between condition and temperature ($F_{1,23} = 5.014$, $P = .035$). Detailed results showed that pain intensity ratings were significantly lower in the shortened than in the full-length conditions when thermal stimulation was set to pain threshold + 1 °C (full-length clock: 6.24 ± 1.47 , shortened clock: 5.68 ± 1.39 ; $T = 3.139$, $P_{(corr)} = .01$). In the conditions with stimulation intensity set to pain threshold instead of pain threshold + 1 °C, pain intensity did not differ significantly between condition (full-length clock: 4.22 ± 1.50 , shortened clock: 4.09 ± 1.57 ; $T = 1.726$, $P_{(corr)} = .196$).

Complementary study: colorless sessions, 15-s duration

In the conditions with a duration of 15 s of stimulation instead of 25 s, in 6 of the 24 subjects the stimulation set to pain threshold + 1 °C was unbearable and they were therefore stimulated at pain threshold. Pain intensity scores were not different in these 6 subjects as compared with the 18 subjects stimulated at pain threshold + 1 °C (full-length clock: 4.97 ± 2.68 and 4.37 ± 1.73 , T

= 0.64, $P = .53$; shortened clock: 5.58 ± 2.2 and 4.30 ± 1.72 , $T = 1.49$, $P = .151$ in the 6 and the 18 subjects, respectively). In these 24 subjects, pain intensity did not differ between the full-length clock and the shortened clock (4.52 ± 1.96 and 4.62 ± 1.88 , respectively; $T = 0.608$, $P = .549$). The magnitude of pain modulation between full-length and shortened conditions was not significantly different in the 25-s conditions as compared with the 30-s sessions (mean differences in pain scores: 30 s: 0.55 ± 1.18 , 25 s: 0.56 ± 0.87 ; $T = 1.249$, $P = .217$). These results were obtained even though color and emoticons were present in the 30-s conditions but not in the 25-s conditions. The magnitude of pain modulation was significantly higher in the 25-s sessions (at pain threshold + 1 °C) than in the 15-s sessions (mean differences in pain scores: 25 s: 0.56 ± 0.87 , 15 s: 0.098 ± 0.79 ; $T = 2.35$, $P = .012$).

Time perception

Throughout the main and the complementary experiments, none of the subjects realized that the differences in stimulation duration were an illusion.

Discussion

In this study, we succeeded in creating an illusion of shortened painful stimulation by a misleading materialization of time. For given temperatures and fixed duration of stimuli, a simple illusion on the time course made the pain perception less intense. By convention, in what follows, consistent with the instructions given to participants, we will discuss our results as lowered pain in shortened clock conditions rather than increased pain in full-length clock conditions. These results are in agreement with the finding that long stimuli (30 s) are generally more painful than short stimuli (5 to 15 s) (Koyama et al., 2004) at high temperatures and suggest that subjects' perception of time has actually been misled by the context of the experiment. Although many other modulations of pain or pain illusions have been demonstrated previously, it is always fascinating to observe that previously unexplored and natural situations can reduce pain intensity. Attentional (Davis et al., 2000; Frankenstein et al., 2001; Miron et al., 1989; Peyron et al., 1999; Van Damme et al., 2010), emotional (Godinho et al., 2006), diversion (Valet et al., 2004), anticipation (Ploghaus et al., 2001; Sawamoto et al., 2000), memorization (Bingel et al., 2007), or sensory illusions (Bouhassira et al., 2005; Craig et al., 1994) are nonexhaustive examples of what the nervous system can do to change pain perception. Hypnotic suggestion has been reported to modulate pain perception (Rainville et al., 1999), and shortening the perception of time duration with hypnosis can alleviate acute or chronic pain (Barber, 1996). Conversely to instrumental and drug therapies, the main interest of these modulations is that they recruit endogenous resorts. This is

particularly relevant for the comprehension of time appraisal in painful situations because it is clear from these results that the contextual estimation of time may change pain intensity. It seems possible that the enhancement of pain ratings that is reported here over a 30-s duration in a condition that is expected to be long, as compared with a shortened condition, would be a mechanism of importance in how the subject's relation with time during a painful episode can influence pain intensity ratings. According to this interpretation, the modulation of pain intensity by time representation was not found for shorter pain conditions (*i.e.*, 15 s), consistent with a low influence of time effect for acute or short painful stimuli compared with longer ones. As suggested previously by others (Apkarian et al., 2009), chronic pain states could be explained by pernicious loops among pain perception, duration of pain, and additional cognitive factors. Although our study did not apply to patients with chronic pain, the short-term modulations reported here emphasized the importance of duration on the perception of a painful state.

Later on, other processes such as emotion could further amplify these processes because time has been shown to be overestimated in cases of negative emotions as compared with positive emotions (Droit-Volet and Meck, 2007; Meagher et al., 2001; Tipples et al., 2008). Alternatively, the modulations reported here may be viewed from the inside of the subjects as an equivalent of temporal summation: with the distortion of the temporal reference, stimuli of presumed longer duration were associated with stronger pain. These results may appear as a replication of another study showing a temporal summation of phasic stimuli of between 10 and 30 s with a maximal effect for high temperature (Koyama et al., 2004). Increased pain intensity was reported here for 25 s as compared with 10 s, with a similar enhancement for pain intensity observed for the highest intensities of stimulations (pain threshold + 1 °C) but not for lower intensities (pain threshold). However, conversely to the study by Koyama et al., 2004, our paradigm was designed to test temporal manipulation rather than temporal summation; therefore, stimuli were tonic rather than phasic and constant rather than repetitive.

A second aspect of the study was that pain modulation by time perception was not influenced by the visual aspects associated with time representation, such as colors and emoticons. If we consider similar duration of pain stimulation (*i.e.*, 30 and 25 s) and similar thermal intensities (pain threshold + 1 °C), the complementary study replicated findings from the main study in a different population of volunteers, suggesting a reliable effect of time representation on pain intensity that prevails over these cosmetic details. It is not possible on the basis of these data to conclude whether the speeds of the hands or the angular degrees completed (or both) are the most important pieces in the representation of time. On the basis of previous literature, the temporal frequency of visual stimuli plays an important role in estimating duration (Kanai et al., 2006). In other words, when temporal frequency (as velocity and speed)

increases, time overestimation increases, at least for short durations of stimuli (200 to 1000 ms). If we extrapolate these data to our experiment, it would mean that the higher temporal frequency and speed of the full-length clock would have enhanced the apparent length of stimuli as compared with the shortened clock, and therefore would have enhanced the illusion. Because in both experiments (main and complementary studies), the common denominator was the representation of time by the clock, these results suggest a direct modulation of pain perception, regardless of colors and emoticons that may have a conditioning power. Interestingly, the complementary study demonstrated that this modulatory effect survived neither to shorter duration (15 s) of pain stimulation, nor to lower thermal intensities (pain threshold instead of pain threshold + 1 °C). This may be caused by a specific effect of time representation on high pain intensities, as suggested previously by others (Koyama et al., 2004), but also on relatively long painful stimulations, consistently with what has been shown for temporal summation (Koyama et al., 2004).

A third aspect of the study was that pain modulation by time perception was not influenced by whether the decision was forced or chosen. In a previous experiment investigating 2 contexts that differ for their pain controllability, it was also found that pain intensity was not different (Salomons et al., 2004). Thus, it seems that perception of time prevails over other aspects of pain perception, such as whether pain was forced or chosen, a situation that is very close to that of pain controllability.

Finally, our study raises the question of a conditioning effect because the participants were actually instructed that pain was reduced for the shortened clock as compared with the full-length clock. In addition to these instructions, both the color of the clocks and the associated emoticon were indexes that may theoretically have conditioned their response to pain in the main experiment. Color conditioning/anticipation has been successfully reported to modulate pain intensity (Ploghaus et al., 1999; Ploghaus et al., 2001). Although these aspects associated with materialization of time may have contributed to the present results, the complementary study suggests that perception of time, even misled, prevails over other aspects such as conditioning or anticipation. The pattern of brain activations associated with the modulations of pain intensity by the perception of stimulus duration will be precised in an (ongoing) fMRI study replicating this experimental paradigm.

Acknowledgements

The authors thank Sébastien Bassard and Fatah Torche for their help with data collection.

3.3 Peut-on modifier la perception de la douleur en modifiant la perception de la durée de stimulation ? Étude fMRI

3.3.1 Résumé

Objectif

Cette étude a pour but d'évaluer les variations d'activité cérébrale en fonction d'un leurre visuel (horloge) faisant croire au sujet que la stimulation douloureuse va être plus ou moins longue.

Méthodes

L'étude porte sur 24 volontaires sains qui reçoivent des stimulations douloureuses de 25 s mais qui pensent que certaines sont plus courtes que d'autres, cette illusion est appliquée pour deux niveaux d'intensité de stimulation (seuil douloureux ou seuil douloureux + 1°C). Une analyse en composantes indépendantes (ICA) est utilisée pour tenter de distinguer des réseaux dont les modifications de l'activité sont liées à l'intensité de stimulation thermique douloureuse ainsi que des réseaux dont l'activité est liée à la perception de la durée de stimulation.

Résultats & Discussion

L'intensité de la douleur est diminuée dans les conditions de durée « courtes ». Elle est associée à une activation des aires pariéto-occipitales et pariétales bilatéralement, tandis qu'une augmentation de l'intensité douloureuse active une partie de la « matrice douleur » et les ganglions de la base. L'analyse de connectivité fonctionnelle montre que le réseau attentionnel impliqué dans l'illusion influence l'activité des régions impliquées dans le traitement de la douleur afin de moduler l'intensité de la douleur perçue.

3.3.2 Article étude n°2 : fMRI

In preparation for NEUROIMAGE

How a clock can change your pain? Independent component analysis of the influence of stimulation duration on pain perception

Florence B Pomares^{a, b, c, d}, Isabelle Faillenot^{a, b, c, e}, Fabrice Guy Barral^{b, c, f}, Roland Peyron^{a, b, c, d}

^a Central Integration of Pain, Neuroscience Research Center, U1028 INSERM, F-42023, France;

^b Université de Lyon, Saint-Etienne, F42023, France;

^c Jean Monnet University, Saint-Etienne, F-42023, France;

^d Department of Neurology and Pain Center, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

^e CMRR Unit, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

^f Department of Radiology, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

Abstract

At high intensities of stimulation, it has been showed that pain intensity perception depends on stimulus duration. At a given intensity of stimulation, the present fMRI study investigated the influence of an illusion of stimulation duration on pain perception. The functional and temporal relationships between the brain networks supporting the illusion of duration and pain intensity perception were also assessed. Shortening the perceived duration of a noxious stimulation decreases the intensity of perceived pain and was associated with an activation of parietal and occipital areas. Increasing pain intensity perception through intensity of stimulation activated the "pain matrix" and basal ganglia. Although we did not observe interaction between the two factors modulating pain perception, functional connectivity analysis show that there exist a temporal relationship between the activations elicited by the illusion of a longer duration and the activations elicited by pain intensity processing and evaluation. Misleading the representation of duration may influences activations in parieto-occipital regions that in turn influence brain areas processing pain, resulting in the modulation of pain intensity.

Introduction

The perception of time during a painful stimulation has not much been studied. A cold-pressor experiment showed that subjects tended toward an underestimation of time while being in pain (Hellström and Carlsson, 1997), but this effect can be reduced when the subjects are given a time target (Thorn and Hansell, 1993). In addition, providing timing information during the painful experience decreases the intensity and unpleasantness of pain, in children submitted to a cold-pressor test (Coldwell et al., 2002). We know that the actual duration of a thermal stimulation increases the intensity of perceived pain, only at high temperatures (Koyama et al., 2004). In a previous study, we demonstrated that it was possible to create an illusion of stimulation duration that modulates perceived pain intensity (Pomares et al., 2011), showing that time appraisal during painful stimulation is important to consider. This modulation was present only for long-lasting stimulations (25 s and 30 s, but not 15 s duration) and for high intensities of stimulation (pain threshold + 1°C).

It is now acknowledged that a "distributed brain network" is involved in the perception of time which activation depend on the task, the sensory modality and the duration of the time interval (Buetti, 2011). This network involves the parietal, premotor, prefrontal and insular cortices, and subcortical areas such as basal ganglia and cerebellum (for review see Rubia and Smith, 2004). The role of the insula in the processing of time information has been discussed: the anterior insula would rather have a role in the comparison of intervals (Kosillo and Smith, 2010), while the posterior insula would have a role in the perception of the passage of time (Wittman et al., 2010).

The aim the present study is to investigate the neural substrate of the modulation of pain perception by an illusion of stimulation duration, as observed in our previous psychophysical study (Pomares et al., 2011). This effect is investigated at two different painful intensities. For this purpose, we constructed an experimental design where two clocks represented stimulation time. They seemed to have different length, whereas the real duration was the same. Since data are lacking to presume which part of the distributed network involved in time perception will be involved in the expectation about duration in the pain modality, this study will investigates the neural correlates of this illusion with independent component analysis and functional network connectivity.

Materials & Methods

Participants

From the 24 subjects (12 men, 12 women) aged 22 ± 2.98 years (mean \pm SD), 23 were right-handed according to the Edinburgh test (Oldfield et al., 1971, 73.4 ± 25.84 , max. = 100). They showed no tendency to depression (Beck questionnaire, Beck et al., 1961, French translation Pichot P. , 1.1 ± 2.61 , range = 0 – 11.5, max. = 39), for some little state anxiety right after the fMRI exam (State-Trait Anxiety Inventory, Spielberger, 1983, STAI-S = 28.9 ± 7.99 , range = 20 – 49, max. = 80). Participants had no history of neurological, psychiatric or chronic pain disease and did not take any medication except contraceptive. They were paid for their participation, and all provided written informed consent. The Ethics Committee of Saint-Etienne University Hospital, France approved the study.

Stimuli

Thermal stimulations were applied on the dorsum of the left hand and forearm with a 3 cm^2 thermal probe (TSA-2001, Medoc®); location of the thermode was changed between sessions. Nociceptive threshold was determined the week before the fMRI session with the methods of limits in addition to a range of 25 seconds stimuli set at different temperatures around their pain threshold ($1 \text{ }^\circ\text{C}$ below and $1 \text{ }^\circ\text{C}$ above) for better accuracy and to obtain a temperature at which the subject give a 5/10 score on a visual analog scale (VAS). Mean pain threshold was $44.1 \pm 0.68 \text{ }^\circ\text{C}$, range 43 – 45.5. This procedure was also a training to the rating procedure. Participants were asked to rate pain intensity within 3 s and at a variable delay after each stimulation on an 11-points VAS (0: no sensation, 1: non-painful, 2-10: painful).

Design

A 2×2 factorial design was presented to the subjects, the first factor was time context and the second was stimulation temperature (**figure 1**). Subjects received standardized instructions that there would be 4 painful conditions and that a clock would materialize the course of time during stimulation. In one condition, the hands of the clock described a complete revolution (long), whereas in the second condition they described only three-fourths of the revolution (short). Subjects were instructed that in this latter condition, pain duration would therefore be reduced by 25 %. The aim was to convince the subjects that in the context with the shortened clock, the painful stimulation was shorter compared with the context with the full-length clock. Subjects were kept blinded to the fact that stimulation duration was kept constant in both conditions (25 s, plateau duration: 21 s, slope: 2 s up and down). Stimulation temperature was set at the individual pain threshold (medium) or at the individual pain threshold + $1 \text{ }^\circ\text{C}$ (high) and

baseline temperature was 37 °C. For more details see Pomares et al. 2011. Clocks were presented with E-Prime® 2.0 Professional presentation software (Psychology Software Tools Inc., www.pstnet.com) connected to a black and white video projector positioned at 1 m from the head of the subject. The stimuli were displayed on the projection screen with a 40 x 50 cm size, with a resolution of 800 x 600 pixels and the subjects could see it by mean of mirrors positioned on the head coil.

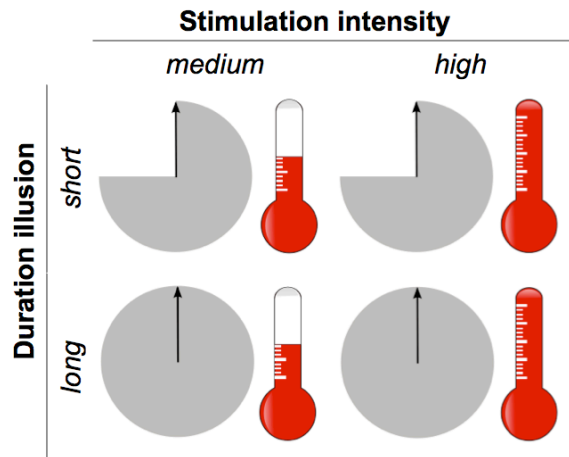


Figure 1: *Experimental design.*
We manipulated clocks presented during thermal stimulation to create an illusion of long or short stimulation duration, at two different painful intensities.

A total of 36 visual-painful stimulations randomized over the entire experiment distributed over 3 sessions of 12 stimulations (8 at medium temperature and 4 at high temperature). The total length of a session was 8' 51'' in order to prevent subjects from skin damage. Subjects were asked to score their pain with a variable delay after the end of the stimulation. The delay between stimulation and rating signal as well as the delay between rating signal and next stimulation were randomly spaced and jittered to decorrelate and sample properly hemodynamic response of both types (2.08 ± 1.38 s, range: 1 – 5 s and 12.9 ± 4.01 s, range: 9 – 20 s respectively).

Data acquisition

Blood oxygenation level dependent (BOLD) response to painful stimulations was recorded on a 3 T magnetic resonance scanner (Verio, Siemens) equipped with a 12-channel head coil. The subject's head was immobilized using foam pads. High-resolution (voxel size 0.9 x 0.9 x 0.9 mm) T1-weighted anatomical images were acquired for each subject using a three-dimensional (3D) magnetization prepared rapid gradient echo (MP-RAGE) sequence. Using a T2*-weighted echo planar imaging (EPI) sequence (parallel imaging method: GRAPPA [reduction factor R = 2]), repetition time (TR) 2560 ms, echo time (TE) 45 ms, flip angle 90°, FoV = 192 mm, voxel size 3 x 3 x

3 mm), 205 imaging volumes (32 axial slices [distance factor 20 % = 0.6 mm], covering 115 mm = whole brain) were acquired in continuous cross-section order.

Preprocessing

fMRI data were preprocessed with SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging). The first 3 functional scans from each session were discarded and then EPI images were realigned to the mean functional image of the first session. Anatomical images were first coregistered to the mean functional image and then segmented in order to estimate the normalization parameters in the Montreal Neurological Institute (MNI) space. These parameters were applied to the EPI which were resampled at 2 x 2 x 2 mm and smoothed with a 8 x 8 x 8 mm full-width half-maximum Gaussian kernel. Normalized anatomical images of all subjects were averaged for subsequent fusion with statistical results.

Independent component analysis

An independent component analysis (ICA) using group ICA for fMRI toolbox (GIFT version 1.3h; <http://icatb.sourceforge.net>) established for the analysis of fMRI data (Calhoun et al., 2001) was performed. This method aims at finding independent networks of brain areas (independent components [IC]) of which voxels have synchronous time courses over the experiment. Additionally, it is possible to investigate ICs correlation to the paradigm. The ICA approach provides a better sensitivity than classical SPM analysis because of more flexibility in time course analysis (Schmithorst and Brown, 2004; Kim et al., 2011). Prior to the ICA, a SPM design matrix was constructed in SPM8 in which onsets were entered to convolve canonical hemodynamic response function (HRF) with experimental paradigm.

The number of IC was first estimated for each session of the 24 subjects using the minimum description length (MDL) criterion; the number of IC chosen for the ICA was 30 according to the mean MDL (32.03 ± 4.41). Intensity normalization, which involves voxel-wise division of the time series mean, was applied in order to maximize the reliability and reproducibility of the components (Allen et al., 2010). After concatenation of 72 sessions across time, the toolbox performed the analysis in three stages. First, a data reduction step was performed to lower computational complexity using 2 successive temporal principal component analysis (PCA) steps. In the second stage, the ICA algorithm Infomax was used to run the proper IC analysis (Bell and Sejnowski, 1995). The stability and reliability of the estimated components was ensured using 10 ICASSO iterations (Himberg et al., 2004, stability index were all ≥ 0.95). ICASSO was also used to find the centroid components, which were used in the back-reconstruction step. In the final stage of back-reconstruction, time courses (TC) and spatial maps were computed for each session and

for each component (Calhoun et al., 2009).

The 30 components were sorted according to the influence of conditions on their time course: IC time course was compared with the regressor corresponding to each of the 4 stimulations convolved with the canonical HRF. Multiple linear regression sorting criteria were used to relate model TC to component TC. This procedure led to a set of beta-weights associated with regressors for each subject. The selected components were those that at least one condition modulates their time course (one sample t-test on beta-weights, $p < 0.1$). Visual inspection of spatial maps allowed removing the components showing noise pattern. To explore the influence of the different types of stimulation on the remaining ICs, a two-way Anova was conducted on beta-weights (F test: $p < 0.1$). Individual subject maps of ICs showing a significant effect of one factor were entered into random effects analyses (one sample t-test for the group of 24 subjects) in SPM5 after averaging the maps from 3 sessions of each subject. Results were thresholded at $p < 0.05$, corrected for multiple comparisons (FWE). This procedure is comparable to the GLM approach used in neuroimaging studies: networks are defined according to their functional connectivity and the modulation of their time courses by the stimulations.

We also computed the event-related averages from each component time course, over a time window of 40 s, after adjusting for each condition. Each event-related average depicts the level of activation for that particular component during a particular condition across time.

Functional network connectivity analysis

Functional network connectivity (FNC) analysis was performed on 6 selected components with FNC toolbox (<http://mialab.mrn.org/software/fnc>). The ICA algorithm assumes that the time courses of the responses in cortical areas within one component are synchronous (Calhoun et al., 2004). Even though the components are spatially independent, significant temporal dependencies/correlations can exist between them. We examined this possibility directly by computing a constrained maximal lagged correlation. Using this approach, we computed a correlation and a lag value for each subject (Jafri et al., 2008). In other words, we examined the correlation between two time courses, X and Y, when Y is circularly shifted from -3 to +3 s around X. Prior to computing correlations, component time courses were filtered through a band-pass filter, with cut-off frequencies set at 0.008 Hz and 0.195 Hz. Then, the time courses from the six components for all subjects were interpolated to enable detection of sub-TR hemodynamic delay differences between subjects. Finally, the maximal correlation value and corresponding lag were saved for each time course pair and each subject. The group significance for these connections was tested by using one sample t-test with a P-value threshold of 0.05 FDR corrected.

Results

Psychophysics

We succeeded in modulating pain intensity by manipulating time context and additionally we demonstrated an effect of stimulation intensity on pain perception, detailed psychophysical results are reported in Pomares et al., 2011. There was an effect of temperature and an effect of the illusion on pain perception, significant at high temperature only.

Independent component analysis

From the 30 ICs, 10 were removed because of a spatial map showing noisy pattern (*e.g.*, belt of ventricles activation) or noisy TC (*e.g.*, only one scan explaining the signal). From the 16 remaining ICs, 4 did not show any correlation with experimental conditions. Among the 16 selected ICs, 5 were modulated by at least one factor: duration illusion and/or stimulation intensity (two-ways ANOVAs on beta-weights, $df = 3, 92, p < 0.1$). Three ICs were modulated by a main effect of stimulation intensity, one was modulated by a main effect of time context and another one was modulated by both of the factors (post-hoc tests on beta-weights).

The activity of IC 20 was negative and was modulated by stimulation intensity ($T = -3.05, p = 0.003$), the activity in precuneus, posterior parietal cortex and prefrontal cortex bilaterally was more negative at high than medium temperature. Event-related average of IC 20 activity profile corresponded with the thermal stimulation period and showed dissociation between levels of activity associated with medium and high conditions at the beginning of the thermal stimulation (**figure 2**).

The time course of IC 30 was modulated by stimulation intensity ($T = 2.62, p = 0.010$), activity in basal ganglia bilaterally, anterior cingulate cortex, dorsolateral prefrontal cortex and thalamus was higher at high than medium temperature. Event-related average of IC 30 showed dissociation between the levels of activity associated with high and medium conditions. The activity profile was rising continuously until the end of the thermal stimulation (**figure 3**).

The time course of IC 27 was modulated by stimulation intensity ($T = 2.75, p = 0.007$), activity in bilateral anterior insula, anterior midcingulate cortex, supplementary motor area (SMA) and prefrontal cortices bilaterally was higher at high than medium temperature. Event-related average of IC 27 showed dissociation between the levels of activity associated with high and medium conditions. The profile showed an activation peak at the end of the thermal stimulation (**figure 4**).

The activity of IC 23 was modulated by duration illusion ($T = -1.8, p = 0.076$), activity in BA 7 bilaterally was higher during short than long conditions. Event-related average of IC 23 activity profile corresponded with the thermal stimulation and showed dissociation between levels of

activity associated with short and long conditions especially at the beginning of the thermal stimulation (**figure 5**).

The activity of **IC 29** was modulated by duration illusion and stimulation intensity (duration illusion: $T = -4.53$, $p < 0.001$; stimulation intensity: $T = -3.85$, $p < 0.001$), activity in extrastriate cortex bilaterally was higher in short medium than long high conditions. Event-related average of IC 29 activity profile corresponded with the thermal stimulation period and showed dissociation between levels of activity associated with short and long conditions at medium temperature as well as at high temperature. The dissociation between medium and high temperature was less marked than the dissociation between illusory durations (**figure 6**).

Additionally, two independent components that were correlated with the 4 conditions were of our interest. One, IC 10 (one-sample t-tests on beta-weights for each condition, $T > 4.11$, $p < 5.10^{-4}$) represented both full insular cortices (**figure 7a**). The other, IC 13 (one-sample t-tests on beta-weights for each condition, $T > 5.23$, $p < 5.10^{-4}$) represented the contralateral (left) motor cortex (**figure 7b**).

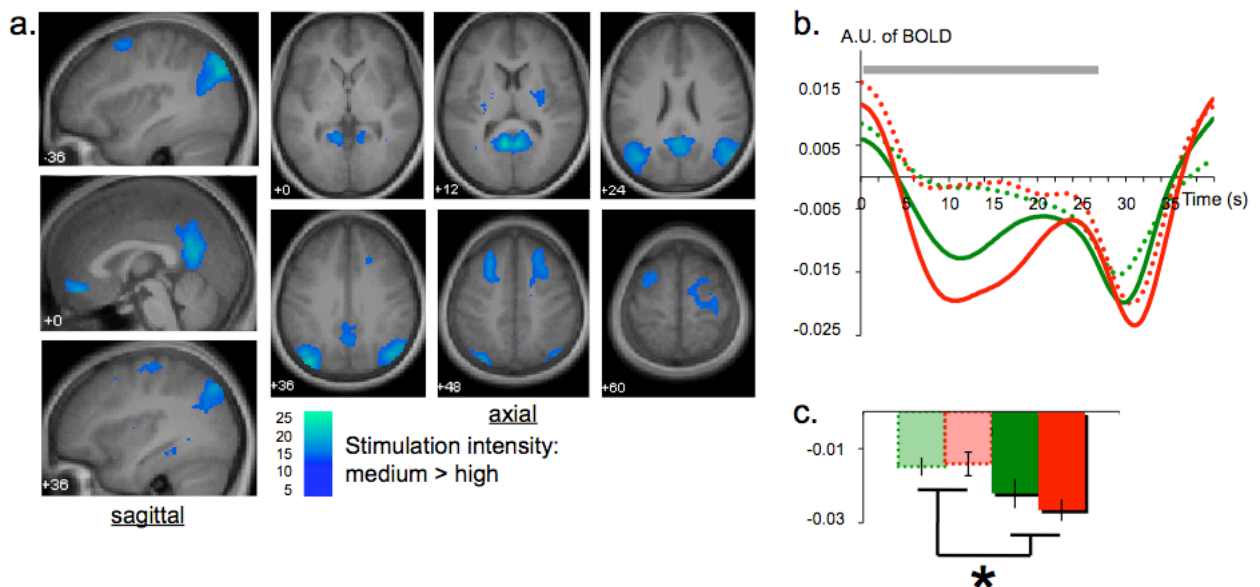


Figure 2: Independent component 20 showing an effect of stimulation intensity (medium > high). (a) Activation map (thresholded at $p < 0.001$ FWE), (b) event-related averages of the time course adjusted for each condition, level of activation in arbitrary units over a 40 s period, the grey bar corresponds with the painful stimulation and (c) mean beta-weights (\pm SEM) for each condition (* $p < 0.1$). Slices representing axial and sagittal positions are in MNI space. Light/dashed: medium temperature; dark/solid: high temperature. Green: short duration; red: long duration.

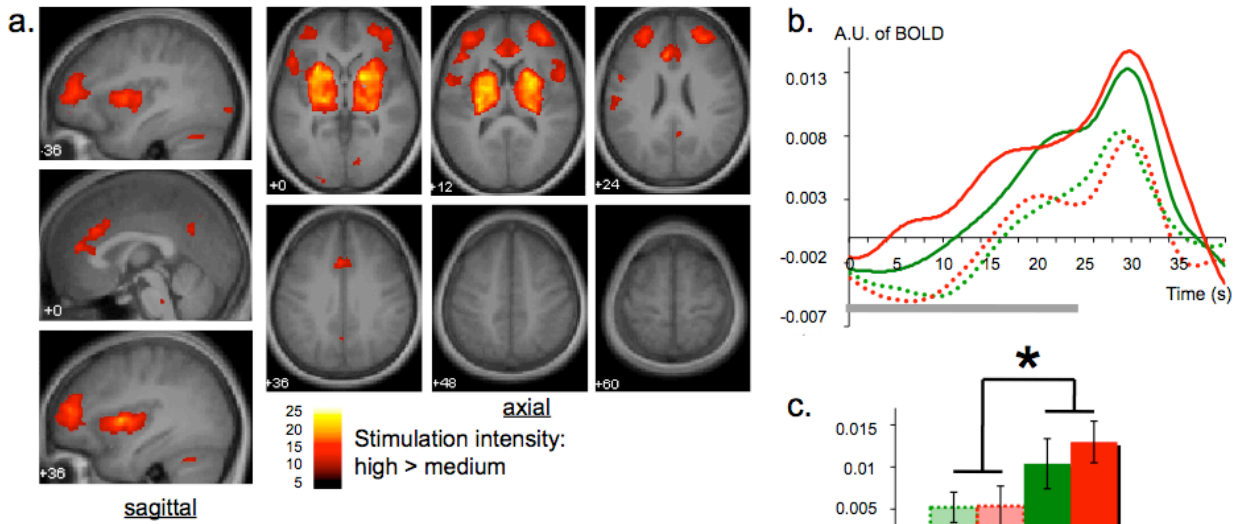


Figure 3: Independent component 30 showing an effect of stimulation intensity (high > medium). (a) Activation map (thresholded at $p < 0.001$ FWE), (b) event-related averages of the time course adjusted for each condition, level of activation in arbitrary units over a 40 s period, the grey bar corresponds with the painful stimulation and (c) mean beta-weights (\pm SEM) for each condition (* $p < 0.1$). Slices representing axial and sagittal positions are in MNI space. Light/dashed: medium temperature; dark/solid: high temperature. Green: short duration; red: long duration.

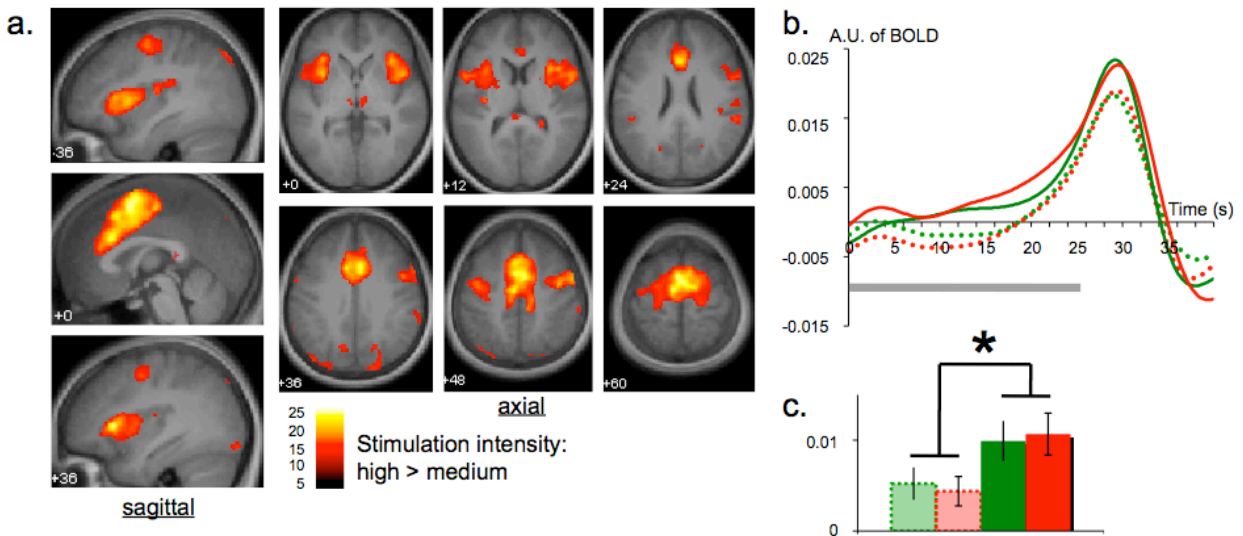


Figure 4: Independent component 27 showing an effect of stimulation intensity (high > medium). (a) Activation map (thresholded at $p < 0.001$ FWE), (b) event-related averages of the time course adjusted for each condition, level of activation in arbitrary units over a 40 s period, the grey bar corresponds with the painful stimulation and (c) mean beta-weights (\pm SEM) for each condition (* $p < 0.1$). Slices representing axial and sagittal positions are in MNI space. Light/dashed: medium temperature; dark/solid: high temperature. Green: short duration; red: long duration.

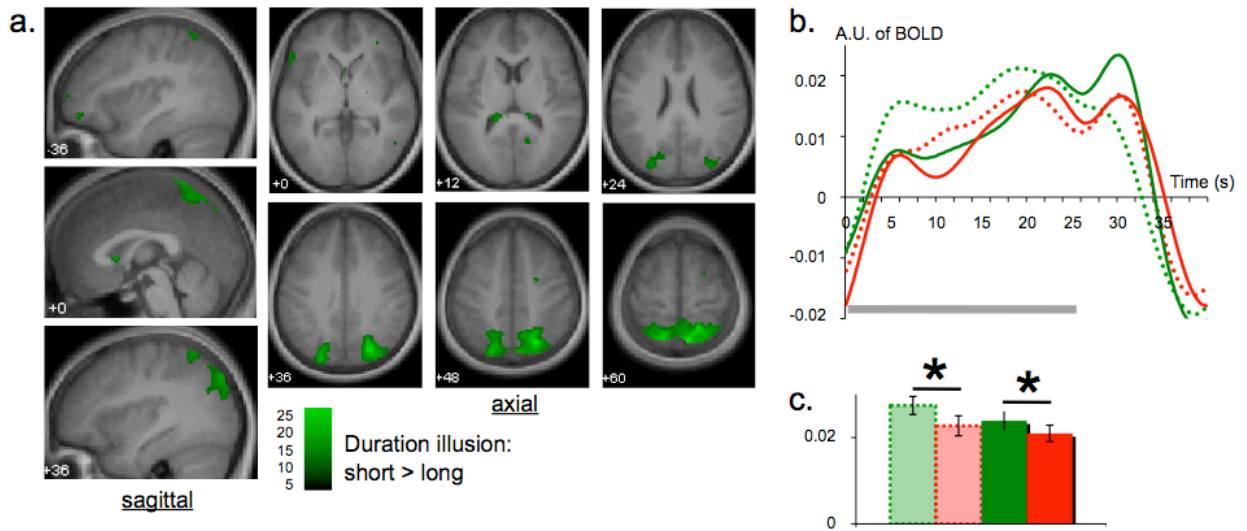


Figure 5: Independent component 23 showing an effect of duration illusion (short > long). (a) Activation map (thresholded at $p < 0.001$ FWE), (b) event-related averages of the time course adjusted for each condition, level of activation in arbitrary units over a 40 s period, the grey bar corresponds with the painful stimulation and (c) mean beta-weights (\pm SEM) for each condition (* $p < 0.1$). Slices representing axial and sagittal positions are in MNI space. Light/dashed: medium temperature; dark/solid: high temperature. Green: short duration; red: long duration.

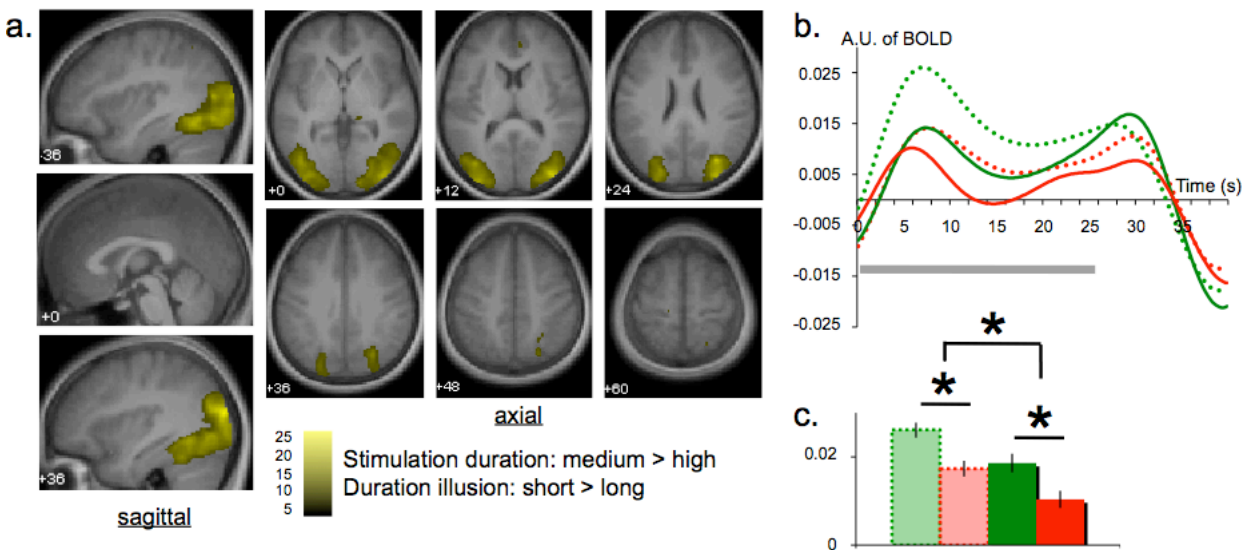


Figure 6: Independent component 29 showing an effect of duration illusion (short > long) and of stimulation intensity (medium > high). (a) Activation map (thresholded at $p < 0.001$ FWE), (b) event-related averages of the time course adjusted for each condition, level of activation in arbitrary units over a 40 s period, the grey bar corresponds with the painful stimulation and (c) mean beta-weights (\pm SEM) for each condition (* $p < 0.1$). Slices representing axial and sagittal positions are in MNI space. Light/dashed: medium temperature; dark/solid: high temperature. Green: short duration; red: long duration.

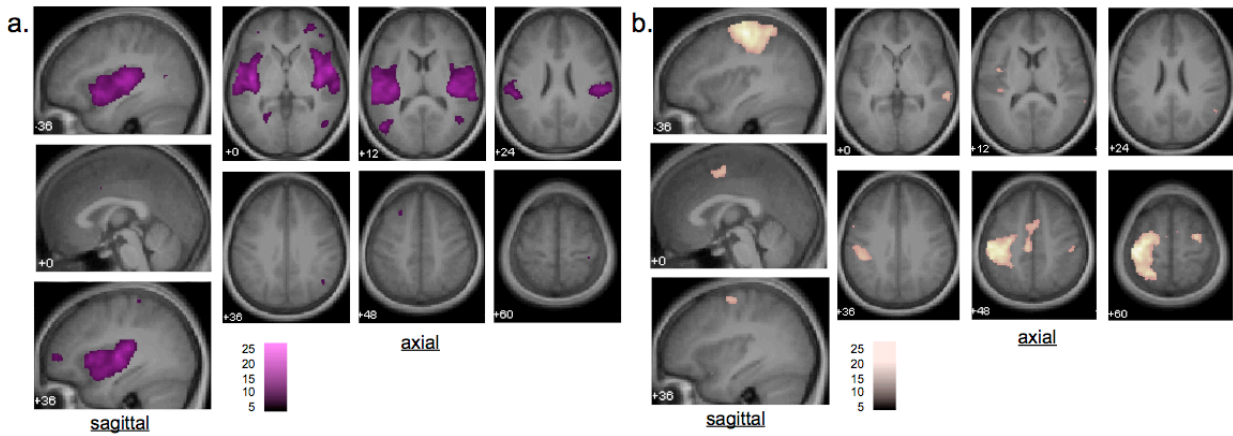


Figure 7: Independent components 10 and 13 activation maps. (a) IC10, (b) IC 13 activation maps (thresholded at $p < 0.001$ FWE). Time courses of the two components were correlated to each of the 4 conditions, but did not show an effect of stimulation intensity or duration illusion factor. Slices representing axial and sagittal positions are in MNI space.

Functional network connectivity analysis

IC 29 was significantly correlated with IC 23. IC 23 was significantly correlated with IC 10 and 30. IC 10 was significantly correlated with IC 13. ICs 13 and 27 were significantly correlated. IC 29 was correlated and activated before IC 13 and IC 27. IC 23 was correlated and activated before IC 13 and IC 27. IC 30 was correlated and activated before IC 27. IC 10 was correlated and activated before IC 27.

Functional network connectivity showed that almost all the components had their time courses correlated (except ICs 29-10 and ICs 10-30) among which about half of the correlations also presented a delay between time courses, see **figure 8** and **table 1**.

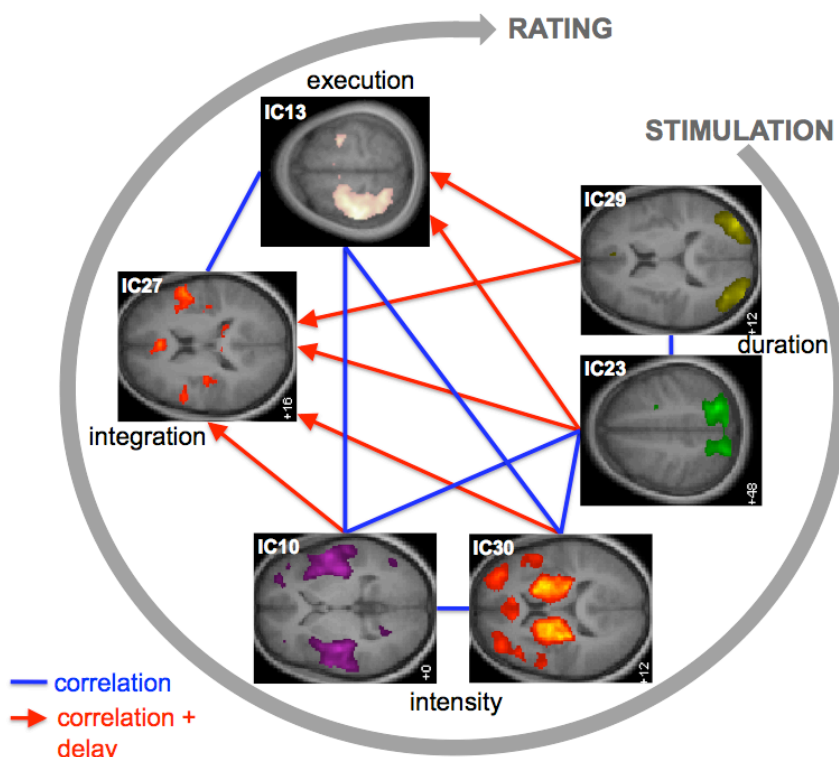


Figure 8: Functional network connectivity analysis. 6 independent components (IC) were chosen and the correlation and the delay between their time courses were evaluated with the functional network connectivity toolbox (thresholded at $p < 0.05$ FDR).

	IC 10	IC 13	IC 23	IC 27	IC 29
IC 10					
IC 13	0.208 (0.22)				
IC 23	0.295 (0.17)	0.401 (0.12) *			
IC 27	0.393 (0.12) *	0.406 (0.17)	0.308 (0.15) *		
IC 29	0.160 (0.21)	0.336 (0.12) *	0.507 (0.11)	0.208 (0.16) *	
IC 30	0.480 (0.19)	0.254 (0.24)	0.382 (0.18)	0.597 (0.18) *	0.005 (0.22)

Table 1: FNC correlation and lag values.

Correlation values are represented (\pm SD). Bold values are significant correlations ($p < 0.05$ FDR corrected) and * corresponds with significant lag between time courses of independent components (IC).

Discussion

The “time” illusion successfully decreased pain perception in “short” as compared to “long” stimulations. The independent components analysis highlighted components, which activity was modulated by the illusion of duration and/or by intensity of the stimulus, but no interaction was found between duration illusion and stimulus intensity. This was observed for pain intensity ratings and for functional networks.

Among the seven independent components investigated and that TC correlated with the experimental paradigm, two ICs of interest did not show any effect of the stimulus intensity or duration illusion factors. One corresponded with the bilateral activation of the entire insular cortex (IC 10) that is known to be involved in painful thermosensory processing. Another was the primary motor cortex, activated contralaterally to the hand that rated perceived pain intensity. These two ICs permitted us to verify that those two sensory-motor processing networks were involved as expected with our paradigm. They are consistent with the fact that in any cycle of the experimental paradigm, there was a common denominator including perception of thermosensory stimuli on the left hand and pain intensity rating with the right hand.

Increasing pain intensity perception through intensity of the stimulus recruits the default mode network (IC 20) with widespread and very intense deactivation of posterior parietal and posterior cingulate areas during application of the painful stimulus. Pain has been indeed repeatedly found to strongly and consistently deactivate these regions; it is therefore a robust task to highlight the default mode network (*e.g.* Peyron et al., 1999). The increase of pain intensity perception through intensity of the stimulus also activated two independent components involving the cognitive part of the pain processing network, *i.e.* basal ganglia, dorsolateral prefrontal cortices bilaterally, anterior cingulate and midcingulate cortices, SMA and bilateral anterior insula. This was an expected result since stimulation intensity and pain intensity are encoded in the “pain-matrix” network (Apkarian et al., 2005; Peyron et al., 2000; Tracey and Mantyh, 2007). The thermal stimulation used in our study was prolonged (25 s) and the increase of

activity with time can be interpreted as a sensitization of the system. Since basal ganglia are involved in pain processing (Borsook et al., 2010) as well as in time estimation and motor timing (Rubia and Smith, 2004), we can also suppose that the increase of activity over time can be linked to the accumulation of pain with time. The activation peak appearing at the end of the stimulation period can be interpreted either as an offset signal indicating the end of the stimulation period (corresponding with relief for the subject) or as, in the case of IC 27, the subject's mental preparation to pain intensity scoring.

Shortening the illusory duration of stimulation activated parieto-occipital (IC 23) and occipital regions (IC 29), two networks involved in associative visual processing. The parieto-occipital areas (BA 7) are involved in spatial attention (Coull and Frith, 1998), suggesting that more attentional resources are allocated during short conditions than during long conditions. BA 7 is a somatosensory association cortex (Saper et al., 2000), which is involved (among other regions) in brush allodynia (Witting et al., 2001), and is connected to thalamus, ACC, insula and prefrontal cortex in monkey (Lewis and Van Essen, 2000). The occipital extrastriate area included the lateral occipital cortex (LOC) which is involved in objects recognition (Grill-Spector et al., 2001) and which activity is modulated by pain (Bingel et al., 2007). The negative modulation of ICs 23 & 29 by time representation should be considered with respect to differential attentional load in short and long conditions that could in part be involved in the modulation of pain perception.

If we consider the two ICs showing an effect of intensity of stimulation, they overall describe the cognitive part of the "pain matrix". What appears from this study is that this network can be subdivided into two components with two time course profiles. A first one with increased signal maximal at the end of the exposure to temperatures, and a second one with progressively increased signal for the duration of thermal exposure. It was not the aim of the study to investigate the respective differences of this time dynamics, and therefore it is not possible to further interpret these results. However, it seems interesting to consider that there may be several brain dynamics of the response encoding pain intensity. Conversely, the ICs describing the effect of time illusion have a different (block) profile. The presence of two peaks in this second profile, one at the beginning and another at the end of the stimulation, could be explained by the on/off effect of the stimulation involving a change in salience (Downar et al., 2003).

Finally, the functional network connectivity analysis revealed that there exists a temporal relationship between all the components included in the analysis and that the activation of "scoring" components is delayed compared to "primary sensory" components. The activations elicited by the illusion of a shorter duration and the activations elicited by stimulation intensity processing were simultaneous and arrived before the evaluation of pain intensity and motor execution during the rating task. Because BA 19 is modulated by time illusion, but also by

stimulation intensity, this could be a key region in the modulation of pain perception by the time illusion, possibly by modulating the activity in the network involving anterior insula and anterior midcingulate cortex (IC 27). Misleading the representation of stimulation duration may influence activations in the processing of visual information (parieto-occipital regions), but also in the processing of pain and thermal sensation (basal ganglia and insular cortex). In turn, these temporal dynamics and these components that may subserve pain modulations could influence brain areas processing pain (IC 27), resulting in the modulation of perceived pain intensity. These results mean that the illusion effect on pain perception could be supported at a high cognitive level by IC 27, during the phase of mental scoring in which the subjects adjust their pain scores to what they expected in terms of stimulation duration and pain level associated.

To conclude, the present study gives information on how the systems of pain modulation may be complex with several interdependent maps and interconnections. With the system misleading the perception of stimulation duration, it was possible to modify pain intensity perception, and, concomitantly, the brain responses. In particular the visual inputs of time representation enter in the brain *via* an occipito-parietal door that exerts a modulation on the components processing pain intensity coding through an occipital to nociceptive network. These connections were accompanied by functional specificities that integrate temporal dynamics of the responses.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Institut UPSA de la Douleur (appel d'offre 2010-2011).

3.3.3 Analyse complémentaire : étude n°2

Objectif

L'objectif de l'analyse de connectivité effective est de pouvoir tester où et comment l'illusion d'une durée plus longue influence le réseau construit en accord avec les résultats des analyses précédentes et les hypothèses *a priori* que nous avons sur la perception du temps dans une situation douloureuse.

Méthode

Pour cela nous avons construit un design en modulations paramétriques, en définissant une condition de stimulation et une condition de cotation. La première étant modulée par le leurre de la durée (courte ou longue) et par l'intensité de la stimulation douloureuse (modérée ou forte).

Analyse GLM

Dans le but de faire une analyse DCM10 (qui permet de choisir plus d'options que le DCM8 et qui est plus robuste), nous avons construit un design spécifique dans SPM8 (Friston et al., 2003 ; Kassess et al., 2010 ; Stephan et al., 2009). Pour explorer les facteurs intensité de stimulation et illusion de la durée, nous avons défini des modulations paramétriques de premier niveau (linéaires) de la condition de stimulation bimodale (visuelle et thermique). La cotation n'a pas de modulation paramétrique. Nous avons choisi un design en modulations paramétriques pour l'analyse de DCM car l'analyse de l'effet de chaque facteur est plus simple qu'avec un design factoriel. Les 3 sessions de chaque sujet ont été entrées dans la même matrice de dessin sans concaténation, un filtre passe-haut a été appliqué pour exclure des artefacts de basse fréquence. Les corrélations temporelles ont été estimées en utilisant un modèle autorégressif de premier ordre (AR1). Les analyses individuelles de premier niveau comprenaient 4 contrastes T et un contraste F, qui ont ensuite permis d'effectuer une analyse de deuxième niveau à effets aléatoires. Voir **Annexe 2** pour les résultats de l'analyse random GLM.

Extraction des VOIs

Le choix des régions incluses dans l'analyse DCM a été guidé par les résultats de l'analyse ICA et par les *a priori* forts pesant sur le DLPF droit, le aMCC et l'insula antérieure ipsilatérale (INS-i) et contralatérale (INS-c). La localisation de ces 4 régions a été effectuée sur l'analyse de groupe GLM (**figure 9**). Au niveau individuel les séries temporelles de chaque VOI ont été extraites en deux temps. D'abord, nous avons construit des masques correspondant à l'intersection entre le *cluster* d'activation de la condition de stimulation provenant de l'analyse de groupe (seuil : $p < 0.001$ non-corrigé) et la région anatomique correspondante dans la *toolbox* PickAtlas et dans

l'atlas AAL (Maldjian et al., 2003 ; Tzourio-Mazoyer et al., 2002). Le cortex DLPF droit a été défini comme le gyrus frontal moyen et le cluster d'activation de coordonnées MNI : $x = 3, y = 44, z = 6$. Le aMCC a été construit selon la définition de B.A. Vogt (partie postérieure de BA 32 et 33 et partie moyenne de BA 24, Vogt et al., 2003) et le cluster d'activation $x = 12, y = 24, z = 36$. Les régions insulaires antérieures ont été définies comme la région insulaire de AAL réduite à sa partie antérieure au sillon central de l'insula (définie sur l'image anatomique moyenne) et l'activation INS-i : $x = -38, y = 14, z = -4$ et INS-c : $x = 38, y = 10, z = 16$. Dans un deuxième temps, les séries temporelles des VOIs ont été extraites sur le contraste F (seuil : $p < 0.05$ non-corrigé), à partir de sphères de 5 mm de rayon centrées sur le pic d'activation individuel à l'intérieur du masque de la région (défini dans l'étape précédente). L'extraction des séries temporelles des VOIs a été faite pour chaque session de chaque sujet. Les sujets ne montrant pas d'activation pour au moins une des 4 régions dans ces conditions ont été exclus de l'analyse, 15 sujets ont donc été inclus dans l'analyse DCM.

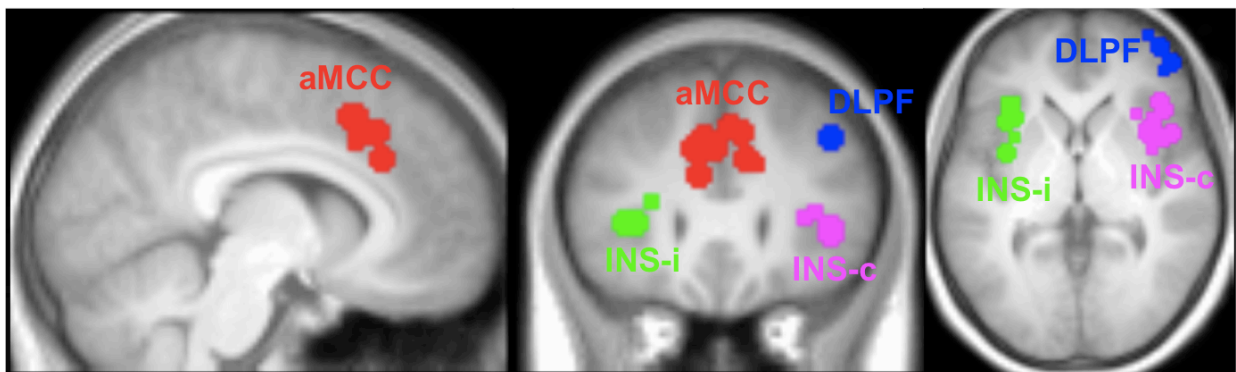


Figure 9 : VOIs individuels pris en compte dans l'analyse DCM.

Les VOIs de chaque sujet sont représentés sur l'image anatomique moyenne et correspondent à des sphères de 5 mm de rayon incluses dans le masque de l'intersection entre la région anatomique et le *cluster* d'activation du groupe (seuil : $p < 0.05$ non-corrigé). En bleu : cortex dorsolatéral préfrontal froit (DLPF), en rouge : partie antérieure du cortex cingulaire moyen (aMCC), en vert : insula ipsilatérale (gauche, INS-i) et en mauve : insula controlatérale (droite, INS-c).

Construction des modèles et définition des familles de modèles

182 modèles ont été construits, comprenant 3 entrées pouvant avoir une influence (2 entrées externes x 13 entrées modulateurs de l'illusion de la durée x 7 entrées modulateurs de la température de stimulation). La condition de cotation n'a pas été prise en compte dans les modèles. Nous avons fait l'hypothèse que les deux insulæ recevaient l'entrée externe de la stimulation bimodale (Kurth et al., 2010b ; Peyron et al., 2000), qui associe une stimulation visuelle (horloge) et thermique (douloureuse) (**figure 10a**). L'intensité de stimulation est supposée avoir une influence sur les insula, sur les connexions entre les deux insulæ et/ou sur les connexions entre l'insula et le aMCC (Kurth et al., 2010b ; Peyron et al., 2000) (**figure 10b**). L'effet du leurre de la durée de stimulation a été testé sur chacune des 4 régions et sur différentes connexions étant

donné que les études précédentes montrent qu'il n'existe pas qu'une seule région impliquée dans le traitement des informations temporelles et que dans notre étude il s'agit d'une illusion (insula : Kosillo et Smith, 2010 ; Wittmann et al., 2010, DLPF : Rao et al., 2001 ; Livesey et al., 2007 ; Lewis et Miall, 2003, aMCC : Lewis et Miall, 2003 ; Wittmann et al., 2010, **figure 10c**). Nous avons choisi de ne pas tester les différentes possibilités de connexions intrinsèques, c'est pourquoi nous avons construit des modèles connectés entièrement.

Nous avons appliqué le *slice timing* du DCM10 car les coupes ont été acquises dans un ordre séquentiel. La majorité des régions étaient situées dans la partie moyenne du cerveau et la correction appliquée était de 1.28 s (1.77 s pour le aMCC). Nous avons choisi de ne construire que des modèles bilinéaires (les modèles non-linéaires pouvant posséder une régions modulant une connexion) qui ont été estimés avec deux états car ceux-ci sont plus flexibles (dans chaque région, une population de neurones excitateurs et une population de neurones inhibiteurs est modélisée, Marreiros et al., 2008) et sur un mode déterministe (Seghier et al., 2010).

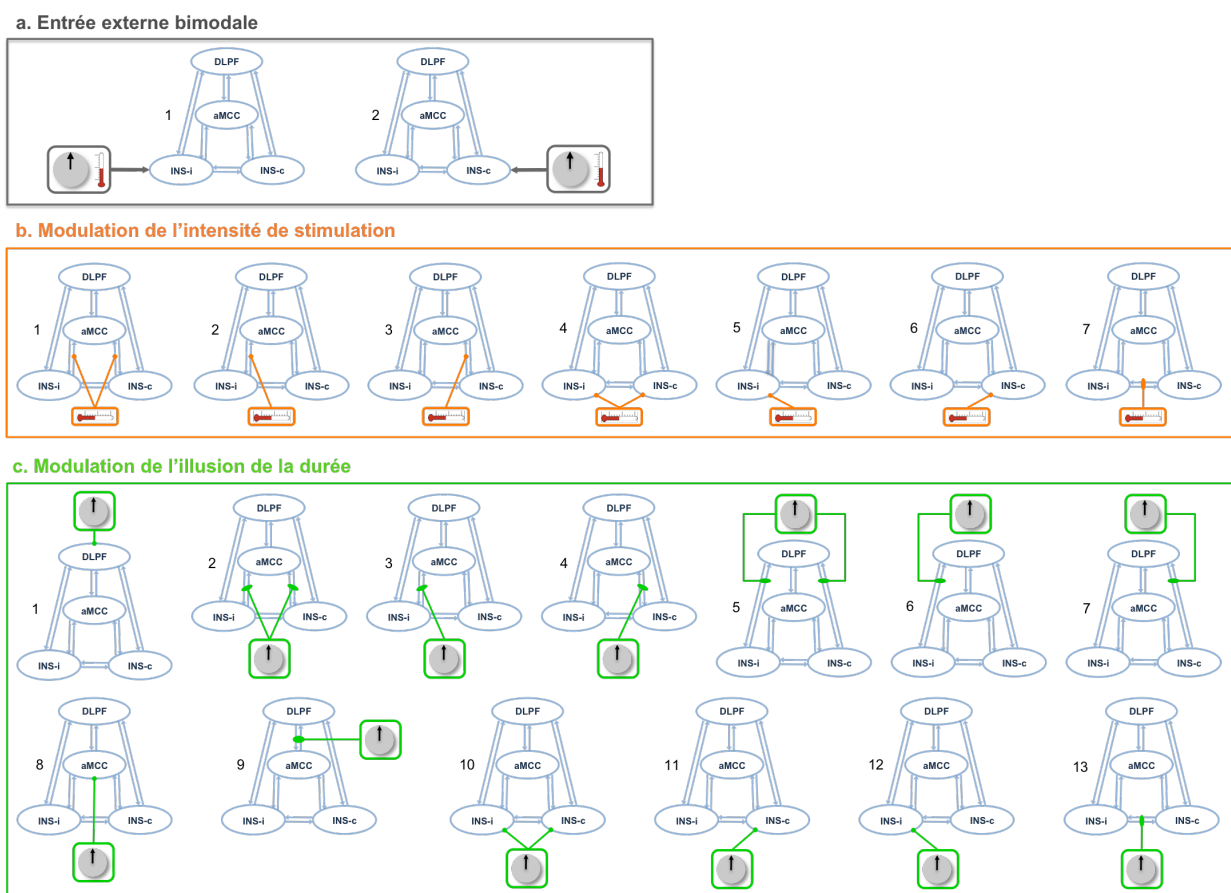


Figure 10 : Construction des modèles.

Au total 182 modèles ont été construits, tous ayant les 4 régions entièrement connectées, incluant : la partie antérieure du cortex cingulaire moyen (aMCC), le cortex dorsolatéral préfrontal droit (DLPF), l'insula ipsilatérale et controlatérale (INS-i et INS-c). 2 familles correspondent aux alternatives de l'entrée externe de la stimulation bimodale (visuelle et thermique) x 7 modèles correspondant aux alternatives de la modulation de la température (modérée ou forte) x 13 familles correspondent aux alternatives de la modulation du leurre de la durée de stimulation (courte ou longue).

Comparaison des modèles

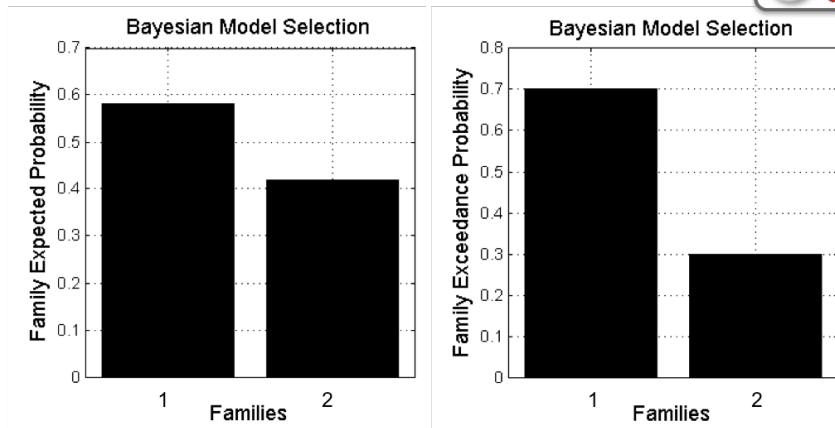
Les modèles ont été comparés par la méthode BMS (Stephan et al., 2009) en faisant des inférences au niveau des familles de modèles en 3 étapes dans notre étude. Une analyse à effets aléatoires a été choisie (Stephan et al., 2009 ; Kasess et al., 2010) pour comparer 1/ les 2 familles de 91 modèles basées sur l'entrée externe de la stimulation bimodale, 2/ les 13 familles de 7 modèles basées sur la modulation de l'illusion de la durée de stimulation et 3/ les 7 modèles restant basés sur la modulation de l'intensité de stimulation. Il faut noter que la méthode BMS prend en compte les effets aléatoires (RFX) au niveau du groupe et les effets fixes (FFX) au niveau des sessions. A chaque comparaison, la BMS retourne deux probabilités (*expected posterior probability* et *exceedance probability*) sur un graphe ; plus la probabilité est élevée, plus le modèle ou la famille est meilleur(e). Enfin, le BMA permet de rendre compte des paramètres d'un modèle moyen de la meilleure famille. Il est alors possible de tester la significativité des paramètres de ce modèle moyen grâce à des t-tests (seuil : $p < 0.05$ non-corrigé). Un paramètre positif rend compte d'une excitation tandis qu'un paramètre négatif rend compte d'une inhibition.

Résultats

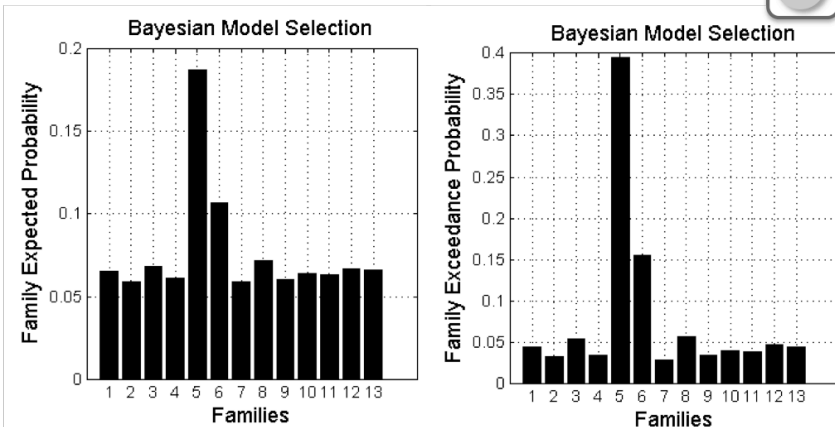
La sélection par BMS montre que le meilleur modèle est le 1.5.7, correspondant à une entrée externe de la stimulation arrivant sur l'insula ipsilatérale, une modulation du leurre de la durée agissant sur les connexions réciproques entre le DLPF et les deux insulæ et une modulation de l'intensité de stimulation agissant sur les connexions réciproques entre les deux insulæ (**figure 11**).

Le BMA et les multiples t-tests utilisés pour tester la significativité des paramètres du modèle moyen de la famille 1.5 montrent que toutes (sauf une) les connexions intrinsèques du modèle sont significatives et excitatrices. L'entrée externe de la stimulation bimodale sur l'insula ipsilatérale est inhibitrice bien que très faible mais extrêmement significative. La modulation excitatrice de l'intensité de stimulation n'est significative que sur la connexion allant de l'insula ipsilatérale vers l'insula controlatérale. Et enfin la modulation de l'illusion d'une durée plus longue est inhibitrice sur les connexions entre le DLPF droit et les insula mais elles ne sont pas significatives (**figure 12**).

1^{er} niveau : entrée externe de la stimulation bimodale



2^e niveau : modulation du leurre de la durée



3^e niveau : modulation de l'intensité de stimulation

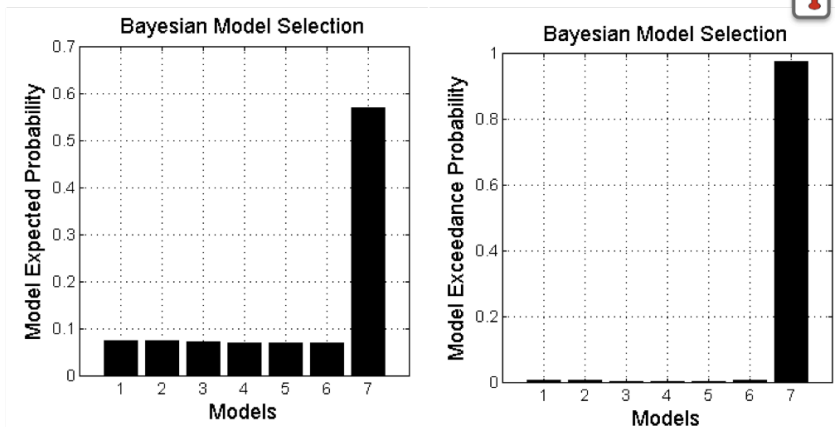


Figure 11 : Sélection du meilleur modèle par BMS (DCM10).

La sélection par BMS a été faite en 3 étapes : 2 étapes de sélection de famille, l'entrée externe puis la modulation du leurre de la durée, et enfin la sélection du meilleur parmi les 7 alternatives de modulation par l'intensité de la stimulation. Le meilleur modèle qui ressort grâce à cette analyse est le 1.5.7.

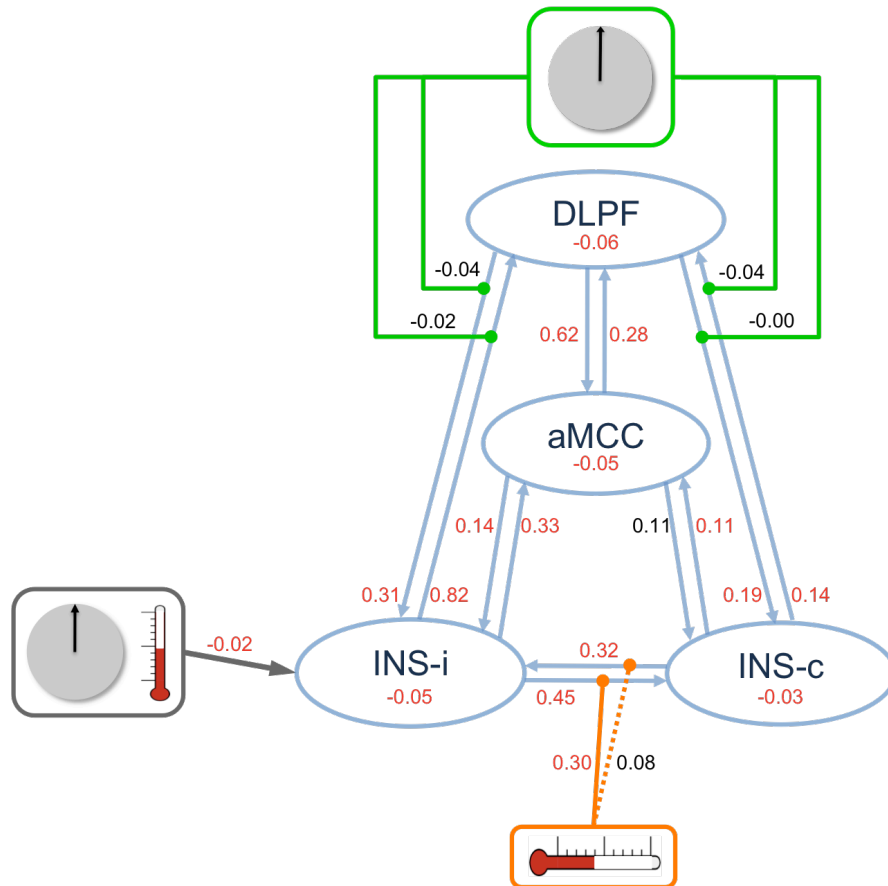


Figure 12 : Meilleur modèle moyen (BMA).
 Le *Bayesian model averaging* permet de rendre compte des paramètres moyens parmi la meilleure famille. En rouge sont les paramètres significatifs et en noir sont les paramètres non significatifs (t-tests, $p < 0.05$ non-corrigé).

Conclusions

Avec cette analyse, nous avons fait l'hypothèse que le DCM nous permettrait de révéler l'effet de l'illusion d'une durée de stimulation modifiée sur des régions non-impliquées dans le traitement des informations purement visuelles (analyse random GLM, **Annexe 2**) mais plus intégratives des informations thermo-nociceptives. Contrairement à ce qui était attendu, l'entrée externe arrive de préférence sur l'insula ipsilatérale (et non pas controlatérale ou des deux côtés), l'absence d'influence forte est étonnante mais pourrait être expliquée par le fait que cette entrée prend en compte les 4 types de conditions avec des valeurs différentes (fortes ou modérées, longues ou courtes), qui pourraient se contrebalancer. L'effet d'une stimulation d'intensité plus élevée renforce l'influence excitatrice de l'insula ipsilatérale sur l'insula controlatérale. Enfin, l'illusion d'une durée **plus longue** agit de préférence sur la communication entre le DLPF et les insula, mais son effet très faiblement inhibiteur n'est pas significatif. Cette absence d'effet suggère que cet effet est trop faible pour être détecté (chez les 15 sujets inclus dans l'analyse), ou bien que l'illusion de la durée de stimulation n'a une influence que sur les régions occipito-pariétales comme nous l'avons vu précédemment et pas sur le cortex préfrontal ou le reste du réseau comme cela était attendu car l'illusion de la durée module effectivement la douleur perçue.

Chapitre 4

Caractérisation de la réponse hémodynamique à la douleur

Chapitre 4 – Caractérisation de la réponse BOLD à la douleur

Dans le chapitre précédent, nous avons pu observer grâce à l'analyse ICA que la forme de la réponse hémodynamique dans des conditions douloureuse est variable, différente selon les régions cérébrales et qu'elle ne ressemble pas à une HR canonique ce qui a aussi été trouvé par d'autres études (Moulton et al., 2005 ; Upadhyay et al., 2010). Il nous apparaît donc d'autant plus important d'étudier les caractéristiques principales de ces réponses en fonction de leur type, de leur localisation, de leur durée, afin de recueillir le mieux possible le signal correspondant au traitement des informations cérébrales. Nous faisons donc l'hypothèse qu'avec un design expérimental de type évènementiel et une séquence fonctionnelle permettant d'acquérir avec une très bonne résolution temporelle les variations de signal BOLD, il nous sera possible de caractériser au mieux la réponse hémodynamique à la douleur et de la comparer à la HR à une stimulation non-douloureuse.

L'étude de faisabilité conduite par A. de Fréminville (Martin) dans notre équipe a montré que pour améliorer considérablement la résolution temporelle, il est possible de réduire le temps de répétition à 100 ms si l'on se limite à une seule coupe de cerveau passant par les régions d'intérêt. Mais ce type d'acquisition a plusieurs inconvénients, le principal étant que l'utilisation d'une coupe unique ne permet pas d'appliquer les pré-traitements classiques utilisés pour les données de fMRI, en particulier le réalignement permettant d'éliminer les effets des mouvements de la tête. Un autre inconvénient est que le signal correspondant à une région donnée est plus faible car ne provenant que d'une seule coupe. Cette étude préliminaire a montré qu'il est possible d'acquérir des données de fMRI avec une meilleure résolution et d'extraire la réponse hémodynamique correspondant aux régions insulaires et cingulaire.

Une dizaine d'expériences pilotes ont été réalisées sur un scanner IRM 3T Siemens, afin de choisir au mieux les paramètres de la séquence fonctionnelle, du dessin expérimental, du timing du paradigme évènementiel, de la localisation des stimulations et du traitement des données fonctionnelles. Tout d'abord, la solution de l'acquisition d'une coupe unique n'a pas été retenue car bien que le principal avantage soit la très bonne résolution temporelle ($TR = 81$ ms), cette configuration ne permet pas d'acquérir des données dans une session de plus de 5 minutes étant donné que le nombre de volumes maximum est limité sur les imageurs Siemens à 4096. Ce nombre important de volumes (comparé aux 200 habituels) est très limitant car il nécessite toute la mémoire de l'ordinateur sur lequel sont faites les analyses. Il ne nous est donc pas possible de traiter les différentes sessions d'un même sujet ensemble, ce qui limite le pouvoir statistique. Comme il a été dit précédemment, le pré-traitement de coupes uniques n'est pas possible et il en

va de même pour les logiciels de traitement qui sont conçus pour traiter un volume de cerveau entier.

Nous avons opté pour un compromis entre le nombre de coupes, l'acquisition des régions d'intérêt et la résolution temporelle en utilisant une séquence contenant 10 coupes acquises en 641 ms, positionnées dans l'axe AC-PC + 30° et centrées sur l'insula et l'ACC. Le dessin expérimental a également été testé. Nous avons demandé au sujet de coter le caractère douloureux ou non de chaque stimulation (réponse binaire) car cela ne demande pas de trop grandes ressources cognitives et attentionnelles au volontaire. En effet, l'utilisation d'une VAS (*visual analog scale*) pour coter l'intensité de la douleur pendant la stimulation ajoute un facteur confondant car il implique les régions de la « matrice douleur » de manière plus importante (Schoedel et al., 2008). Contrairement au fait de simplement demander au sujet d'être attentif aux stimulations ou de les compter, il nous est possible avec une réponse binaire de séparer les stimulations douloureuses de celles qui ne le sont pas. Il est ainsi possible de comparer la réponse hémodynamique à des stimulations laser douloureuses et non douloureuses. La localisation de la stimulation laser a été choisie sur la main car celle-ci est mieux représentée dans le cortex sensori-moteur et les sensations douloureuses sont plus reproductibles que sur le pied. Afin d'augmenter le pouvoir statistique nous avons choisi de répéter les sessions. Dans le but de correctement estimer la réponse BOLD à la stimulation et de pouvoir la décorrélérer de la cotation, le délai entre les stimulations a été choisi entre 9 et 25 s et l'ordre randomisé sur la durée de la session afin de mieux échantillonner la HR et de limiter l'habituation et l'anticipation du sujet à la stimulation ; tout en gardant un nombre de répétitions (stimulations) suffisant pour avoir une bonne quantité de signal mais pas trop important pour éviter tout risque de lésion de la peau.

4.1 Caractérisation de la réponse hémodynamique à des stimuli laser douloureux ou non douloureux

4.1.1 Résumé

Objectif

L'objectif de cette étude est de caractériser avec une haute résolution temporelle et spatiale, le déroulement temporel de la réponse hémodynamique dans deux régions importantes pour le traitement des informations douloureuses, qui sont l'insula et le cortex cingulaire.

Méthodes

Pour cela, 21 volontaires sains vont être soumis à des stimulations laser de même intensité (seuil nociceptif des fibres A δ) et devront décider après chaque stimulation si la stimulation a été perçue comme douloureuse ou non. Ensuite la réponse hémodynamique correspondant aux deux perceptions sera extraite avec deux méthodes différentes (FIR et HRF canonique) et leurs caractéristiques seront comparées dans les deux régions d'intérêt.

Résultats & Discussion

L'amplitude de la réponse hémodynamique (HR) permet de discriminer les conditions douloureuses des conditions non-douloureuses dans l'insula moyenne et postérieure. Les conditions de douleur sont caractérisées par réduction de la latence de la HR (par rapport aux conditions non-douloureuses) dans l'insula antérieure et dans la partie moyenne du cortex cingulaire antérieur. Ces résultats suggèrent donc une double dissociation dans l'organisation fonctionnelle de l'insula pour le traitement de la douleur.

4.1.2 Article étude n°3

Submitted in CEREBRAL CORTEX

The “where” and the “when” of the BOLD response to pain in the insular cortex. Discussion on amplitudes and latencies.

Abbreviated title: **Amplitude/latency of insular BOLD as pain markers**

Florence B Pomares^{a, b, c, d}, **Isabelle Faillenot**^{a, b, c, e}, **Fabrice Guy Barral**^{b, c, f}, **Roland Peyron**^{a, b, c, d}

^a Central Integration of Pain, Neuroscience Research Center, U1028 INSERM, F-42023, France;

^b Université de Lyon, Saint-Etienne, F42023, France;

^c Jean Monnet University, Saint-Etienne, F-42023, France;

^d Department of Neurology and Pain Center, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

^e CMRR Unit, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

^f Department of Radiology, University Hospital, Saint-Etienne, F-42055, France;

Abstract

The operculo-insular cortex has been recently pointed out as the main area of the pain matrix to be involved in the integration of pain intensity. This fMRI study specified the pattern of response to laser stimuli by focusing on this cortical area, by optimizing the temporal sampling and by investigating pain-specific differences in the amplitudes and latencies of the BOLD responses. Canonical and temporal derivative hemodynamic response function (HRF) and finite impulse response (FIR) modeling provided consistent results. Amplitude of BOLD response discriminated painful from non-painful conditions in posterior and mid-insular cortex, bilaterally. Pain conditions were characterized by a shortened latency (as compared to non-painful conditions) in the anterior insula and in the anterior midcingulate cortex. In the functional organization of the insula, these results suggest a double dissociation that can be summarized as the ‘where’ and the ‘when’ of the BOLD response to pain. While discriminative processes on the amplitude of the BOLD response concern the posterior and the mid-insular cortex, shortened latency of the response is observed in the anterior insula specifically during painful conditions.

Introduction

Over the last two decades, a discrete number of brain regions have been shown to respond, more or less consistently, to painful sensations (Apkarian et al., 2005; Peyron et al., 2000; Tracey and Mantyh, 2007), leading to the concept of pain matrix. These regions include cerebellum, putamen, thalamus, insular cortex (IC), anterior cingulate cortex (ACC), secondary somatosensory cortex (S2), primary somatosensory cortex (S1), supplementary motor area (SMA) and premotor area (Bornhövd et al., 2002; Büchel et al., 2002; Coghill et al., 1999), some of these brain areas being activated as a function of perceived pain (Büchel et al., 2002; Bornhövd et al., 2002; Oertel et al., 2011). Among this network, the operculo-insular and the anterior cingulate regions are considered as having the most consistent activations and as being of crucial importance for thermosensory and pain processing (Garcia-Larrea et al., 2010; Peyron et al., 2000; Tracey and Mantyh, 2007).

However, within these regions, there are still major uncertainties on the temporal dynamics of pain responses responses, the approach of which is generally investigated with laser-evoked potentials (LEPs) and their low spatial resolution and their low brain sampling (Frot et al., 2007; Garcia-Larrea et al., 2010; Isnard et al., 2011). In a first attempt to answer this issue, Casey and colleagues (2001) defined early and late nociceptive responses with technical limitations due to the poor temporal resolution of positron emission tomography (PET). Thereafter, functional magnetic resonance imaging (fMRI) has improved a lot the temporal resolution, but only recently a few fMRI studies investigated these chronological aspects. They showed that blood-oxygen-level dependent (BOLD) responses within the pain matrix were not synchronous (Moulton et al., 2005) and that the shape of the BOLD response to pain was different of a canonical response (Chen et al., 2011; López-Solà et al., 2010; Upadhyay et al., 2010). In addition, within the pain matrix, the specificity of the activations for pain has been recently brought to controversy. It has been proposed that sensorial visual and auditory processes could share with pain processes a common and unspecific pattern of activations (Mouraux and Iannetti, 2009; Mouraux et al., 2011), considered as being related to the salience of stimuli (Baliki et al., 2009; Legrain et al., 2010).

In the present study, we concentrated on the operculo-insular and anterior cingulate cortices to investigate with optimized temporal resolution the shape and dynamics of the BOLD response to painful and non-painful events. To this aim, we exploited the finding that for a given intensity of laser stimulation, perception may be very different, the main advantage of such a dissociation between stimulus-intensity and pain perception being that the brain interprets as painful or not, stimulations of identical energy. Comparisons of BOLD responses to stimuli perceived as painful to those perceived as non-painful with two different methods provide the opportunity to directly assess specificities of pain responses.

Materials and Methods

Participants

Twenty-one healthy subjects participated in the study (10 females, 11 males; mean age: 24.9 years [SD 4.25]). Seventeen were right-handed according to the Edinburgh inventory (Oldfield et al., 1971). Participants had no history of neurological, psychiatric or chronic pain disease and did not take any medication except contraceptive. They were paid for their participation, and all provided written informed consent. The Ethics Committee of Saint-Etienne University Hospital, France approved the study.

Stimuli

Perception and nociceptive thresholds were determined the week before the fMRI session by delivering three consecutive stimuli at increasing and decreasing intensities. They were defined as the lowest intensities at which the subjects considered at least 50 % of the stimuli as perceived or painful, respectively. Laser stimulations were applied with a Nd:YAP laser device ($\lambda = 1.34 \mu\text{m}$, duration: 5 ms, diameter: 6 mm, adapted to A δ fibers) on the radial dorsum of the left hand. Stimulation intensity was set to a subject's rating score of 4-5 on a 10-points pain scale. Laser spot was moved after each stimulation to prevent sensitization or habituation of skin receptors. To adjust the extremity of the laser fiber orthogonally to the skin and to ensure a constant distance to the skin, the extremity of the laser beam was fixed in a home-made support arm, allowing movements in the horizontal plane and preventing from movement of the experimenter. In this study, we used our experience and the observation that, for a given intensity of stimulation (low range of A δ fibers threshold), in the conditions described above, stimuli may be either perceived as painful or not painful.

Design

The paradigm was presented with E-Prime® 2.0 Professional presentation software (Psychology Software Tools Inc., www.pstnet.com) connected to a 1400 x 1050 pixels video projector positioned at the feet of the subject. Visual cue for rating was displayed on the projection screen with a 40 x 50 cm size and the subjects could see it by mean of mirrors positioned on the head coil.

A total of 184 laser stimulations were distributed over 4 different sessions of 46 stimulations. The length of each session was 12' 05". After each stimulation, when visual cue appeared in their visual field, subjects were asked to indicate whether the stimulation was painful (P) or non-painful (NP) by pressing a R/L button with the index and middle finger of the right hand. We preferred not to use a visual analog scale to score pain intensity during scanning to minimize the cognitive processing associated with the subject's response (Schoedel et al., 2008). In the

absence of response, stimulus was considered as not felt. The delay between stimulation and rating signal as well as the delay between rating signal and next stimulation were jittered to decorrelate and properly sample hemodynamic response of both types (mean: 2.9 s, range: 1.25 to 7.5 s and 11.7 s, range: 4.8 to 20 s respectively) according to Dale et al., 1999. The optseq software (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/optseq>) was used to generate four different timings of events, which were randomly presented to the subjects in four sessions.

Data acquisition

Blood oxygenation level dependent (BOLD) response was recorded on a 3T magnetic resonance scanner (Verio, Siemens) equipped with a 12-channel head coil. The subject's head was immobilized using foam pads. High-resolution (TR: 1800 ms, TE: 2.4 ms, 224 slices, voxel size: 0.9 x 0.9 x 0.9 mm) T1-weighted anatomical images were acquired in the sagittal plane for each subject. Using a T2*-weighted EPI (TR: 641 ms, TE: 30 ms, flip angle 90°, FoV = 224 mm, voxel size: 3.5 x 3.5 x 7 mm), 1123 imaging volumes per session were acquired. Gradient spoiling, consisting in 3 diffusion gradients in opposite phase, was used to reduce residual magnetization due to the short-TR acquisition. The sequence had three gradient spoilers to deal with carry-over effects due to the use of a short TR. The acquisition of 10 continuous slices (matrix = 64 x 64) was centered on the insula (orientation: AC-PC + 30°, **figure 1**). Primary sensory motor cortices as well as occipital cortices were therefore not scanned.

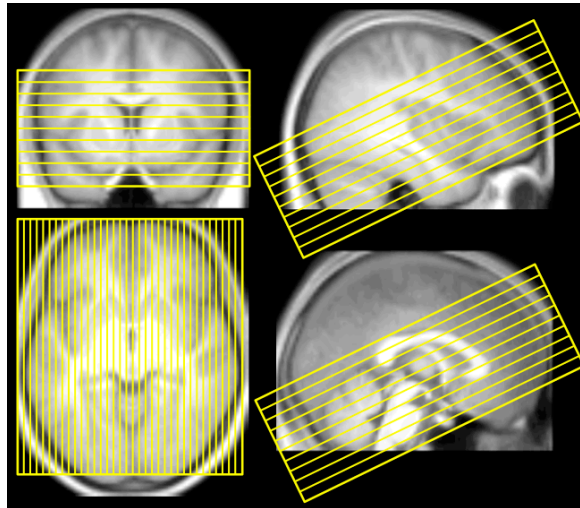


Figure 1: Acquisition field of one representative subject. 10 contiguous slices, 7 mm thick were acquired in AC-PC + 30° plane, centered on the insular cortex.

Preprocessing

fMRI data were preprocessed and analyzed with SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging). The first 7 functional scans from each session were discarded prior to the subsequent analyses. EPI images were realigned and averaged. Anatomical images were

coregistered to the mean functional image and then they were passed through the 'segment' function which segments, bias corrects and spatially normalizes the data, all in the same model (Ashburner and Friston, 2005). The normalization parameters were then applied to the T1 and EPI images. EPI were resampled at 2 x 2 x 2 mm for the canonical and temporal derivative HRF analysis and at 4 x 4 x 4 mm for the finite impulse response analysis (see below). Then, both data sets were smoothed with a 7 x 7 x 7 mm full-width at half-maximum Gaussian kernel in order to reduce residual intersubject variability, which is about 5mm (Crinion et al., 2007). Normalized anatomical images of all subjects were averaged for subsequent localization of statistical results. High-pass filtering (cutoff period of 128 s) was applied to reduce the effect of slow signal drifts and the serial correlation was compensated by "prewhitening" the data with a first-order autoregressive model.

Preparation of the data for first-level analyses

Statistical analyses at the first level were calculated using an event-related design, with four types of events (P, NP, visual cue, rating) and four runs. Undetected stimuli were not modeled. Sessions comprising only P or only NP events were discarded from the analysis (1 session for 3 subjects). The six motion parameter vectors from the realignment procedure were included as regressors of no interest to account for artifacts caused by head motion.

Shape of BOLD: 'FIR analysis'

In order to characterize the hemodynamic response (HR) to laser stimuli in regions known to respond to painful events, and thus to differentiate its shape according to the quality of the perception (P or NP), a finite impulse response (FIR) analysis was used to extract condition-specific HR time course, without *a priori* on its shape (Henson, 2003). P and NP events were modeled with FIR while visual cue and motor response were modeled with canonical HRF. Time window was set to 25 s corresponding to the independent evaluation of the BOLD response in 39 time segments (called 'time bins') of 641 ms length each. This method also permitted to extract accurate latency (time-to-peak) values from the curves and to make good estimates of P vs. NP latency differences. Amplitude and width that are not independent parameters (Lindquist and Wager, 2007) were not estimated with FIR.

Subject-specific F-contrasts were computed to evaluate the entire time window in P and NP conditions. Then, we extracted HR of P and NP conditions from the first eigenvalue in 11 boxes covering the insula, on both sides. Since the effective resolution of our images is about 3.5 x 3.5 x 7 mm, boxes were defined as cubes 12 mm on a side. The first four boxes were positioned along the major anterior-posterior axis of the insula. Then other boxes were positioned above and below providing 11 boxes named according to their position: A1 to A3 in the anterior, M1 to M4 in the median and P1 to P4 in the posterior parts of the insula, with a -c suffix for the side contralateral

to stimulation and a -i suffix for ipsilateral boxes. Voxels located outside the volume acquired in all subjects or outside the mean anatomical volume of the insula were excluded. Additionally, P and NP HRs were extracted in anterior midcingulate cortex (aMCC), defined as the intersection between acquisition volume common to all subjects and aMCC region. The subregions of the cingulate cortex were defined as the intersection between the cingulate cortex from AAL toolbox (Automatic Anatomical Labelling, Maldjian et al., 2003; Tzourio-Mazoyer et al., 2002) and the subregions from the Vogt nomenclature (Vogt et al., 2003; Vogt, 2005).

Differences in amplitude of BOLD: 'HRF analysis'

In order to map condition-specific differences in amplitude of HRF, a more classical SPM analysis was done. The four event types were modeled using a canonical HRF and its time derivative to consider time variation in the HRF peak. This analysis will be called 'HRF analysis' in this paper. After computing subject-specific T-contrasts, a random-effects analysis across the group included all 21 subjects contrasts and was performed using one-sample t tests (Friston et al., 2005). Results are reported at a $p < 0.05$ family-wise error (FWE) corrected threshold, on the mean anatomical image.

Differences in latency of BOLD

Differences in latencies of BOLD responses were computed from both FIR and canonical and time derivative HRF analyses. Firstly, from curves estimated with the 'FIR analysis' for each participant and each condition, time-to-peak was measured. The peak was searched inside a time window from 3.5 s to 7 s in order to avoid physiologically implausible results (Calhoun et al., 2004; Steffener et al., 2010). Statistical significance of latency differences between conditions were conducted on R (<http://www.r-project.org>) with non-parametric paired Wilcoxon tests ($df = 1$) because of the ordinal class of the data. Spearman rho (ρ) was computed to test the correlation between anterior-posterior position and time-to-peak values. Results were reported significant at a $p < 0.05$ after false discovery rate (FDR) correction for multiple comparisons ($n=484$).

Secondly, using data of the 'HRF analysis', voxel-wise time-to-peak maps were built according to the method developed by Steffener et al. (2010). It takes into account information from both canonical and temporal derivative HRFs to be specifically sensitive to temporal shifts. After computing single-subject time-to-peak images for both P and NP conditions, paired non-parametric tests (5000 permutations) were performed to compare P to NP at group level, using SnPM8. This led to group maps of significant P vs. NP latency differences. Results are reported at a $p < 0.05$ family-wise error (FWE) corrected threshold, on the mean anatomical image.

Results

Psychophysics

Laser stimulations were perceived as painful (P) in (mean [SD]) 52.7 % (20.3) of cases and as non-painful (NP) in 43.3 % (18.5) of cases. They were undetected in only 4 % (5.9) of cases. The proportions of NP and P stimuli did not differ across sessions (Friedman test, $df = 3$, NP: $\chi^2 = 2.99$, $p = 0.39$; P: $\chi^2 = 3.34$, $p = 0.34$). Compared to undetected stimuli, both NP and P conditions were significantly more frequent (paired Wilcoxon tests on undetected vs. NP or P for each session: $p = 0.00094$ FDR). The proportion of NP stimuli was not different from those of P, across sessions (paired Wilcoxon tests on NP vs. P for each session: $p > 0.29$ FDR, **figure 2a**). Mean perceived intensity of painful stimuli was stable across sessions: 4.36 (1.66) (Friedman test, $df = 3$, $\chi^2 = 4.45$, $p = 0.22$, **figure 2b**).

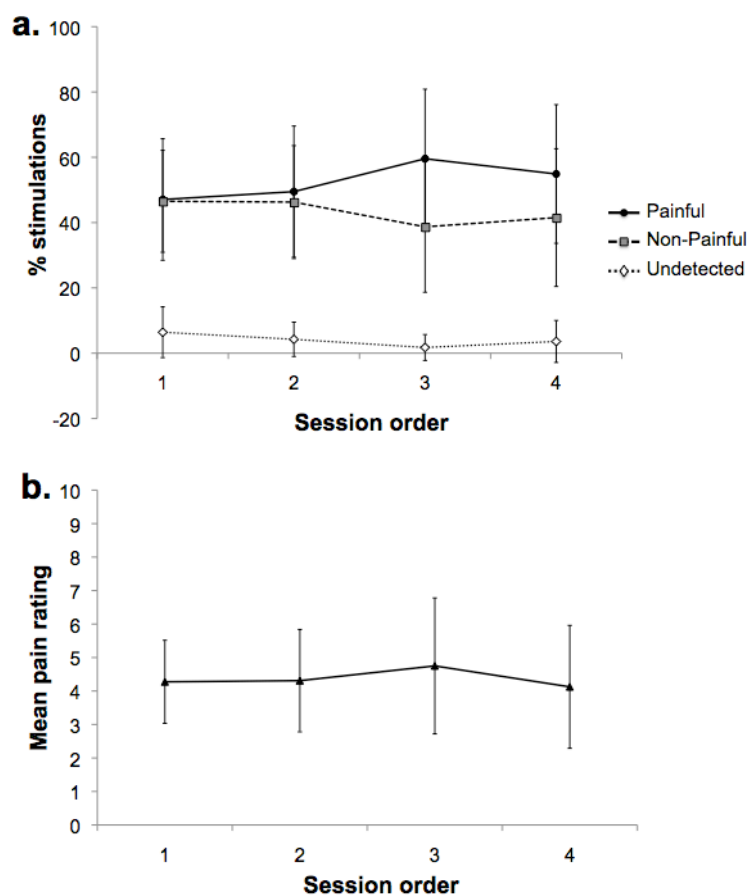


Figure 2: Psychophysical results.

(a) Percentage of painful (P), non-painful (NP) and undetected laser stimulations per session in chronological order represented as mean \pm SD of 21 subjects. The proportion of P and NP sensations evoked by laser stimuli was equivalent. For the intensities of stimulation that were used, the percentage of undetected stimuli was rare and differed significantly from the percentage of perceived (painful or not) stimuli. The order of the four different sessions was randomized across subjects. Trends to sensitization for P conditions and to habituation for NP conditions across sessions were not significant. Proportions of NP and P stimuli were not different, whatever the session. (b) Mean pain rating \pm SD for painful condition recorded at the end of each session. Please note that sessions did not statistically differ in terms of pain intensity.

Shape of BOLD

HR shape as estimated by the 'FIR analysis', for P and NP stimuli looks like a canonical HRF peaking around 5 s for all boxes studied (**figure 3, figure 4**).

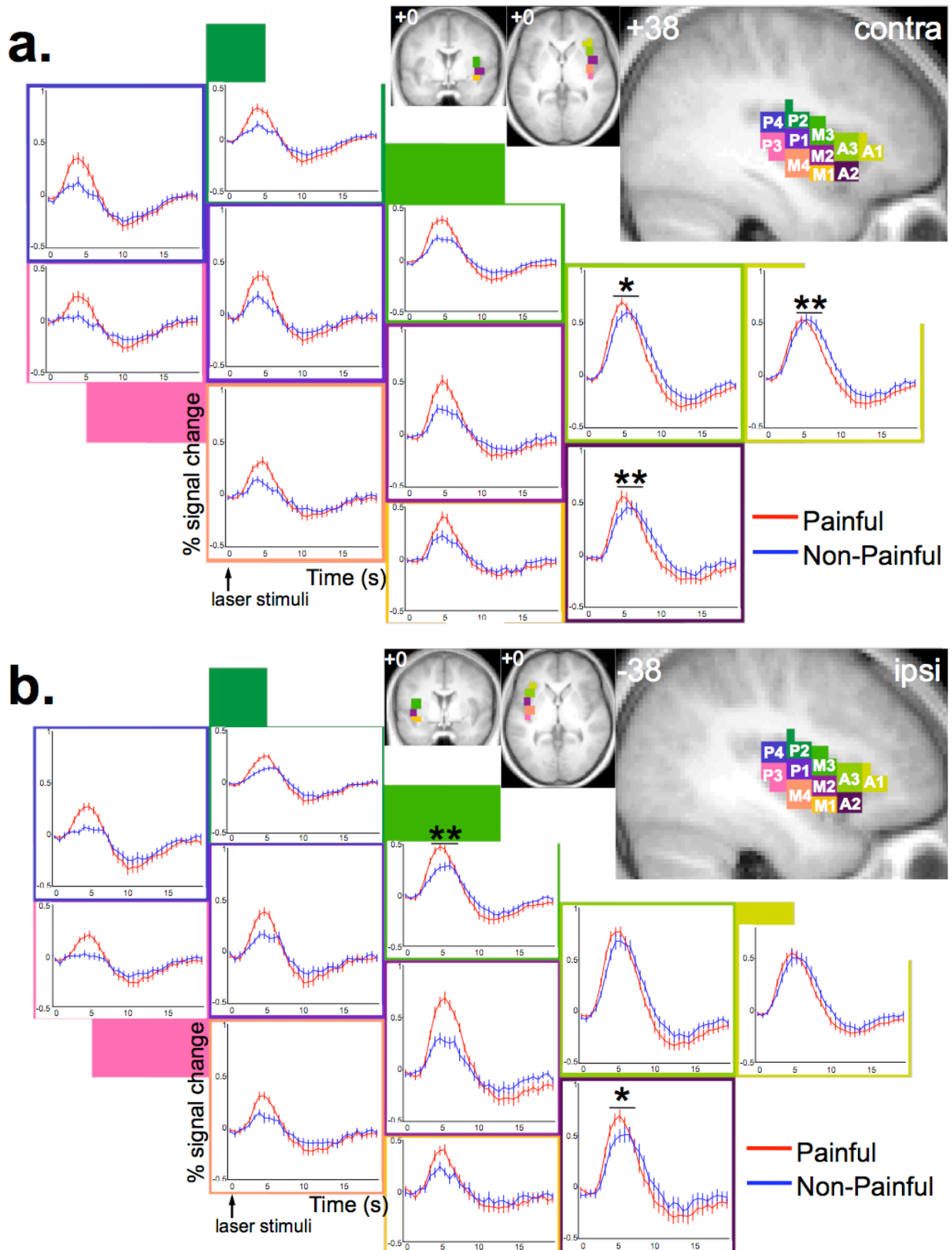


Figure 3: Shape and differences in latency of BOLD response in the insula.

Hemodynamic responses extracted from 'FIR analysis' (finite impulse response), without a priori information on latency. Mean \pm SEM was calculated from subject-specific eigenvalue of 11 boxes (33 voxels) on both (a) contralateral and (b) ipsilateral insula. Time course of the hemodynamic response is represented as percent of signal change on a 25 s time window starting at the onset of laser stimuli, with a temporal resolution of 641 ms. Significant differences of latency between painful and non-painful conditions are represented (Paired Wilcoxon tests, ** $p < 0.05$, * $p < 0.1$ FDR corrected). There was no time-to-peak difference between ipsi- and contralateral insula except in M1 box: M1-c response peaking before M1-i response for both painful and non-painful conditions (paired Wilcoxon tests, $p < 0.05$ FDR corrected). Please note that M2-M4 and P1 boxes displayed differences of amplitude in BOLD response as shown in **figure 5**.

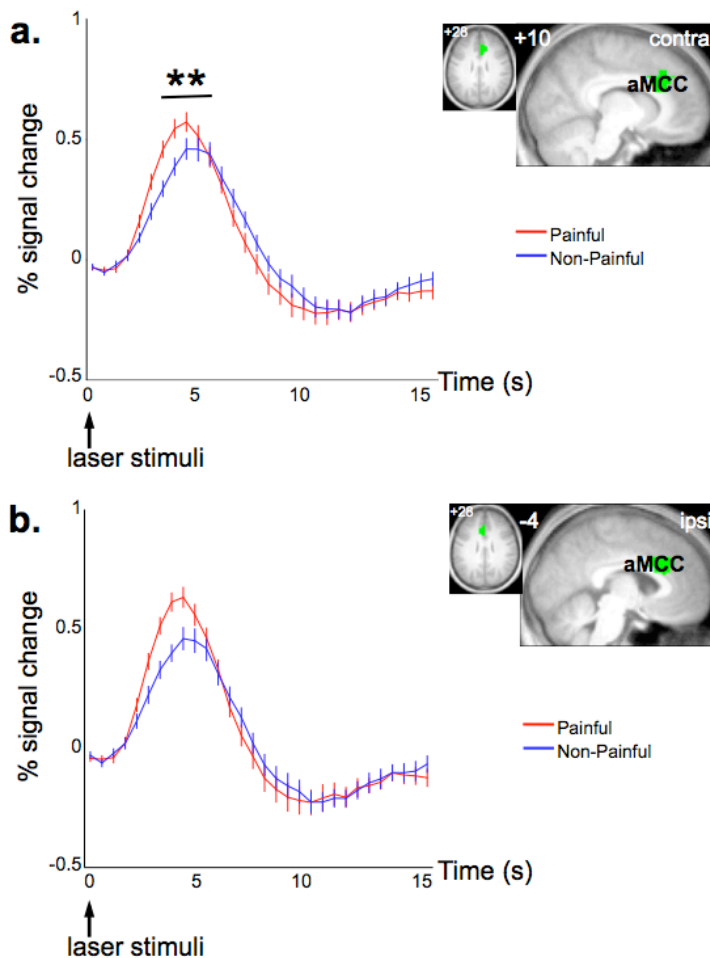


Figure 4: Shape and differences in latency of BOLD response in aMCC.

Hemodynamic responses extracted from 'FIR analysis' (finite impulse response), without *a priori* information on latency. Mean \pm SEM was calculated from subject-specific eigenvalue of anterior midcingulate cortex (aMCC) on both (a) contralateral and (b) ipsilateral side. Time course of the hemodynamic response is represented as percent of signal change on a 25 s time window starting at the onset of laser stimuli. The hemodynamic response to painful condition peaks significantly earlier than the response to non-painful condition in the contralateral aMCC (Paired Wilcoxon tests, ** $p < 0.05$ FDR corrected).

Differences in amplitude of BOLD

Canonical HRF contrasts for P and NP stimulations activated brain regions of the pain matrix that were included in the acquisition volume, i.e. both ipsi- and contralateral anterior insular cortices (AIC), aMCC, S2, middle frontal cortex (Fmid), caudate nucleus, thalamus and cerebellum. Activations elicited by P stimuli as compared to NP stimuli were generally more extended, particularly in a posterior direction for the insular cortex (**table 1 a & b**).

Canonical P – NP contrast showed significant differences in the inferior middle and superior posterior insula bilaterally, in a small cluster in aMCC (**figure 5, table 1c**). According to the superimposition of P – NP contrast on the anatomical and functional subdivisions described in the operculo-insular cortices (Eickhoff et al., 2006b; Kurth et al., 2010a; Mazzola et al., 2012), P stimuli activated more intensely than NP the postcentral insular gyrus (PostCG), the superior part of granular insular cortex 2 (Ig2) as well as parietal operculum 2 and 3 (OP2, OP3). Unlike contralateral activation, the ipsilateral activation was extended anteriorly to the precentral (PreCG) and middle short (MSG) insular gyri.

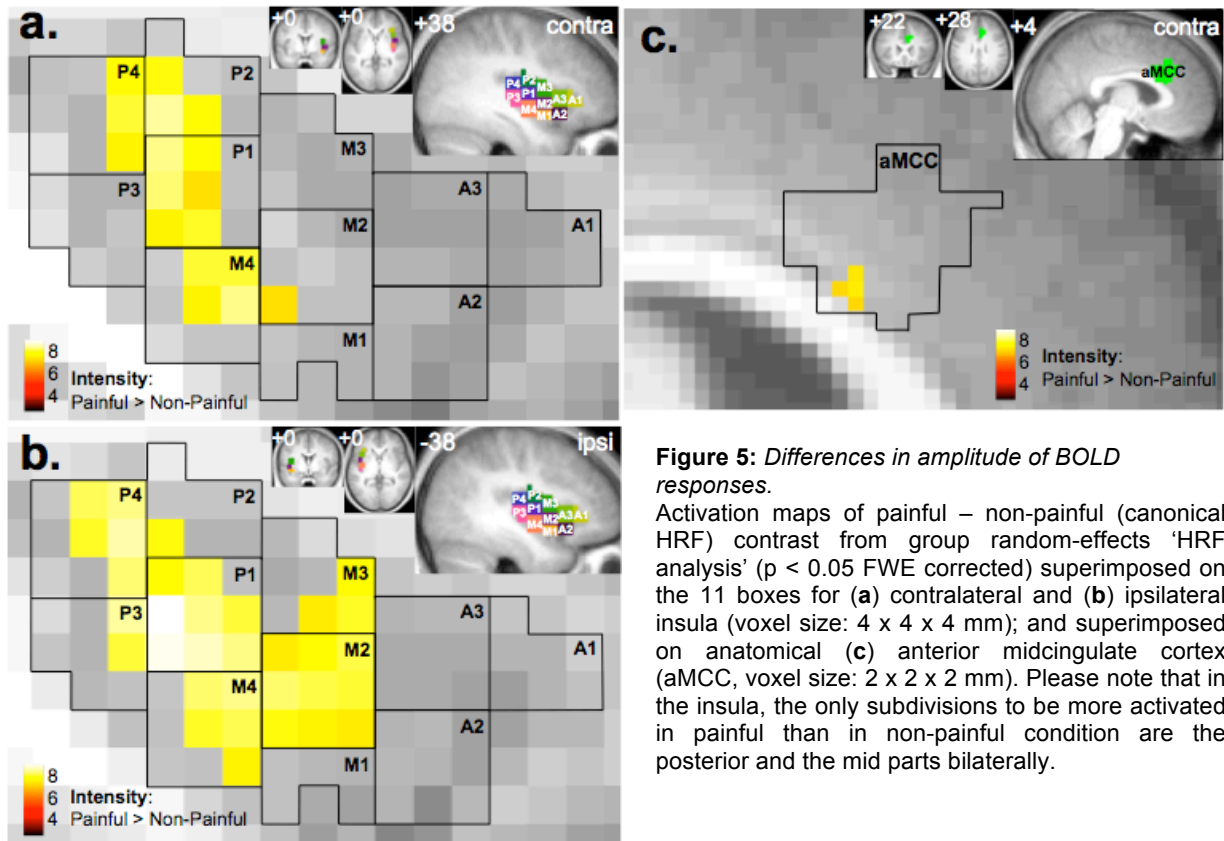


Figure 5: Differences in amplitude of BOLD responses.

Activation maps of painful – non-painful (canonical HRF) contrast from group random-effects ‘HRF analysis’ ($p < 0.05$ FWE corrected) superimposed on the 11 boxes for (a) contralateral and (b) ipsilateral insula (voxel size: $4 \times 4 \times 4$ mm); and superimposed on anatomical (c) anterior midcingulate cortex (aMCC, voxel size: $2 \times 2 \times 2$ mm). Please note that in the insula, the only subdivisions to be more activated in painful than in non-painful condition are the posterior and the mid parts bilaterally.

Differences in latency of BOLD

In A1-c and A2-c as well as M3-i boxes, latencies extracted from ‘FIR analysis’ were significantly shorter in P as compared to NP conditions (A1-c: $p = 0.027$, A2-c: $p = 0.03$, M3-i: $p = 0.038$ FDR, **figure 3**). A2-i and A3-c boxes had a similar (sub-significant) trend to an earlier response in P compared to NP conditions (A2-i: $p = 0.056$, A3-c: $p = 0.054$ FDR, **figure 3**). There was a linear relationship between the position along the (y) anterior-posterior axis and latency, only in contralateral insula and only for painful conditions ($\rho = 0.87$, $p = 0.00046$, **figure 6**). There was no significant correlation in other conditions (**table 2**). There was no significant difference in time-to-peak between ipsi- and contralateral insula except in M1 which ipsilateral response peaked later than contralateral response both for painful and non-painful conditions (P: $p = 0.022$, NP: $p = 0.026$ FDR). In the contralateral aMCC, time-to-peak was significantly shortened in P as compared to NP conditions ($p = 0.016$ FDR, **figure 4**).

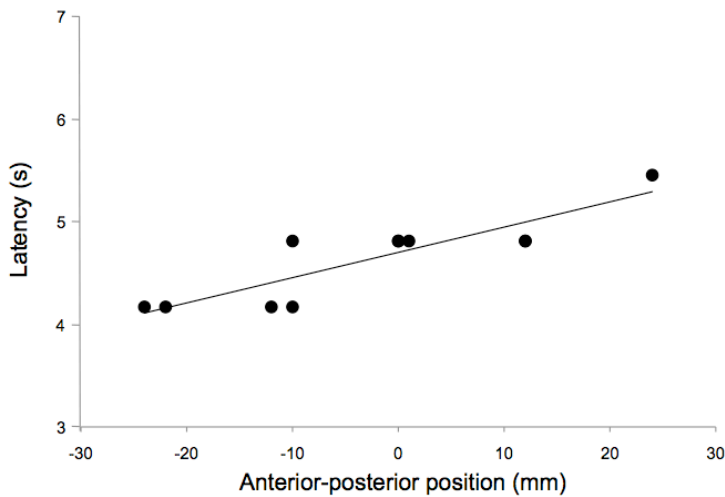


Figure 6: Correlation between latencies and anterior-posterior position. Median latency (time-to-peak) in seconds in contralateral insula for painful condition, represented as a function of y-axis in MNI coordinates (negative value: posterior, positive value: anterior). Only contralateral insula showed a significant correlation between latency and Y coordinates at $p < 0.05$ (Spearman correlation test, $\rho = 0.87$, $p = 0.00046$). In other words, the hemodynamic response to painful stimuli peaks earlier in the posterior insula than in the anterior insula on the side contralateral to laser stimulation.

Accordingly, latency maps computed from 'HRF analysis' showed that only the anterior insular sulcus bilaterally (**figure 7 a & b**) and a small cluster of aMCC bilaterally (**figure 7 c & d**) responded more quickly during painful than during non-painful conditions.

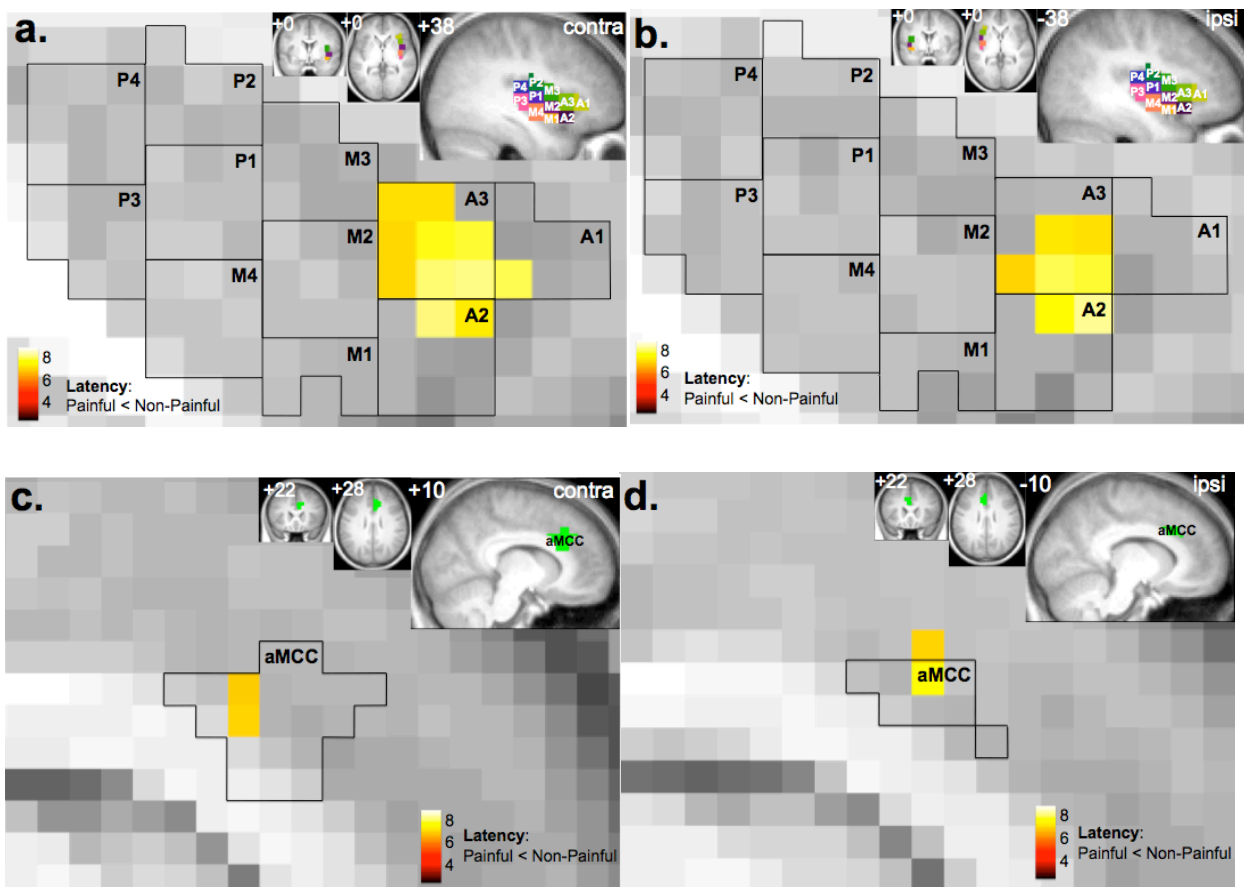


Figure 7: Map of latency differences.

Map of latency differences between non-painful and painful conditions for the group (latencies for painful conditions are shorter than for non-painful conditions) superimposed on the 11 boxes in (a) contralateral, (b) ipsilateral insula, (c) contralateral and (d) ipsilateral anterior midcingulate cortex (aMCC). Please note that only the anterior part of the insula as well as a small cluster in aMCC are concerned by this latency difference (non-parametric tests on individual voxel-wise time-to-peak maps, $p < 0.05$ FWE, Steffener et al., 2010).

Region	Side	a. Non-painful						b. Painful						c. Painful - Non-Painful					
		Coordinates			Voxel level			Coordinates			Voxel level			Coordinates			Voxel level		
		X	Y	Z	T score	P value	Voxels	X	Y	Z	T score	P value	Voxels	X	Y	Z	T score	P value	Voxels
Anterior insula	I	-38	14	-2	11.85	0.000	3325	-36	14	-4	20.28	0.000	9493						
	C	-32	20	-4	11.51	0.001		-28	16	0	17.94	0.000							
aMCC	I	34	14	2	11.88	0.000		38	18	-4	18.03	0.000							
	C	38	0	-8	6.09	0.038	5												
Posterior insula	I	-6	20	34	10.86	0.000	1265	-2	28	28	14.95	0.000	2327						
	C	6	22	32	11.22	0.000		-8	16	34	13.24	0.000		4	20	22	6.32	0.029	4
DLPF	I	-38	-4	16	10.25	0.000	99	-38	-2	14	13.26	0.000	9493	-38	-12	4	8.52	0.001	495
	C	-36	-4	-8	6.43	0.022	15	-38	-14	16	6.61	0.015	9493	-38	-18	14	8.23	0.001	
Frontal inferior	I	38	-4	-10	5.93	0.050	1	40	-14	16	6.91	0.009	9493	-34	6	10	8.09	0.002	
	C							40	0	8	8.89	0.000	9493	42	-12	12	8.84	0.001	315
S2	I	-34	48	10	6.60	0.016	69	-30	44	18	8.15	0.001	493	38	-6	-6	7.89	0.002	
	C	-30	42	20	6.52	0.018		-34	32	22	7.15	0.006		40	-10	2	7.31	0.006	
Cerebellum	I	38	42	4	6.39	0.023	7	40	38	12	6.45	0.020	34						
	C	-56	6	10	9.13	0.000	193	38	40	4	6.43	0.020							
Hippocampus	I	-34	30	24	6.27	0.028	4	-54	6	12	6.13	0.000	9493						
	C	-10	-76	-42	5.95	0.048	1	-30	-56	-30	7.45	0.004	138						
Vermis	I	-22	-60	-34	6.01	0.041		-10	-74	-42	6.94	0.009	100						
	C	-8	-74	-24	6.85	0.010		-14	-66	-28	6.10	0.036							
Temporal superior	I	34	-54	-28	8.51	0.001	610	16	-54	-20	7.93	0.002							
	C	16	-54	-20	7.93	0.002		26	-52	-24	7.32	0.005							
Thalamus	I	24	-70	-18	6.00	0.042	5	24	-70	-18	6.00	0.042	5						
	C	-58	-20	18	8.63	0.001	58	-58	-18	18	10.34	0.000	9493						
Hippocampus	I	56	-16	18	8.59	0.001	52	58	-14	18	9.43	0.000	9493						
	C	-40	-50	6	7.51	0.004	13	-46	-50	4	7.19	0.006	30						
Premotor	I	58	-42	10	6.31	0.025	3	-18	-38	0	6.73	0.012	24						
	C																		
Subthalamus	I	-4	-24	-14	6.42	0.022	3325	0	-52	-30	6.88	0.009	22	-2	-58	-16	6.14	0.040	2
	C							6	-64	-14	5.94	0.046	1	4	-56	-10	6.46	0.023	24
Frontal sup medial	I							1	0	-60	-14	6.02	0.048	1					
	C																		
Amygdala	I	12	-6	0	5.97	0.047	1	44	-24	-6	6.27	0.027	10	6	-26	-8	6.66	0.017	9
	C							-4	-12	0	10.51	0.000	9493	-12	48	36	6.04	0.047	1
Temporal superior	I																		
	C																		

Table 1: Coordinates in MNI space of activation peaks for canonical HRF. (a) Non-painful contrast, (b) painful contrast, (c) painful – non-painful contrast from group random-effects analysis ($p < 0.05$ FWE corrected at voxel level). T score and P value of the voxel corresponding to the peak of clusters; voxels represents number of voxels in the cluster. aMCC: anterior midcingulate cortex, S2: secondary somatosensory cortex, DLPF: dorsolateral prefrontal cortex, I: ipsilateral (left), C: contralateral (right).

	Ipsilateral						Contralateral					
	Non-Painful			Painful			Non-Painful			Painful		
	median	min	max	median	min	max	median	min	max	median	min	max
A1	5.45	3.53	9.94	5.45	0.32	11.22	5.45	4.17	6.73	5.45	4.17	6.73
A2	6.09	4.81	7.37	5.45	4.17	6.73	4.17	0.32	9.94	4.81	4.17	10.58
A3	5.45	4.17	7.37	4.81	4.17	6.73	2.88	0.32	8.01	4.81	4.17	6.73
M1	4.81	2.24	8.01	5.45	4.17	9.29	4.81	3.53	6.73	4.81	4.17	6.73
M2	4.81	3.53	6.73	4.81	4.17	6.73	5.45	2.88	12.50	4.81	2.88	5.45
M3	5.45	0.32	6.73	4.81	3.53	5.45	4.17	0.96	8.65	4.81	3.53	5.45
M4	4.17	0.32	12.50	4.81	2.24	5.45	4.17	0.32	9.94	4.81	3.53	6.73
P1	5.45	1.60	6.73	4.81	3.53	12.50	5.45	3.53	6.73	4.17	2.24	12.50
P2	6.09	2.24	11.22	5.45	3.53	11.86	5.45	3.53	8.01	4.17	0.96	12.50
P3	4.17	0.96	6.73	4.17	2.88	9.29	4.17	0.32	6.73	4.17	0.96	6.09
P4	4.81	0.32	8.65	4.17	0.96	9.29	6.09	3.53	7.37	4.17	0.32	5.45

Table 2: Median latencies in seconds. Median latency of activation (in seconds) for each subdivision of the ipsilateral and contralateral insula in both painful and non-painful conditions, obtained with 'FIR analysis'.

Discussion

The present study investigated the localization and time dynamics of BOLD responses to a painful sensation, as compared to an identical stimulation that was perceived as non-painful. The two different methods that were used here to assess the BOLD response to pain ('FIR' and 'HRF' analyses) provided very consistent results. Within the investigated volume, they confirmed that the insular and anterior cingulate cortices were bilaterally involved in response to laser stimuli, in agreement with previous functional imaging studies (Apkarian et al., 2005; Peyron et al., 2000; Tracey and Mantyh, 2007), intra-cranial recordings (Frot et al., 2007) or stimulation studies (Mazzola et al., 2011).

This study demonstrates a specific association of painful sensations and increased amplitude of the BOLD response in the middle and posterior parts of the insular cortex. This regional distinction has been made possible by recent advances in the knowledge of the functional anatomy of the insular cortex showing different structural and functional role of several subdivisions (Eickhoff et al., 2006a; Brooks and Tracey, 2007; Kurth et al., 2010b). In previous functional imaging studies, operculo-insular responses were often considered as a whole and this region was activated by various kinds of thermal stimuli, even at a non-noxious intensity of stimulation (Bornhövd et al., 2002; Büchel et al., 2002; Coghill et al., 1999; Craig et al., 2000). Thus, dissociating warm responses from pain responses in a brain region which anatomical subdivisions and specificities were not taken into account may have explained that, except in recent studies (Oertel et al., 2011), researchers have failed to identify specific brain regions responding to pain and rather identified non specific areas responding to multi-sensorial inputs or salience of the inputs (Legrain et al., 2010; Mouraux et al., 2011).

Considering the recent controversy brought by Iannetti and Mouraux (2010; Mouraux et al., 2011) arguing in favor of the absence of specific cortical areas, our data at least demonstrate the presence of specific areas activated by pain. These results are in agreement with a recent meta-analysis by Kurth et al. (2010b) presenting the middle and posterior part of the insula as involved in sensorimotor processing whereas the anterior part of the insula is dedicated to the emotional and affective (cognitive) processing of pain (Eickhoff et al., 2006a; Mazzola et al., 2011). More precisely, our results fit those of Oertel et al. (2011) showing that only a small part of the posterior insula is specifically involved in pain processing. The shift toward a slightly more posterior activation in our study could be attributed to the somatotopic organization of the insula with the representation of the face that is anterior to those of the upper limb (Baumgärtner et al., 2010; Brooks and Tracey, 2005; Mazzola et al., 2009).

With a functional imaging study centering acquisition on the main region of interest and using an optimized temporal resolution, the posterior-mid insula was identified as preferentially

responding to pain. This amplitude difference between painful and non-painful conditions was not observed in the anterior insula, contrary to other studies using longer duration of thermal stimuli (Liang et al., 2011; Brinkmeyer et al., 2010; Mobascher et al., 2009, 2010). According to the theory of saliency and its encoding in the anterior insula (Legrain et al., 2010), the more the anterior insula is activated before the stimulation the more the nature of a stimulus will be interpreted as painful (Boly et al., 2007; Ploner et al., 2010; Wiech et al., 2010). This discrepancy between our results and those obtained with similar laser stimuli can be explained either by a difference in amplitude that is present in the anterior insula before the stimulation onset or because a standard analysis also includes responses with different latencies (see below). Alternatively, less restrictive thresholds than ours (uncorrected vs. FWE) can also account for discrepancies in the anterior insular responses.

Interestingly, specific activation for pain sensation to laser stimuli in the mid-posterior insula had a localization that was very consistent with other techniques used for investigation of pain in humans, namely, LEPs recorded with intra cerebral electrodes showing the encoding of the pain sensation (Frot et al., 2007), as well as a specific pain-evoked sensation after electrical stimulation of the brain (Mazzola et al., 2011). These data suggest that the insular cortex can respond both to P and NP stimuli in its anterior portion, (possibly with a cognitive, attentional, anticipatory or affective function), but that the middle and posterior subdivisions could distinguish between non-painful and painful sensations. These results, as others with intra-cranial LEPs or stimulation are in favor of a primary discriminative cortex for noxious events, in the middle and posterior part of the insula. If we consider the recent study of insular activations during thermal stimulations (Mazzola et al., 2012) and if there is one insular sub-division subserving pain-specific sensations, regardless the intensity of the physical stimulus, then Ig2 is the best candidate to mediate such specific pain processes. Accordingly, the neighboring Ig1 subdivision is the region that receives specific nociceptive afferences from the posterior part of the ventral medial thalamic nucleus (VMpo, Craig and Zhang, 2006).

Comparatively to the results of standard fMRI analyses that we and others have reported in pain conditions, the FIR analysis allowed to extract a temporally well sampled insular HR. Unlike previous studies of BOLD response to painful stimuli (Chen et al., 2011; López-Solà et al., 2010; Upadhyay et al., 2010), the HR shape in the insula was found to be similar to a canonical HR shape. This difference of results could be explained either by a difference in duration of stimuli (several seconds versus 5 ms) since long duration is not optimal for the analysis of single (event-related) response, or by a difference in temporal sampling. By reducing the duration of the recording for one brain volume to approximately 600 ms, one may expect to specify the temporal dynamics of the BOLD responses within the pain matrix. This challenge has been initiated in early PET studies

by Casey and colleagues (2001) but it could not be extended more in details because of the poor temporal resolution of the PET. Nevertheless, these authors dissociated two kinds of responses (early and late) and others also succeeded in demonstrating that not all responses of the pain matrix occurred at the same time (Moulton et al., 2005).

Latency differences observed in this study are original observations that reminds of what we know from neurophysiological recordings on the temporal dynamics of brain responses. Such investigations could not be made with standard fMRI analyses because of the temporal resolution of acquisitions. For the first time, we illustrate that the anterior part of the insula responds earlier in painful than in non-painful conditions. It means that the anterior insula, that is known to code emotion and affect of pain, is treating faster nociceptive than non-nociceptive information. Recently, it was reported that differences in neural activation could result in changes in the amplitude, in the latency, or in both amplitude and latency of the HR (Henson et al., 2002). The present study reports pure differences either in amplitude or in latency. In other words, posterior insular responses differ in terms of amplitude only while anterior insular responses differ in terms of latency only. In the field of somatosensory and pain responses, it has been reported that the time course of the response could be different and have a biphasic shape for heat pain as compared to brush (Upadhyay et al., 2010), and therefore, the amplitude, the shape, but also the latency of BOLD responses to stimuli may have an importance in how the brain interprets the inputs, including the nociceptive ones. In the present study, with two different methods providing very consistent results, we observed two time-dissociations, one in AIC as compared to PIC for painful stimuli only, and the other between contralateral (right) and ipsilateral (left) ICs. After a noxious laser input, the BOLD response is dissociated in time since it peaks earlier than for an innocuous laser input in the AIC. If we consider that the BOLD response in the mid and posterior insular cortex is determinant to define the painful nature of stimuli (through a coding of amplitude), then we have also to consider that when it is interpreted as painful, stimuli-evoked BOLD responses have a shortened latency in the anterior insular cortex. Larger amplitude of the response in the posterior insula may condition the velocity of the propagation to the anterior insula because of a potentially threatening or dangerous nature. In other words, there is an area (mid-posterior insula) responding first, this area is able to treat specifically painful information, and the information of how fast is the signal transmitted to another area (anterior insula) is meaningful regarding the anterior insular response supposed to mediate an on-time affective or emotional reaction. This view is supported by the correlation between the anterior-posterior position within the IC and the latency of response. Differences in vasculature can influence BOLD response that is known to be variable across brain regions (Aguirre et al., 1998; Handwerker et al., 2004) and the insular cortex is close to large blood vessels (Afif and Mertens, 2010; Türe et al.,

2000). However, such a vascular explanation does not apply to our results since the differences reported here were relative to conditions (*i.e.* P or NP stimuli) and concerned the same regions. Similarly, differences of latencies between contralateral (early) and ipsilateral (late) insula responses (M1 box) may not be explained by differences in vasculature, but rather by temporal dynamics of the response, in agreement with what is known from neurophysiological response firstly contralateral to stimulation and secondly ipsilateral with a callosal transfer of 15 ms (Frot and Mauguière, 2003).

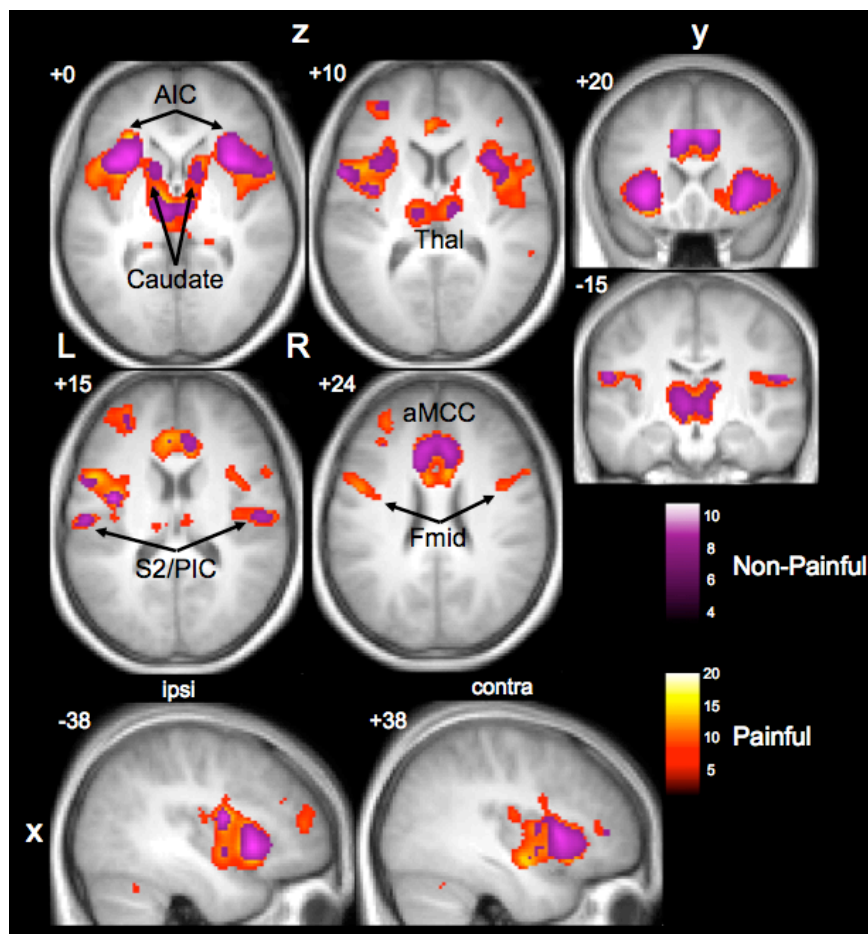
Because of possible differences in vasculature, latencies in aMCC cannot be directly compared to the BOLD response in the insula, even though the latency is superior to 5 s in aMCC and inferior to 5 s in posterior insula. However, the differences between P and NP conditions suggests, as for AIC, that the 'analytic' response in posterior/mid insular cortex can generate a BOLD response propagated more or less rapidly to other areas of the pain matrix, particularly in the medial pain system (AIC and aMCC), the processing being able to alert more rapidly these regions if stimuli represent a threat for the subject.

As a perspective it would be interesting to study effective connectivity, for example with DCM, to confirm or not the sequential activation of the different parts of the insular and cingulate cortices. The double dissociation between i/ amplitude and latencies of the responses and ii/ subdivisions of insular cortex should prompt fMRI investigations taking into account these specificities of BOLD responses in other parts of the pain matrix.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Institut UPSA de la douleur (appel d'offre 1998-1999) and Institut de France - Fondation NRJ 2010. We wish to thank Alice de Fréminville (Martin) for preliminary pilot studies on this project.

4.1.3 Figure complémentaire



Supplementary figure: *Random-effects activation maps.*

Activation maps of the two main conditions from random-effects analysis ($p < 0.05$ FWE corrected) at the group level: regions responding with a canonical HRF to non-painful stimuli (purple) or to painful stimuli (red). There is a great overlap between the two conditions. Please note that P condition is associated with a larger (more extended) activation in the posterior insula. Coordinates are in MNI space. AIC: anterior insular cortex, aMCC: anterior midcingulate cortex, Caudate: caudate nucleus, Fmid: mid frontal cortex, PIC: posterior insular cortex, S2: secondary somatosensory cortex, Thal: thalamus, L: left (ipsilateral), R: right (contralateral).

Chapitre 5

Discussion

Chapitre 5 – Discussion

5.1 Les modulations et la connectivité effective

Il est possible, à l'aide un contexte émotionnel négatif ou une illusion de durée de stimulation plus longue, d'augmenter l'intensité de la douleur perçue pour des stimulations thermiques chez des sujets sains. Cet effet persiste suffisamment dans le temps pour apparaître dans les scores de douleur rapportés par les sujets, en accord avec le fait que la composante émotionnelle et affective de la douleur a un rôle majeur dans la modulation de l'expérience douloureuse (Rhudy et al., 2008).

Pourtant, contrairement à Godinho et al., 2006, nos résultats ne montrent pas d'interaction entre la **modulation émotionnelle** et la perception de l'intensité. En effet, nous avons retrouvé le même effet des émotions négatives que ce soit à une température nociceptive ou non-nociceptive, ce qui suggère une influence non-spécifique des émotions. Cette dissociation entre la composante sensorielle et la composante affective a également été retrouvée au niveau des activations cérébrales dans notre étude : l'insula antérieure qui semble avoir un rôle dans la composante affective de la douleur (Rainville, 2002) est modulée par l'intensité de la stimulation et de la douleur perçue, mais pas par l'émotion. De la même façon que dans l'étude de Godinho et al. (2011), nous avons observé deux traitements parallèles pour l'émotion et la douleur. Nous avons montré que c'est le pACC en particulier qui semble jouer un rôle important dans l'augmentation de l'intensité perçue dans le contexte émotionnel négatif, car c'est une région clé du contrôle descendant de la douleur, en particulier car il est connecté à la PAG, qui est recrutée lors de stimulations douloureuses perçues comme incontrôlables (Salomons et al., 2007) ou de l'analgésie placebo (Bingel et al., 2006). L'analyse de connectivité effective suggère également que le pACC a un rôle important dans la modulation par les émotions négatives et nous informe que l'augmentation de son activité a une influence inhibitrice sur le reste du réseau. Ce qui suggère que, dans un contexte émotionnel négatif, le pACC a une influence plus inhibitrice que dans un contexte neutre, ce qui permet une augmentation de l'intensité perçue.

Nous avons modulé la perception douloureuse avec un autre type de modulation cognitive, qui est **l'illusion sur la durée d'un stimulus**. Les résultats montrent que l'illusion met en jeu un réseau d'aires cérébrales distinctes de la perception de la douleur, ce qui est également le cas pour l'effet de l'émotion. Pourtant les deux réseaux impliqués dans les modulations ne sont pas les mêmes. La perception douloureuse est moins intense quand les stimulations sont perçues comme plus courtes et les régions dont l'activité est augmentée dans ces conditions sont les aires occipitales (BA 19) et pariétales (BA 7). C'est donc *via* une modification de l'activation d'un réseau

impliqué dans l'attention visuelle et spatiale que se fait la modulation de l'activation dans l'insula antérieure et le cortex cingulaire moyen permettant la modulation de l'appréciation subjective de l'intensité de la douleur. L'analyse de connectivité effective avance des arguments allant également dans le sens d'une modulation de l'activité du système visuo-attentionnel en plus du système sensoriel. L'intégration de la modulation de ces deux systèmes se ferait donc dans la partie antérieure de l'insula et dans le aMCC et permettrait la ré-évaluation de la douleur en vue de la cotation.

Les volontaires n'ont pas été conditionnés par l'association de stimulations plus intenses pour les durées « longues » que pour les durées « courtes » mais il leur a été indiqué la signification en terme de durée des horloges présentées pendant les stimulations douloureuses. La diminution de la douleur dans les conditions « courtes » par rapport aux conditions « longues » observée lors de l'illusion pourrait être apparentée à de l'analgésie placebo, d'autant plus que l'activité des régions concernées est plus importante pour les conditions « courtes ». Pourtant les régions cérébrales impliquées dans ces modulations ne sont pas celles connues pour être impliquées dans l'analgésie placebo (en particulier le pACC).

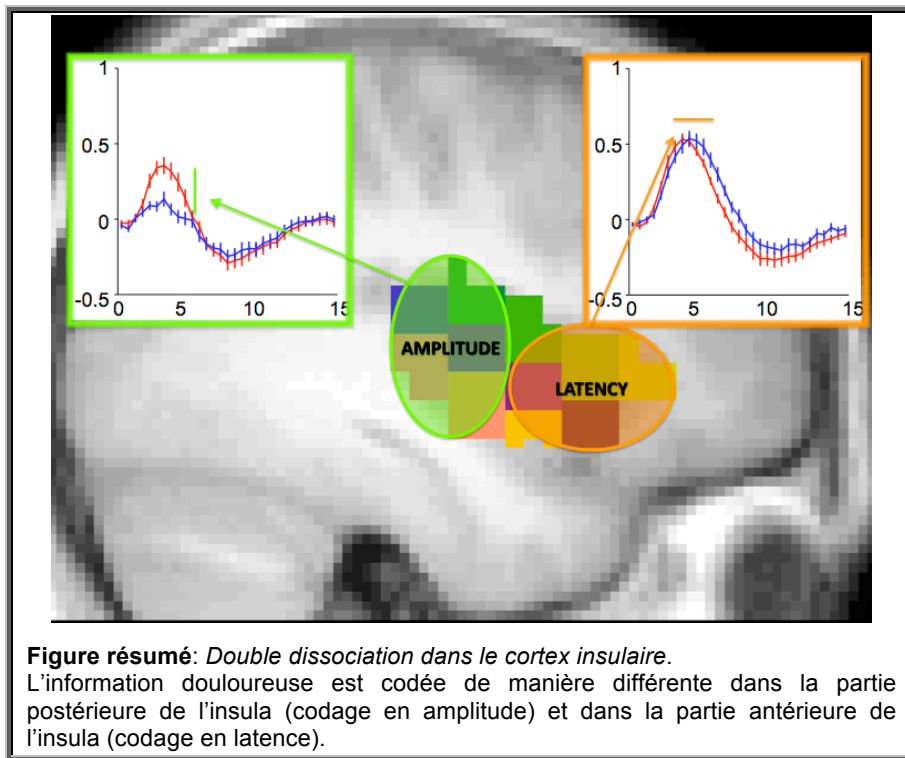
Les modulations étudiées mettent toutes deux en jeu des mécanismes de haut niveau cognitif par le biais desquels est modulée la façon dont sont interprétées les informations sensorielles et ensuite la perception douloureuse. Les analyses de connectivité effective des deux études montrent que les informations thermiques ont une influence directement sur l'insula ipsilatérale, bien que les activations observées soient toujours bilatérales et que l'insula ipsilatérale soit fortement connectée à l'insula controlatérale ainsi qu'au aMCC. Il est étonnant de retrouver l'input sensoriel arrivant prioritairement sur l'insula ipsilatérale et non sur l'insula controlatérale comme il a été montré avec les enregistrements intracérébraux : le potentiel est enregistré dans l'insula ipsilatérale avec un retard de 15 ms par rapport à l'insula controlatérale, correspondant au transfert *via* le corps calleux (Frot et Mauguière, 2003). Ceci peut être dû au fait que lors du choix des modèles de DCM, le plus simple est choisi, c'est-à-dire celui qui comporte un input externe n'arrivant que sur une seule région et pas deux. Une autre explication correspond au fait que dans nos deux études de modulation, l'insula ipsilatérale est activée de manière plus importante que l'insula controlatérale dans pour les contrastes rendant compte d'un effet de température plus élevée. Il a été également été montré dans d'autres études que l'insula ipsilatérale est activée avant le reste de la matrice douleur pour des stimulations laser douloureuses par rapport à des stimulation laser non-douloureuse (Ploner et al., 2010) ainsi qu'une intensité d'activation plus importante dans la partie antérieure de l'insula ipsilatérale par rapport à l'insula controlatérale en réponse à des stimulations CHEPS nociceptives (Chen et al.,

2012). Ce résultat de l'insula ipsilatérale semble toutefois inexact car difficile à interpréter, et il est possible que dans notre cas, la modélisation DCM n'ait pas été capable d'exclure ces modèles qui ne nous semblent pas plausibles, ce qui nous amène à considérer les résultats de connectivité effective avec prudence. En effet, les deux modulations étudiées montrent un effet très faible, qui peut être dû soit à un défaut de détection de la modulation par le DCM, soit à des alternatives de modèles trop complexes, soit à un mauvais choix de meilleur modèle, ne correspondant pas à la réalité physiologique. Une solution serait peut-être de considérer des modèles plus simples que ceux qui ont été proposés ici, car plus facilement extrapolables à d'autres études (Daunizeau et al., 2011 ; Lohmann et al., 2011), ou qui pourrait être un même modèle à tester dans les différentes études. Il est donc nécessaire d'effectuer des expériences complémentaires et d'améliorer les paradigmes expérimentaux et les modèles utilisés afin de pouvoir éclaircir les résultats précédemment obtenus.

5.2 La réponse hémodynamique à la douleur

Nous avons pu préciser la réponse BOLD à la stimulation laser et comparer les stimulation évoquant ou non de la douleur. La partie postérieure et moyenne de l'insula (PostCG et Ig2) répond de façon **plus intense** à la douleur, alors que la partie antérieure (ASG et MSG) répond **plus vite**. Il existe donc une double dissociation entre le codage en intensité et le codage en latence de l'information douloureuse dans les différentes parties de l'insula. Nous n'avons pas retrouvé cette double dissociation dans le cortex cingulaire car la partie antérieure du cortex cingulaire moyen présente à la fois une HR à la douleur avec une intensité plus importante et une latence plus courte que la HR en réponse à des stimulations non-douloureuses.

Ces résultats sont en accord avec l'étude de Mazzola et al., 2011 montrant que, dans le cerveau, seule la stimulation de S2 et l'insula postérieure (Ig1-Ig2) est capable d'induire une sensation douloureuse et avec l'étude de Mazzola et al. (2012), montrant que la partie antérieure de S2 (OP4) et la partie postérieure/moyenne de l'insula (Ig1-Ig2) sont activées spécifiquement par des stimuli douloureux. Bien qu'il semble avoir un rôle au moins aussi important que l'insula dans l'intégration sensori-discriminative de la douleur, nous n'avons pas retrouvé d'activation spécifique de S2 pour la douleur. Etant donné que l'acquisition était centrée sur l'insula, il est possible que la région S2 n'ait pas été scannée de la même manière chez tous les sujets, ce qui pourrait résulter en un échantillonnage incomplet de la région, qui ne se retrouve donc pas dans le masque de l'analyse de groupe.



Bien qu'il ne soit pas possible de comparer directement des latences d'activations avec le signal BOLD dans des régions cérébrales différentes, nous avons trouvé une corrélation entre la latence et la position sur l'axe antéro-postérieur de l'insula controlatérale qui existe seulement dans les conditions où les stimuli laser sont douloureux (qui n'existe donc pas pour des stimulations non-douloureuses). Ce résultat amène un argument de plus à l'hypothèse selon laquelle l'insula postérieure répondrait de manière spécifique et préférentielle à la douleur et que cette réponse pourrait avoir des conséquences sur la vitesse de traitement de l'information dans l'insula antérieure. En effet, il semble logique qu'un stimulus menaçant et potentiellement dangereux soit traité de manière prioritaire par le cerveau contrairement à un stimulus qui ne le serait pas.

Les études récentes sur l'insula et S2, qu'elles soient cytoarchitectoniques, fonctionnelles ou de connectivité, montrent qu'il est important de pouvoir différencier leurs sous-régions afin de pouvoir leur attribuer un rôle fonctionnel. Les différences de HR observées dans notre étude suggèrent que l'insula postérieure/moyenne est capable d'analyser les informations thermo-nociceptives pour propager l'information plus ou moins vite vers le reste de la « matrice douleur » et plus particulièrement l'insula antérieure et le cortex cingulaire moyen qui lui est connecté (Peltz et al., 2011), selon le caractère douloureux ou non du stimulus.

Ce modèle est appuyé par les caractéristiques cytoarchitectoniques de l'insula et du cortex cingulaire, qui montrent tous deux un cortex granulaire dans leur partie postérieure et agrulaire dans leur partie antérieure (Kurth et al., 2010a ; Vogt et al., 2003). Tous ces résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle l'insula postérieure recevrait prioritairement les informations en

provenance du thalamus et que l'insula antérieure et le cortex cingulaire moyen auraient un rôle dans l'intégration « secondaire » des informations émotionnelles et attentionnelles de la douleur.

Pourtant, ce n'est pas directement sur l'insula antérieure ou le cortex cingulaire qu'interviennent les modulations que nous avons étudié, mais nous avons pu observer des différences sur la force de ces connexions. Notamment, nous avons pu observer que la force des connexions entre l'insula et le DLPF et entre le pACC et la SMA qui sont modulées par l'attention et l'émotion, respectivement. Il s'agit ici d'un changement dans la force de la communication entre les régions qui est mise en jeu, plutôt que l'activité des régions elles-mêmes.

Il semble donc intéressant d'étudier la communication entre les sous-régions de l'insula et du cortex cingulaire dans une analyse de connectivité sur les données fonctionnelles acquises avec une bonne résolution temporelle, afin de pouvoir tester la causalité dont nous faisons l'hypothèse de l'insula postérieure vers l'insula antérieure et le cortex cingulaire moyen. La causalité dont il est question dans les analyses de type DCM est supposée être sous-tendue par des informations temporelles neuronales (Friston et al., 2003) et avoir accès à ce type d'information pourrait être très utile pour discuter les résultats obtenus sur les caractéristiques de la réponse hémodynamique à la douleur. Sachant que nous n'avons pas testé avec la connectivité effective les différentes alternatives de connexions entre les régions, nous ne pouvons pas faire d'inférence sur la présence ou l'absence de telle ou telle connexion, réciproque ou non, entre deux régions. Pourtant il serait également intéressant de tester cela, en guidant l'analyse avec des données anatomiques de tractographie.

5.3 Perspectives

Le chapitre 4 a permis de répondre à l'objectif principal qui était d'observer des différences de latence, d'amplitude et/ou de forme, existant entre la HR à la douleur et à celle à une stimulation de même type mais non-douloureuse. Mais, afin d'atteindre l'objectif secondaire qui est d'essayer de retrouver en fMRI les différences observées en électrophysiologie entre l'insula et l'ACC, il est nécessaire de recueillir plus d'informations. En effet, nous avons vu que les latences d'activation sont différentes entre l'insula postérieure et antérieure, mais en fMRI il n'est pas possible de comparer directement les HRs de différentes régions car des différences de vascularisation entraînent des différences dans les HRs (Aguirre et al., 1998 ; Handwerker et al., 2004), donc seule l'interaction entre la condition et la région pourra nous informer sur l'existence en fMRI de la dissociation temporelle observée en LEP entre l'insula et le gyrus cingulaire.

Nous avons en effet observé cette interaction, c'est-à-dire la présence d'une différence de latence entre les réponses évoquées par des stimulations douloureuses et celles évoquées par des stimulations non douloureuses dans le cortex cingulaire moyen (et l'insula antérieure), qui n'existe pas dans l'insula postérieure. Mais l'interaction ne nous renseigne pas sur la séquence temporelle entre l'activation de ces différentes régions dans la seule condition de douleur.

Une des perspectives de ce travail est donc d'associer simultanément l'EEG à l'acquisition des images de fMRI dans le but de dissocier, à partir de l'informations multimodales, 1/ les réponses précoces et tardives à la douleur et 2/ l'implication respective des inputs provenant des fibres A δ et C dans traitement de la douleur. En effet l'association de l'EEG au fMRI permet d'informer le fMRI avec une plus grande résolution temporelle et d'informer l'EEG avec une plus grande résolution spatiale. Nous savons que les potentiels évoqués associés aux fibres C sont plus tardifs que ceux associés aux fibres A δ (Kakigi et al., 2003) mais leur spécificité par rapport à la douleur est encore discutée (Mouraux et Iannetti, 2009). L'association de données de tractographie et une analyse DCM de connectivité effective permettront de répondre à ces questions et de proposer un modèle de fonctionnement du réseau que forment S2, le cortex cingulaire antérieur et moyen et les différentes sous-parties de l'insula dans une situation de douleur par rapport à une situation non douloureuse.

Il serait également intéressant, une fois caractérisé le fonctionnement du réseau chez le sujet sain, de comparer ce fonctionnement chez des patients souffrants de douleurs neuropathiques post-opératoires.

Bibliographie

Bibliographie

- Adolphs, R. (2002). Neural systems for recognizing emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, 12 (2), 169-77.
- Afif, A., & Mertens, P. (2010). Description of sulcal organization of the insular cortex. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 32 (5), 491-8.
- Aguirre, G., Zarahn, E., & D'esposito, M. (1998). The variability of human, BOLD hemodynamic responses. *NeuroImage*, 8 (4), 360-9.
- Allen, E., Erhardt, E., Eichele, T., Mayer, A., & Calhoun, V. (2010). Comparison of the pre-normalization methods on the accuracy of group ICA results. *Proc. HBM, Barcelona, Spain*.
- Apkarian, A., Bushnell, M., Treede, R.-D., & Zubieta, J.-K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European journal of pain*, 9 (4), 463-84.
- Apkarian, A., Baliki, M., & Geha, P. (2009). Towards a theory of chronic pain. *Progress in neurobiology*, 87 (2), 81-97.
- Ashburner, J., & Friston, K. J. (2005). Unified segmentation. *NeuroImage*, 26 (3), 839–851.
- Baliki, M., Geha, P., & Apkarian, A. (2009). Parsing pain perception between nociceptive representation and magnitude estimation. *Journal of Neurophysiology*, 101 (2), 875-87.
- Bantick, S., Wise, R., Ploghaus, A., Clare, S., Smith, S., & Tracey, I. (2002). Imaging how attention modulates pain in humans using functional MRI. *Brain*, 125 (Pt 2), 310-9.
- Barber, J. (1996). Hypnosis and suggestion in the treatment of pain. A clinical guide. *W W. Norton & Company*.
- Basbaum, A., & Jessell, T. (2000). The perception of pain. In *ER Kandel, JH Schwartz, TM Jessell (Ed.) Principles of neural science, 4th edn., McGraw-Hill, New-York*, 472-491.
- Baumgärtner, U., Iannetti, G., Zambreanu, L., Stoeter, P., Treede, R.-D., & Tracey, I. (2010). Multiple somatotopic representations of heat and mechanical pain in the operculo-insular cortex: a high-resolution fMRI study. *Journal of Neurophysiology*, 104 (5), 2863-72.
- Becerra, L., Harris, W., Grant, M., George, E., Boas, D., & Borsook, D. (2009). Diffuse optical tomography activation in the somatosensory cortex: specific activation by painful vs. non-painful thermal stimuli. *PLoS ONE*, 4 (11), e8016.
- Beck, A., Ward, C., Mendelson, M., Mock, J., & Erbaugh, J. (1961). An inventory for measuring depression. *Archives of general psychiatry*, 4, 561-71.
- Bell, A., & Sejnowski, T. (1995). An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural computation*, 7 (6), 1129-59.
- Bingel, U., Lorenz, J., Schoell, E., Weiller, C., & Büchel, C. (2006). Mechanisms of placebo analgesia: rACC recruitment of a subcortical antinociceptive network. *Pain*, 120 (1-2), 8–15.

- Bingel, U., Rose, M., Gläscher, J., & Büchel, C. (2007). fMRI reveals how pain modulates visual object processing in the ventral visual stream. *Neuron*, *55* (1), 157-67.
- Bingel, U., Schoell, E., Herken, W., Büchel, C., & May, A. (2007). Habituation to painful stimulation involves the antinociceptive system. *Pain*, *131* (1-2), 21-30.
- Bingel, U., & Tracey, I. (2008). Imaging CNS modulation of pain in humans. *Physiology*, *23*, 371-80.
- Boly, M., Balteau, E., Schnakers, C., Degueldre, C., Moonen, G., Luxen, A., Philips, C., Peigneux, P., Maquet, P. & Laureys, S. (2007). Baseline brain activity fluctuations predict somatosensory perception in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104* (29), 12187-92.
- Bornhövd, K., Quante, M., Glauche, V., Bromm, B., Weiller, C., & Büchel, C. (2002). Painful stimuli evoke different stimulus-response functions in the amygdala, prefrontal, insula and somatosensory cortex: a single-trial fMRI study. *Brain*, *125* (Pt 6), 1326-36.
- Borsook, D., Upadhyay, J., Chudler, E., & Becerra, L. (2010). A key role of the basal ganglia in pain and analgesia--insights gained through human functional imaging. *Molecular Pain*, *6*, 27.
- Bosshard, S., Baltes, C., Wyss, M., Mueggler, T., Weber, B., & Rudin, M. (2010). Assessment of brain responses to innocuous and noxious electrical forepaw stimulation in mice using BOLD fMRI. *Pain*, *151* (3), 655-63.
- Botvinick, M., Jha, A., Bylsma, L., Fabian, S., Solomon, P., & Prkachin, K. (2005). Viewing facial expressions of pain engages cortical areas involved in the direct experience of pain. *NeuroImage*, *25* (1), 312-9.
- Bouhassira, D., Kern, D., Rouaud, J., Pelle-Lancien, E., & Morain, F. (2005). Investigation of the paradoxical painful sensation ('illusion of pain') produced by a thermal grill. *Pain*, *114* (1-2), 160-7.
- Brinkmeyer, J., Mobascher, A., Warbrick, T., Musso, F., Wittsack, H.-J., Saleh, A., Schnitzler, A., et al. (2010). Dynamic EEG-informed fMRI modeling of the pain matrix using 20-ms root mean square segments. *Human Brain Mapping*, *31* (11), 1702–1712.
- Bromm, B., & Chen, A. (1995). Brain electrical source analysis of laser evoked potentials in response to painful trigeminal nerve stimulation. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, *95* (1), 14-26.
- Brooks, J., & Tracey, I. (2005). From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. *Journal of anatomy*, *207* (1), 19-33.
- Brooks, J., & Tracey, I. (2007). The insula: a multidimensional integration site for pain. *Pain*, *128* (1-2), 1-2.
- Büchel, C., Bornhövd, K., Quante, M., Glauche, V., Bromm, B., & Weiller, C. (2002). Dissociable neural responses related to pain intensity, stimulus intensity, and stimulus awareness within the anterior cingulate cortex: a parametric single-trial laser functional magnetic resonance imaging study. *Journal of Neuroscience*, *22* (3), 970-6.
- Bueti, D. (2011). The sensory representation of time. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, *5*, 34.

- Bushnell, M., Duncan, G., Hofbauer, R., Ha, B., Chen, J., & Carrier, B. (1999). Pain perception: is there a role for primary somatosensory cortex? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96* (14), 7705-9.
- Calhoun, V., Adali, T., Pearlson, G., & Pekar, J. (2001). A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Human Brain Mapping*, *14* (3), 140-51.
- Calhoun, V., Stevens, M., Pearlson, G., & Kiehl, K. (2004). fMRI analysis with the general linear model: removal of latency-induced amplitude bias by incorporation of hemodynamic derivative terms. *NeuroImage*, *22* (1), 252-7.
- Calhoun, V., Liu, J., & Adali, T. (2009). A review of group ICA for fMRI data and ICA for joint inference of imaging, genetic, and ERP data. *NeuroImage*, *45* (1 Suppl), S163-72.
- Casey, K., Morrow, T., Lorenz, J., & Minoshima, S. (2001). Temporal and spatial dynamics of human forebrain activity during heat pain: analysis by positron emission tomography. *Journal of Neurophysiology*, *85* (2), 951-9.
- Cavanna, A., & Trimble, M. (2006). The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain*, *129* (Pt 3), 564-83.
- Cerliani, L., Thomas, R., Jbabdi, S., Siero, J., Nanetti, L., Crippa, A., et al. (2011). Probabilistic tractography recovers a rostrocaudal trajectory of connectivity variability in the human insular cortex. *Human Brain Mapping* (Epub) DOI: 10.1002/hbm.21338.
- Chaston, A., & Kingstone, A. (2004). Time estimation: the effect of cortically mediated attention. *Brain and cognition*, *55* (2), 286-9.
- Chen, L., Dillenburger, B., Wang, F., Friedman, R., & Avison, M. (2011). High-resolution functional magnetic resonance imaging mapping of noxious heat and tactile activations along the central sulcus in New World monkeys. *Pain*, *152* (3), 522-32.
- Chen, L. M., Dillenburger, B. C., Wang, F., & Tang, C. H. (2012). Differential fMRI activation to noxious heat and tactile stimuli in parasyllian areas of new world monkeys. *Pain*, *153* (1), 158-169.
- Ciuciu, P., Poline, J.-B., Marrelec, G., Idier, J., Pallier, C., & Benali, H. (2003). Unsupervised robust nonparametric estimation of the hemodynamic response function for any fMRI experiment. *IEEE transactions on medical imaging*, *22* (10), 1235-51.
- Clark, J., Brown, C., Jones, A., & El-Deredy, W. (2008). Dissociating nociceptive modulation by the duration of pain anticipation from unpredictability in the timing of pain. *Clinical neurophysiology*, *119* (12), 2870-8.
- Coghill, R., Sang, C., Maisog, J., & Iadarola, M. (1999). Pain intensity processing within the human brain: a bilateral, distributed mechanism. *Journal of Neurophysiology*, *82* (4), 1934-43.
- Coldwell, S., Kaakko, T., Gärtner-Makihara, A., Williams, T., Milgrom, P., Weinstein, P., et al. (2002). Temporal information reduces children's pain reports during a multiple-trial cold pressor procedure. *Behavior Therapy*, *33* (1), 45-63.

- Coull, J., & Frith, C. (1998). Differential activation of right superior parietal cortex and intraparietal sulcus by spatial and nonspatial attention. *NeuroImage*, 8 (2), 176-87.
- Craig, A., Bushnell, M., Zhang, E., & Blomqvist, A. (1994). A thalamic nucleus specific for pain and temperature sensation. *Nature*, 372 (6508), 770-3.
- Craig, A. (1995). Supraspinal projections of lamina I neurons. In *Forebrain areas involved in pain processing*, JM Guilbaud, G Ollat, ed. Montrouge: John Libbey Eurotext, 13-26.
- Craig, A., Chen, K., Bandy, D., & Reiman, E. (2000). Thermosensory activation of insular cortex. *Nature Neuroscience*, 3 (2), 184-90.
- Craig, A., & Zhang, E.-T. (2006). Retrograde analyses of spinothalamic projections in the macaque monkey: input to posterolateral thalamus. *The Journal of comparative neurology*, 499 (6), 953-64.
- Craig, A. (2010). The sentient self. *Brain Structure and Function*, 214 (5-6), 563-77.
- Crinion, J., Ashburner, J., Leff, A., Brett, M., Price, C., & Friston, K. (2007). Spatial normalization of lesioned brains: performance evaluation and impact on fMRI analyses. *NeuroImage*, 37 (3), 866–875.
- Dale, A. M. (1999). Optimal experimental design for event-related fMRI. *Human Brain Mapping*, 8 (2-3), 109–114.
- Daunizeau, J., David, O., & Stephan, K.E. (2011). Dynamic causal modelling: a critical review of the biophysical and statistical foundations. *NeuroImage*, 58 (2), 312-22.
- Davis, K., Hutchison, W., Lozano, A., Tasker, R., & Dostrovsky, J. (2000). Human anterior cingulate cortex neurons modulated by attention-demanding tasks. *Journal of Neurophysiology*, 83 (6), 3575-7.
- David, O., Kiebel, S., Harrison, L., Mattout, J., Kilner, J.M., & Friston, K.J. (2006). Dynamic causal modeling of evoked responses in EEG and MEG. *NeuroImage*, 30 (4), 1255-72.
- David, O., Guillemain, I., Sallet, S., Reyt, S., Deransart, C., Segebarth, C., & Depaulis, A. (2008). Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *Plos Biology*, 6 (12), 2683-97.
- de Wied, M., & Verbaten, M. (2001). Affective pictures processing, attention, and pain tolerance. *Pain*, 90 (1-2), 163-72.
- Devos, D., Creac'h, C., Laureau, E., Bourriez, J., & Guieu, J. (2000). Thulium laser evoked potentials. Normative values for the arms and legs. *Clinical neurophysiology*, 30 (5), 313-22.
- Downar, J., Mikulis, D., & Davis, K. (2003). Neural correlates of the prolonged salience of painful stimulation. *NeuroImage*, 20 (3), 1540-51.
- Droit-Volet, S., Tournet, S., & Wearden, J. (2004). Perception of the duration of auditory and visual stimuli in children and adults. *The Quarterly journal of experimental psychology*, 57 (5), 797-818.
- Droit-Volet, S., & Meck, W. (2007). How emotions colour our perception of time. *Trends in Cognitive Science*, 11 (12), 504-13.

- Droit-Volet, S., & Gil, S. (2009). The time-emotion paradox. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*, 364 (1525), 1943-53.
- Eickhoff, S., Schleicher, A., Zilles, K., & Amunts, K. (2006a). The human parietal operculum. I. Cytoarchitectonic mapping of subdivisions. *Cerebral Cortex*, 16 (2), 254-67.
- Eickhoff, S., Amunts, K., Mohlberg, H., & Zilles, K. (2006b). The human parietal operculum. II. Stereotaxic maps and correlation with functional imaging results. *Cerebral Cortex*, 16 (2), 268-79.
- Eickhoff, S., Grefkes, C., Zilles, K., & Fink, G. (2007). The somatotopic organization of cytoarchitectonic areas on the human parietal operculum. *Cerebral Cortex*, 17 (8), 1800-11.
- Faymonville, M., Laureys, S., Degueldre, C., DelFiore, G., Luxen, A., Franck, G., et al. (2000). Neural mechanisms of antinociceptive effects of hypnosis. *Anesthesiology*, 92 (5), 1257-67.
- Frankenstein, U., Richter, W., McIntyre, M., & Remy, F. (2001). Distraction modulates anterior cingulate gyrus activations during the cold pressor test. *NeuroImage*, 14 (4), 827-36.
- Friston, K.J., & Price, C.J. (2001). Dynamic representations and generative models of brain function. *Brain Research Bulletin*, 54 (3), 275-85.
- Friston, K.J., Harrison, L., & Penny, W. (2003). Dynamic causal modelling. *NeuroImage*, 19 (4), 1273-302.
- Friston, K., Stephan, K., Lund, T., Morcom, A., & Kiebel, S. (2005). Mixed-effects and fMRI studies. *NeuroImage*, 24 (1), 244-52.
- Frot, M., & Mauguière, F. (2003). Dual representation of pain in the operculo-insular cortex in humans. *Brain*, 126 (Pt 2), 438-50.
- Frot, M., Magnin, M., Mauguière, F., & Garcia-Larrea, L. (2007). Human SII and posterior insula differently encode thermal laser stimuli. *Cerebral Cortex*, 17 (3), 610-20.
- Frot, M., Mauguière, F., Magnin, M., & Garcia-Larrea, L. (2008). Parallel processing of nociceptive A-delta inputs in SII and midcingulate cortex in humans. *Journal of Neuroscience*, 28 (4), 944-52.
- García-Larrea, L., Peyron, R., Laurent, B., & Mauguière, F. (1997). Association and dissociation between laser-evoked potentials and pain perception. *Neuroreport*, 8 (17), 3785-9.
- Garcia-Larrea, L., Frot, M., & Valeriani, M. (2003). Brain generators of laser-evoked potentials: from dipoles to functional significance. *Clinical neurophysiology*, 33 (6), 279-92.
- Garcia-Larrea, L., & Peyron, R. (2007). Motor cortex stimulation for neuropathic pain: From phenomenology to mechanisms. *NeuroImage*, 37 Suppl 1, S71-9.
- Garcia-Larrea, L., Perchet, C., Creac'h, C., Convers, P., Peyron, R., Laurent, B., et al. (2010). Operculo-insular pain (parasyllian pain): a distinct central pain syndrome. *Brain*, 133 (9), 2528-39.
- Godinho, F., Magnin, M., Frot, M., Perchet, C., & Garcia-Larrea, L. (2006). Emotional modulation of pain: is it the sensation or what we recall? *Journal of Neuroscience*, 26 (44), 11454-61.

- Godinho, F., Faillenot, I., Perchet, C., Frot, M., Magnin, M., & Garcia-Larrea, L. (2011). How the pain of others enhances our pain: Searching the cerebral correlates of "compassional hyperalgesia." *European Journal of Pain*, Cerebral correlates of CH, 1–12. doi:10.1002/j.1532-2149.2011.00039.x
- Greenspan, J., Lee, R., & Lenz, F. (1999). Pain sensitivity alterations as a function of lesion location in the parasyllvian cortex. *Pain*, 81 (3), 273-82.
- Grill-Spector, K., Kourtzi, Z., & Kanwisher, N. (2011). The lateral occipital complex and its role in object recognition. *Vision Research*, 41 (10-11), 1409-22.
- Handwerker, D., Ollinger, J., & D'Esposito, M. (2004). Variation of BOLD hemodynamic responses across subjects and brain regions and their effects on statistical analyses. *NeuroImage*, 21 (4), 1639-51.
- Hellström, C., & Carlsson, S. (1997). Busy with pain: disorganization in subjective time in experimental pain. *European journal of pain*, 1 (2), 133-9.
- Hensel, H., & Kenshalo, D. (1969). Warm receptors in the nasal region of cats. *The Journal of physiology*, 204 (1), 99-112.
- Henson, R., Price, C., Rugg, M., Turner, R., & Friston, K. (2002). Detecting latency differences in event-related BOLD responses: application to words versus nonwords and initial versus repeated face presentations. *NeuroImage*, 15 (1), 83-97.
- Henson, R. (2003). Analysis of fMRI time series: Linear time-invariant models, event-related fMRI, and optimal experimental design. In R Frackowiack (Ed.), *Human Brain Function*, 2nd edn. Elsevier, San Diego, 793-823.
- Henson, R., Goshen-Gottstein, Y., Ganel, T., Otten, L., Quayle, A., & Rugg, M. (2003). Electrophysiological and haemodynamic correlates of face perception, recognition and priming. *Cerebral Cortex*, 13 (7), 793-805.
- Himberg, J., Hyvärinen, A., & Esposito, F. (2004). Validating the independent components of neuroimaging time series via clustering and visualization. *NeuroImage*, 22 (3), 1214-22.
- Hofbauer, R., Rainville, P., Duncan, G., & Bushnell, M. (2001). Cortical representation of the sensory dimension of pain. *Journal of Neurophysiology*, 86 (1), 402-11.
- Hsieh, J., Stone-Elander, S., & Ingvar, M. (1999). Anticipatory coping of pain expressed in the human anterior cingulate cortex: a positron emission tomography study. *Neuroscience Letters*, 262 (1), 61-4.
- Hyvärinen, A. & Oja, E. (2000). Independent component analysis: algorithms and applications. *Neural networks*, 13 (4-5), 411-30.
- Iannetti, G., Truini, A., Romaniello, A., Galeotti, F., Rizzo, C., Manfredi, M., et al. (2003). Evidence of a specific spinal pathway for the sense of warmth in humans. *Journal of Neurophysiology*, 89 (1), 562-70.
- Iannetti, G., & Mouraux, A. (2010). From the neuromatrix to the pain matrix (and back). *Experimental Brain Research*, 205 (1), 1-12.

- Isnard, J., Magnin, M., Jung, J., Mauguière, F., & Garcia-Larrea, L. (2011). Does the insula tell our brain that we are in pain? *Pain*, *152* (4), 946-51.
- Jackson, P., Rainville, P., & Decety, J. (2006). To what extent do we share the pain of others? Insight from the neural bases of pain empathy. *Pain*, *125* (1-2), 5-9.
- Jafri, M., Pearlson, G., Stevens, M., & Calhoun, V. (2008). A method for functional network connectivity among spatially independent resting-state components in schizophrenia. *NeuroImage*, *39* (4), 1666-81.
- Janssen, S.A. (2002). Negative affect and sensitization to pain. *Scandinavian Journal of Psychology*, *43* (2), 131-7.
- Johnston, A., & Nishida, S. (2001). Time perception: brain time or event time? *Current Biology*, *11* (11), R427-30.
- Johnston, A., Arnold, D., & Nishida, S. (2006). Spatially localized distortions of event time. *Current Biology*, *16* (5), 472-9.
- Jokic-Begic, N., Ivanec, D., & Markanovic, D. (2009). Effects of cognitive pain coping strategies and locus of control on perception of cold pressor pain in healthy individuals: Experimental study. *Acute Pain*, *11*, 113-120.
- Jones, A., Brown, W., Friston, K., Qi, L., & Frackowiak, R. (1991). Cortical and subcortical localization of response to pain in man using positron emission tomography. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society*, *244* (1309), 39-44.
- Kakigi, R., Tran, T. D., Qiu, Y., Wang, X., Nguyen, T. B., Inui, K., Watanabe, S., et al. (2003). Cerebral responses following stimulation of unmyelinated C-fibers in humans: electro- and magneto-encephalographic study. *Neuroscience Research*, *45* (3), 255–275.
- Kakigi, R., Inui, K., & Tamura, Y. (2005). Electrophysiological studies on human pain perception. *Clinical neurophysiology*, *116* (4), 743-63.
- Kanai, R., Paffen, C., Hogendoorn, H., & Verstraten, F. (2006). Time dilation in dynamic visual display. *Journal of vision*, *6* (12), 1421-30.
- Kasess, C.H., Stephan, K.E., Weissenbacher, A., Pezawas, L., Moser, E., & Windischberger, C. (2010). Multi-subject analyses with dynamic causal modeling. *NeuroImage* *49*, 3065-74.
- Kenntner-Mabiala, R., Andreatta, M., Wieser, M., Mühlberger, A., & Pauli, P. (2008). Distinct effects of attention and affect on pain perception and somatosensory evoked potentials. *Biological psychology*, *78* (1), 114-22.
- Kim, K., Karunanayaka, P., Privitera, M., Holland, S., & Szaflarski, J. (2011). Semantic association investigated with functional MRI and independent component analysis. *Epilepsy & behavior*.
- Kosillo, P., & Smith, A. (2010). The role of the human anterior insular cortex in time processing. *Brain Structure and Function*, 1-6.

- Koyama, Y., Koyama, T., Kroncke, A., & Coghill, R. (2004). Effects of stimulus duration on heat induced pain: the relationship between real-time and post-stimulus pain ratings. *Pain, 107* (3), 256-66.
- Koyama, T., McHaffie, J., Laurienti, P., & Coghill, R. (2005). The subjective experience of pain: where expectations become reality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102* (36), 12950-5.
- Kurth, F., Eickhoff, S., Schleicher, A., Hoemke, L., Zilles, K., & Amunts, K. (2010a). Cytoarchitecture and probabilistic maps of the human posterior insular cortex. *Cerebral Cortex, 20* (6), 1448-61.
- Kurth, F., Zilles, K., Fox, P., Laird, A., & Eickhoff, S. (2010b). A link between the systems: functional differentiation and integration within the human insula revealed by meta-analysis. *Brain Structure and Function, 214* (5-6), 519-34.
- Lane, R., Fink, G., Chau, P., & Dolan, R. (1997). Neural activation during selective attention to subjective emotional responses. *Neuroreport, 8* (18), 3969-72.
- Lang, P., Bradley, M., & Cuthbert, B. (2008). International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. *Technical Report A-8. University of Florida, Gainesville, FL*.
- Legrain, V., Damme, S., Eccleston, C., Davis, K., Seminowicz, D., & Crombez, G. (2009). A neurocognitive model of attention to pain: behavioral and neuroimaging evidence. *Pain, 144* (3), 230-2.
- Legrain, V., Iannetti, G., Plaghki, L., & Mouraux, A. (2010). The pain matrix reloaded A salience detection system for the body. *Progress in neurobiology, 93*, 111-24.
- Lewis, J.W. & Van Essen, D.C. (2000). Corticocortical connections of visual, sensorimotor, and multimodal processing areas in the parietal lobe of the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology, 428* (1), 112-37.
- Lewis, P.A., & Miall, R.C. (2003). Distinct systems for automatic and cognitively controlled time measurement: evidence from neuroimaging. *Current Opinion in Neurobiology, 13* (2), 250-5.
- Liang, M., Mouraux, A., & Iannetti, G.D. (2011). Parallel Processing of Nociceptive and Non-nociceptive Somatosensory Information in the Human Primary and Secondary Somatosensory Cortices: Evidence from Dynamic Causal Modeling of Functional Magnetic Resonance Imaging Data. *Journal of Neuroscience, 31* (24), 8976-85.
- Lindquist, M., & Wager, T. (2007). Validity and power in hemodynamic response modeling: a comparison study and a new approach. *Human Brain Mapping, 28* (8), 764-84.
- Lindquist, M., Meng Loh, J., Atlas, L., & Wager, T. (2009). Modeling the hemodynamic response function in fMRI: efficiency, bias and mis-modeling. *NeuroImage, 45* (1 Suppl), S187-98.
- Livesey, A.C., Wall, M.B., & Smith, A.T. (2007). Time perception: manipulation of task difficulty dissociates clock functions from other cognitive demands. *Neuropsychologia, 45* (2), 321-31.
- Lloyd, D., Morrison, I., & Roberts, N. (2006). Role for human posterior parietal cortex in visual processing of aversive objects in peripersonal space. *Journal of Neurophysiology, 95* (1), 205-14.

- Lohmann, G., Erfurth, K., Müller, K., & Turner, R. (2011). Critical comments on dynamic causal modelling. *NeuroImage*, 1-16.
- López-Solà, M., Pujol, J., Hernández-Ribas, R., Harrison, B., Ortiz, H., Soriano-Mas, C., et al. (2010). Dynamic assessment of the right lateral frontal cortex response to painful stimulation. *NeuroImage*, 50 (3), 1177-87.
- Lorenz, J., Minoshima, S., & Casey, K.L. (2003). Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain*, 126 (5), 1079-91.
- Makni, S., Ciuciu, P., Idier, J., & Poline, J.-B. (2005). Joint detection-estimation of brain activity in functional MRI: a multichannel deconvolution solution. *IEEE transactions on signal processing*, 53 (9), 1-15.
- Makni, S., Idier, J., Vincent, T., Thirion, B., Dehaene-Lambertz, G., & Ciuciu, P. (2008). A fully Bayesian approach to the parcel-based detection-estimation of brain activity in fMRI. *NeuroImage*, 41 (3), 941-69.
- Maldjian, J.A., Laurienti, P.J., Kraft, R.A., & Burdette, J.H. (2003). An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *NeuroImage*, 19 (3), 1233-9.
- Marreiros, A.C., Kiebel, S.J., & Friston, K.J. (2008). Dynamic causal modelling for fMRI: a two-state model. *NeuroImage*, 39 (1), 269-78.
- Matre, D., Hernandez-Garcia, L., Tran, T., & Casey, K. (2010). "First pain" in humans: convergent and specific forebrain responses. *Molecular Pain*, 6, 81.
- Mazzola, L., Isnard, J., Peyron, R., Guénot, M., & Mauguère, F. (2009). Somatotopic organization of pain responses to direct electrical stimulation of the human insular cortex. *Pain*, 146 (1-2), 99-104.
- Mazzola, L., Isnard, J., Peyron, R. and Mauguère, F. (2011). Stimulation of the human cortex and the experience of Pain: Wilder Penfield's observations revisited. *Brain* (Epub), doi: 10.1093/brain/awr265 1-10.
- Mazzola, L., Faillenot, I., Barral, F.-G., Mauguère, F., & Peyron, R. (2012). Spatial segregation of somato-sensory and pain activations in the human operculo-insular cortex. *NeuroImage*, 60, 409–418. Elsevier Inc. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.12.072
- Meagher, M., Arnau, R., & Rhudy, J. (2001). Pain and emotion: effects of affective picture modulation. *Psychosomatic Medicine*, 63 (1), 79-90.
- Millan, M. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in neurobiology*, 57 (1), 1-164.
- Miron, D., Duncan, G., & Bushnell, M. (1989). Effects of attention on the intensity and unpleasantness of thermal pain. *Pain*, 39 (3), 345-52.
- Mobascher, A., Brinkmeyer, J., Warbrick, T., Musso, F., Wittsack, H. J., Saleh, A., Schnitzler, A., et al. (2009). Laser-evoked potential P2 single-trial amplitudes covary with the fMRI BOLD response in the medial pain system and interconnected subcortical structures. *NeuroImage*, 45(3), 917–926.

- Mobascher, A., Brinkmeyer, J., Warbrick, T., Musso, F., Schlemper, V., Wittsack, H. J., Saleh, A., et al. (2010). Brain activation patterns underlying fast habituation to painful laser stimuli. *International journal of psychophysiology*, 75 (1), 16–24.
- Moran, R.J., Stephan, K.E., Kiebel, S.J., Rombach, N., O'Connor, W.T., Murphy, K.J., Reilly, R.B., & Friston, K.J. (2008). Bayesian estimation of synaptic physiology from the spectral responses of neural masses. *NeuroImage*, 42 (1), 272-84.
- Moulton, E., Keaser, M., Gullapalli, R., & Greenspan, J. (2005). Regional intensive and temporal patterns of functional MRI activation distinguishing noxious and innocuous contact heat. *Journal of Neurophysiology*, 93 (4), 2183-93.
- Mouraux, A., & Iannetti, G. (2009). Nociceptive laser-evoked brain potentials do not reflect nociceptive-specific neural activity. *Journal of Neurophysiology*, 101 (6), 3258-69.
- Mouraux, A., Diukova, A., Lee, M., Wise, R., & Iannetti, G. (2011). A multisensory investigation of the functional significance of the "pain matrix". *NeuroImage*, 54 (3), 2237-49.
- Neugebauer, V., Li, W., Bird, G.C., & Han, J.S. (2004). The amygdala and persistent pain. *Neuroscientist*, 10 (3), 221-34.
- Oertel, B., Preibisch, C., Martin, T., Walter, C., Gamer, M., Deichmann, R., et al. (2011). Separating brain processing of pain from that of stimulus intensity. *Human Brain Mapping*.
- Ohara, S., Crone, N., Weiss, N., & Lenz, F. (2004). Attention to a painful cutaneous laser stimulus modulates electrocorticographic event-related desynchronization in humans. *Clinical neurophysiology*, 115 (7), 1641-52.
- Oldfield, R. (1971). The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9 (1), 97-113.
- Peelen, M., & Downing, P. (2007). The neural basis of visual body perception. *Nature Reviews Neuroscience*, 8 (8), 636-648.
- Pélégrini-Issac, M., Dauchot, K., & Anton, J.-L. (2006). SPM99 : Guide pratique pour utilisateur novice. <http://irmfmrs.free.fr/spip.php?article139>.
- Peltz, E., Seifert, F., Decol, R., Dörfler, A., Schwab, S., & Maihöfner, C. (2011). Functional connectivity of the human insular cortex during noxious and innocuous thermal stimulation. *NeuroImage*, 54 (2) 1324-35.
- Penfield, W., & Faulk, M. (1955). The insula; further observations on its function. *Brain*, 78 (4), 445-70.
- Penny, W.D., Stephan, K.E., Mechelli, A., & Friston, K.J. (2004). Comparing dynamic causal models. *NeuroImage*, 22 (3), 1157-72.
- Petrovic, P., Petersson, K., Ghatan, P., Stone-Elander, S., & Ingvar, M. (2000). Pain-related cerebral activation is altered by a distracting cognitive task. *Pain*, 85 (1-2), 19-30.

- Peyron, R., García-Larrea, L., Grégoire, M., Costes, N., Convers, P., Lavenne, F., et al. (1999). Haemodynamic brain responses to acute pain in humans: sensory and attentional networks. *Brain*, *122* (9), 1765-80.
- Peyron, R., Laurent, B., & Garcia-Larrea, L. (2000). Functional imaging of brain responses to pain. A review and meta-analysis (2000). *Clinical neurophysiology*, *30* (5), 263-88.
- Peyron, R. (2007). Physiologie de la douleur. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Neurologie*, *17-003-F-10*, 1-14.
- Peyron, R., Faillenot, I., Mertens, P., Laurent, B., & Garcia-Larrea, L. (2007). Motor cortex stimulation in neuropathic pain. Correlations between analgesic effect and hemodynamic changes in the brain. A PET study. *NeuroImage*, *34* (1), 310-21.
- Peyron, R., Kupers, R., Jehl, J., Garcia-Larrea, L., Convers, P., Barral, F., et al. (2007). Central representation of the RIII flexion reflex associated with overt motor reaction: an fMRI study. *Clinical neurophysiology*, *37* (4), 249-59.
- Ploghaus, A., Tracey, I., Gati, J., Clare, S., Menon, R., Matthews, P., et al. (1999). Dissociating pain from its anticipation in the human brain. *Science*, *284* (5422), 1979-81.
- Ploghaus, A., Narain, C., Beckmann, C., Clare, S., Bantick, S., Wise, R., et al. (2001). Exacerbation of pain by anxiety is associated with activity in a hippocampal network. *Journal of Neuroscience*, *21* (24), 9896-903.
- Ploghaus, A., Becerra, L., Borras, C., & Borsook, D. (2003). Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. *Trends in cognitive sciences*, *7* (5), 197-200.
- Ploner, M., Lee, M. C., Wiech, K., Bingel, U., & Tracey, I. (2010). Prestimulus functional connectivity determines pain perception in humans. *PNAS*, *107*(1), 355–360.
- Pomares, F., Creac'h, C., Faillenot, I., Convers, P., & Peyron, R. (2011). How a clock can change your pain? The illusion of duration and pain perception. *Pain*, *152* (1), 230-4.
- Porro, C., Baraldi, P., Pagnoni, G., Serafini, M., Facchin, P., Maieron, M., et al. (2002). Does anticipation of pain affect cortical nociceptive systems? *Journal of Neuroscience*, *22* (8), 3206-14.
- Pourtois, G., Grandjean, D., Sander, D., & Vuilleumier, P. (2004). Electrophysiological correlates of rapid spatial orienting towards fearful faces. *Cerebral Cortex*, *14* (6), 619-33.
- Qiu, Y., Noguchi, Y., Honda, M., Nakata, H., Tamura, Y., Tanaka, S., et al. (2006). Brain processing of the signals ascending through unmyelinated C fibers in humans: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *Cerebral Cortex*, *16* (9), 1289-95.
- Rainville, P., Duncan, G., Price, D., Carrier, B., & Bushnell, M. (1997). Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science*, *277* (5328), 968-71.
- Rainville, P., Carrier, B., Hofbauer, R., Bushnell, M., & Duncan, G. (1999). Dissociation of sensory and affective dimensions of pain using hypnotic modulation. *Pain*, *82* (2), 159-71.
- Rainville, P. (2002). Brain mechanisms of pain affect and pain modulation. *Current Opinion in Neurobiology*, *12* (2), 195-204.

- Rainville, P., Hofbauer, R.K., Bushnell, M.C., Duncan, G.H., & Price, D.D. (2002). Hypnosis modulates activity in brain structures involved in the regulation of consciousness. *Journal of cognitive neuroscience*, 14 (6), 887-901.
- Rao, S.M., Mayer, A.R., & Harrington, D.L. (2001). The evolution of brain activation during temporal processing. *Nature Neuroscience*, 4 (3), 317-23.
- Rhudy, J., Williams, A., McCabe, K., Nguyen, M., & Rambo, P. (2005). Affective modulation of nociception at spinal and supraspinal levels. *Psychophysiology*, 42 (5), 579-87.
- Rhudy, J. L., Williams, A. E., McCabe, K. M., Russell, J. L., & Maynard, L. J. (2008). Emotional control of nociceptive reactions (ECON): do affective valence and arousal play a role? *Pain*, 136 (3), 250–261.
- Roy, M., Piché, M., Chen, J.-I., Peretz, I., & Rainville, P. (2009). Cerebral and spinal modulation of pain by emotions. *PNAS*, 106(49), 20900–20905.
- Rubia, K., & Smith, A. (2004). The neural correlates of cognitive time management: a review. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 64 (3), 329-40.
- Salomons, T., Johnstone, T., Backonja, M., & Davidson, R. (2004). Perceived controllability modulates the neural response to pain. *Journal of Neuroscience*, 24 (32), 7199-203.
- Salomons, T. V., Johnstone, T., Backonja, M.-M., Shackman, A. J., & Davidson, R. J. (2007). Individual differences in the effects of perceived controllability on pain perception: critical role of the prefrontal cortex. *Journal of cognitive neuroscience*, 19 (6), 993–1003.
- Saper, C.B., Iversen, S.D. & Frackowiak, R. (2000). Integration of sensory and motor function: The association areas of the cerebral cortex and the cognitive capabilities of the brain. In *ER Kandel, JH Schwartz, TM Jessell (Ed.) Principles of neural science, 4th edn., McGraw-Hill, New-York*, 349-380.
- Sawamoto, N., Honda, M., Okada, T., Hanakawa, T., Kanda, M., Fukuyama, H., et al. (2000). Expectation of pain enhances responses to nonpainful somatosensory stimulation in the anterior cingulate cortex and parietal operculum/posterior insula: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *Journal of Neuroscience*, 20 (19), 7438-45.
- Schienle, A., Schäfer, A., Hermann, A., Walter, B., Stark, R., & Vaitl, D. (2006). fMRI responses to pictures of mutilation and contamination. *Neuroscience Letters*, 393 (2-3), 174-8.
- Schmithorst, V., & Brown, R. (2004). Empirical validation of the triple-code model of numerical processing for complex math operations using functional MRI and group Independent Component Analysis of the mental addition and subtraction of fractions. *NeuroImage*, 22 (3), 1414-20.
- Schoedel, A., Zimmermann, K., Handwerker, H., & Forster, C. (2008). The influence of simultaneous ratings on cortical BOLD effects during painful and non-painful stimulation. *Pain*, 135 (1-2), 131-41.
- Seghier, M. L., Zeidman, P., Neufeld, N. H., Leff, A. P., & Price, C. J. (2010). Identifying abnormal connectivity in patients using dynamic causal modeling of fMRI responses. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 4.
- Seminowicz, D., & Davis, K. (2007). Pain enhances functional connectivity of a brain network evoked by performance of a cognitive task. *Journal of Neurophysiology*, 97 (5), 3651-9.

- Singer, T. (2006). The neuronal basis and ontogeny of empathy and mind reading: review of literature and implications for future research. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 30 (6), 855-63.
- Singh-Curry, V., & Husain, M. (2009). The functional role of the inferior parietal lobe in the dorsal and ventral stream dichotomy. *Neuropsychologia*, 47 (6), 1434-48.
- Spielberger, C.D. (1983). Traduction française Schweitzer M.B. et Paulhan I., 1990
- SPM courses (october 2009). <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>.
- Steffener, J., Tabert, M., Reuben, A., & Stern, Y. (2010). Investigating hemodynamic response variability at the group level using basis functions. *NeuroImage*, 49 (3), 2113-22.
- Steinmetz, P., Roy, A., Fitzgerald, P., Hsiao, S., Johnson, K., & Niebur, E. (2000). Attention modulates synchronized neuronal firing in primate somatosensory cortex. *Nature*, 404 (6774), 187-90.
- Stephan, K.E., Penny, W.D., Daunizeau, J., Moran, R.J., & Friston, K.J. (2009). Bayesian model selection for group studies. *NeuroImage*, 46 (4), 1004-1017.
- Stephan, K. E., Penny, W. D., Moran, R. J., Ouden, den, H. E. M., Daunizeau, J., & Friston, K. J. (2010). Ten simple rules for dynamic causal modeling. *NeuroImage*, 49, 3099–3109.
- Türe, U., Yaşargil, M., Al-Mefty, O., & Yaşargil, D. (2000). Arteries of the insula. *Journal of neurosurgery*, 92 (4), 676-87.
- Talbot, J., Marrett, S., Evans, A., Meyer, E., Bushnell, M., & Duncan, G. (1991). Multiple representations of pain in human cerebral cortex. *Science*, 251 (4999), 1355-8.
- Tarkka, I., & Treede, R. (1993). Equivalent electrical source analysis of pain-related somatosensory evoked potentials elicited by a CO2 laser. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 10 (4), 513-9.
- Thorn, B., & Hansell, P. (1993). Goals for coping with pain mitigate time distortion. *The American journal of psychology*, 106 (2), 211-25.
- Tipples, J. (2008). Negative emotionality influences the effects of emotion on time perception. *Emotion (Washington, DC)*, 8 (1), 127-31.
- Tracey, I., Ploghaus, A., Gati, J., Clare, S., Smith, S., Menon, R., et al. (2002). Imaging attentional modulation of pain in the periaqueductal gray in humans. *Journal of Neuroscience*, 22 (7), 2748-52.
- Tracey, I., & Mantyh, P. (2007). The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron*, 55 (3), 377-91.
- Treede, R.-D., Lorenz, J., & Baumgärtner, U. (2003). Clinical usefulness of laser-evoked potentials. *Clinical neurophysiology*, 33 (6), 303-14.
- Truini, A., Galeotti, F., Cruccu, G., & Garcia-Larrea, L. (2007). Inhibition of cortical responses to A-delta inputs by a preceding C-related response: testing the "first come, first served" hypothesis of cortical laser evoked potentials. *Pain*, 131 (3), 341-7.

- Tse, P., Intriligator, J., Rivest, J., & Cavanagh, P. (2004). Attention and the subjective expansion of time. *Perception & psychophysics*, *66* (7), 1171-89.
- Tzourio-Mazoyer, N., Landeau, B., Papathanassiou, D., Crivello, F., Etard, O., Delcroix, N., Mazoyer, B., & Joliot, M. (2002). Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage*, *15* (1), 273-89.
- Upadhyay, J., Pendse, G., Anderson, J., Schwarz, A., Baumgartner, R., Coimbra, A., et al. (2010). Improved characterization of BOLD responses for evoked sensory stimuli. *NeuroImage*, *49* (3), 2275-2286.
- Valeriani, M., Betti, V., Le Pera, D., De Armas, L., Miliucci, R., Restuccia, D., et al. (2008). Seeing the pain of others while being in pain: a laser-evoked potentials study. *NeuroImage*, *40* (3), 1419-28.
- Valeriani, M., Rambaud, L., & Mauguière, F. (1996). Scalp topography and dipolar source modelling of potentials evoked by CO₂ laser stimulation of the hand. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, *100* (4), 343-53.
- Valet, M., Sprenger, T., Boecker, H., Willloch, F., Rummeny, E., Conrad, B., et al. (2004). Distraction modulates connectivity of the cingulo-frontal cortex and the midbrain during pain - an fMRI analysis. *Pain*, *109* (3), 399-408.
- Van Damme, S., Legrain, V., Vogt, J., & Crombez, G. (2010). Keeping pain in mind: a motivational account of attention to pain. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *34* (2), 204-13.
- Van Wassenhove, V., Buonomano, D., Shimojo, S., & Shams, L. (2008). Distortions of Subjective Time Perception Within and Across Senses. *PLoS ONE*, *3* (1), e1437.
- Villemure, C., & Bushnell, M.C. (2002). Cognitive modulation of pain: how do attention and emotion influence pain processing?. *Pain*, *95* (3), 195-9.
- Villemure, C., & Bushnell, M.C. (2009). Mood influences supraspinal pain processing separately from attention. *Journal of Neuroscience*, *29* (3), 705-15.
- Vincent, T., Risser, L., & Ciuciu, P. (2010). Spatially Adaptive Mixture Modeling for Analysis of fMRI Time Series. *IEEE transactions on medical imaging*, *29* (4), 1059-74.
- Vogt, B., Berger, G., & Derbyshire, S. (2003). Structural and functional dichotomy of human midcingulate cortex. *The European journal of neuroscience*, *18* (11), 3134-44.
- Vogt, B. (2005). Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. *Nature Reviews Neuroscience*, *6* (7), 533-44.
- Weiss, T., Straube, T., Boettcher, J., Hecht, H., Spohn, D., & Miltner, W. (2008). Brain activation upon selective stimulation of cutaneous C- and Delta-fibers. *NeuroImage*, *41* (4), 1372-81.
- Wiech, K., & Tracey, I. (2009). The influence of negative emotions on pain: behavioral effects and neural mechanisms. *NeuroImage*, *47* (3), 987-94.
- Wiech, K., Lin, C.-S., Brodersen, K. H., Bingel, U., Ploner, M., & Tracey, I. (2010). Anterior insula integrates information about salience into perceptual decisions about pain. *J Neurosci*, *30* (48), 16324-16331.

Willis, W., & Westlund, K. (1997). Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 14 (1), 2-31.

Witting, N., Kupers, R.C, Svensson, P., Arendt-Nielsen, L., Gjedde, A., & Jensen, T.S. (2001). Experimental brush-evoked allodynia activates posterior parietal cortex. *Neurology*, 57 (10), 1817-24.

Wittmann, M., Simmons, A., Aron, J., & Paulus, M. (2010). Accumulation of neural activity in the posterior insula encodes the passage of time. *Neuropsychologia*, 48 (10), 3110-20.

Wunsch, A., Philippot, P., & Plaghki, L. (2003). Affective associative learning modifies the sensory perception of nociceptive stimuli without participant's awareness. *Pain*, 102 (1-2), 27-38.

Xuan, B., Zhang, D., He, S., & Chen, X. (2007). Larger stimuli are judged to last longer. *Journal of vision*, 7 (10), 2.1-5.

Yoshino, A., Okamoto, Y., Onoda, K., Yoshimura, S., Kunisato, Y., Demoto, Y., Okada, G., & Yamawaki S. (2010). Sadness enhances the experience of pain via neural activation in the anterior cingulate cortex and amygdala: an fMRI study. *NeuroImage*, 50 (3), 1194-201.

Annexes

7.1 Annexe 1 – Epreuve article publié dans PAIN

How a clock can change your pain? The illusion of duration and pain perception

Florence B. Pomares^{a,b,c,*}, Christelle Creac'h^{a,b,c}, Isabelle Faillenot^{c,d}, Philippe Convers^{a,c}, Roland Peyron^{a,b,c}

^a Department of Neurology, CHU, 42055 Saint-Etienne, France

^b Pain Center, CHU, 42055 Saint-Etienne, France

^c INSERM U879, UCB Lyon1, UJM Saint-Etienne, France

^d CMRR Unit, CHU, 42055 Saint-Etienne, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 February 2010

Received in revised form 26 October 2010

Accepted 29 October 2010

Keywords:

Pain

Time perception

Illusion

Thermal stimulation

ABSTRACT

The intensity of experimental pain is known to be dependent on stimulation duration. However, it remains unknown whether this effect arises largely from the actual stimulus duration or is substantially influenced by the subject's perception of the stimulus duration. In the present study, we questioned this issue by misleading the perception of the duration of pain in a population of 36 healthy volunteers stimulated with a thermode. To this aim, time was signified by a clock with rotating hands in which imperceptible differences in speed rotation had been introduced. Subjects were therefore immersed in 2 comparative conditions in which time was manipulated to provide the illusion of either long or short duration of the painful stimulus. In a first condition ("full-length" clock), participants were instructed that pain would last for a complete revolution of the clock's hands, whereas in the second condition ("shortened" clock), revolution was reduced by 25%. Although the intensity and the real duration of stimulation were identical in both conditions, the intensity of pain was significantly reduced when the perception of time was misleadingly shortened by the manipulated clock. This study suggests that the perceived duration of a noxious stimulation may influence the perceived intensity of pain.

© 2010 International Association for the Study of Pain. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Experimental studies on pain generally deliver acute painful stimuli (i.e., brief events) to normal volunteers. Intuitively, it seems logical that pain duration could influence the intensity of pain perception in a sense that the longer is the pain stimulus, the higher should be the pain perception. By manipulating the representation of time in normal volunteers during a painful stimulation, our study aimed at investigating the time dimension as a part of pain perception.

The influence of various contexts on pain intensity has been investigated previously. Emotion (i.e., seeing unpleasant pictures during painful stimuli) was found to enhance pain ratings [12] and to decrease pain threshold [19], whereas distracting the subject from pain with a cognitive task was found to reduce pain ratings [21,31]. Anxiety [24] and anticipation of pain, particularly for expected stimuli [27] have also been found to increase pain intensity. Only a few studies assessed the relationships between pain perception and time. It is generally admitted that long-duration stimuli are perceived as more painful than short stimuli for high

temperatures [18]. What has been shown is that time perception was underestimated as the subjects experienced pain [13,16,28] and that pain coping strategies integrating temporal information in children can help to decrease pain rating [6], but the reverse (i.e., the effect of time perception on pain intensity) has not been investigated so far. Time perception is known to involve contextual information, and duration estimation is known to rely, for example, on stimulus size [34], velocity and speed [17], visual information [14,15], auditory clues [9], or interaction between modalities [33]. Subjective perception of time can also be distorted by emotional context [10,19] and attention [5,16,30]; we used these properties to modify subjective duration of our painful stimulations.

In the present study, we investigated how the perception of time may influence the intensity of perceived pain: by using a misleading representation of time, participants were immersed in 2 different conditions, relative to the duration of stimulations that were delivered by a heat thermode on the left leg or on the left hand. Compared with a control context in which subjects received a "full-length" nociceptive stimulation, a second context in which they were convinced that they had received a "shortened" stimulation succeeded in modulating (i.e., minimizing) pain perception. Here we present the details of this experiment showing that believing you are suffering for a shorter period of time will decrease your pain intensity.

* Corresponding author at: Service de Neurologie, Hôpital Nord, 42055 Saint-Etienne, France. Tel.: +33 477 829 031; fax: +33 477 120 543.

E-mail address: florence.pomares@univ-st-etienne.fr (F.B. Pomares).

2. Methods

2.1. Participants

A total of 36 right-handed subjects (18 male and 18 female, age [mean \pm SD] 23.2 ± 2.85 years) were included in the main study. All were free of treatment and did not practice intensive sport. They were not paid for their participation, and all provided informed consent. Twenty-four additional subjects were included in a complementary study (12 male and 12 female, age 22 ± 2.98 years). They were paid for their participation, and all provided informed consent. The local ethics committee approved the experimental protocols.

2.2. Task and procedure

Thermal stimulations were delivered by a 3×3 -cm thermal probe (TSA-2001, Medoc). Nociceptive thresholds were determined by methods of limits. Basal temperature, set at 32°C , rose to individual pain threshold with a slope of 1°C/s . Subjects had to press a button as the heat temperature reached a painful level. The measure was repeated 4 times. Mean pain thresholds were $45.2^\circ\text{C} \pm 1.46^\circ\text{C}$ in the main study (range 40.2 to 46) and $44.1^\circ\text{C} \pm 0.68^\circ\text{C}$ in the complementary study (range 43 to 45.5). In both studies, maximal temperature was set to 47°C to prevent skin damage.

Subjects received a standardized instruction that there would be 2 painful conditions and that a clock would materialize the course of time. In one condition, the hands of the clock described a complete revolution, whereas in the second condition they described only three-fourths of the revolution (Fig. 1). Subjects were instructed that in this latter condition, pain duration would therefore be reduced by 25%. In the main experiment, this instruction was reinforced by the green colour of the shortened clock and by adding a happy-face emoticon, whereas the clock with a complete revolution was filled with a red colour and associated with a sad-face emoticon. The aim of this presentation was to convince the subjects that in the context with the shortened clock, the painful stimulation was shorter compared with the context with the full-length clock. Stimulation temperature was set to the individual pain threshold $+1^\circ\text{C}$ with the thermode applied on the left leg for 30 s (plateau duration, slope 6°C/s [up] and 8°C/s [down]). Subjects were kept blinded to the fact that stimulation temperature and duration were kept constant in both conditions. Immediately after each stimulation, the subject was asked to rate the intensity of pain on a 10-cm Visual Analog Scale. To minimize

memory bias in their activity of scoring pain, subjects were asked to score their pain immediately after the temperature had returned to baseline. In a first session (passive session), 4 stimulations (2 stimulations with the full-length clock and 2 stimulations with the shortened clock) were delivered to volunteers according to a predefined sequence that was randomly ordered. To minimize the known influence of pain predictability on pain perception [26] and to exclude confounds that may relate to the chosen or the forced aspects of the decision, we replicated the experiment in a second session in which subjects were asked to choose (active session) the sequence (i.e., the order of the 4 stimulations). Thus, subjects experienced a total of 8 stimulations. The order between passive and active sessions was counterbalanced.

Then, a complementary experiment was designed to exclude the effects of colours and emoticons, and therefore, both full-length and shortened clocks were similarly represented in gray colour. The ensuing experiment was then similar to what was performed in the forced session of the main study. Two different lengths of painful stimuli applied on the dorsum of the left hand were tested (either 25 or 15 s) at the individual pain threshold or at the individual pain threshold $+1^\circ\text{C}$. Although it could be interesting to investigate the effects of time representation on innocuous stimuli, we preferred not to introduce innocuous intensities of stimulation (below pain threshold) that would have required an additional scoring and would have increased the complexity of the experiment. Subjects were asked to score their pain after the temperature had returned to baseline with a variable delay (jitter) that was introduced between the end of the stimulation and the signal for rating: 2.08 ± 1.38 s) to prepare the rating conditions of the future fMRI experiment in which stimulation should be easily dissociated from scoring.

2.3. Time perception

Throughout the main and the complementary experiments, we deliberately omitted investigating explicitly the perception of time and the perception of rotation speed of the hands of the clock by the subjects. Specifically, it would probably have been interesting to assess their own perception of time representation or to compare with a real 75% reduction of stimulus duration. However, we anticipated that orienting attention toward the representation of time and the distortions introduced here would have exposed them to the risk of giving a temporal reference, and therefore possibly the key of the illusion. At the end of the session, for the same reasons, we systematically checked with a vague but standardized question (“Did you notice anything wrong or bizarre with the

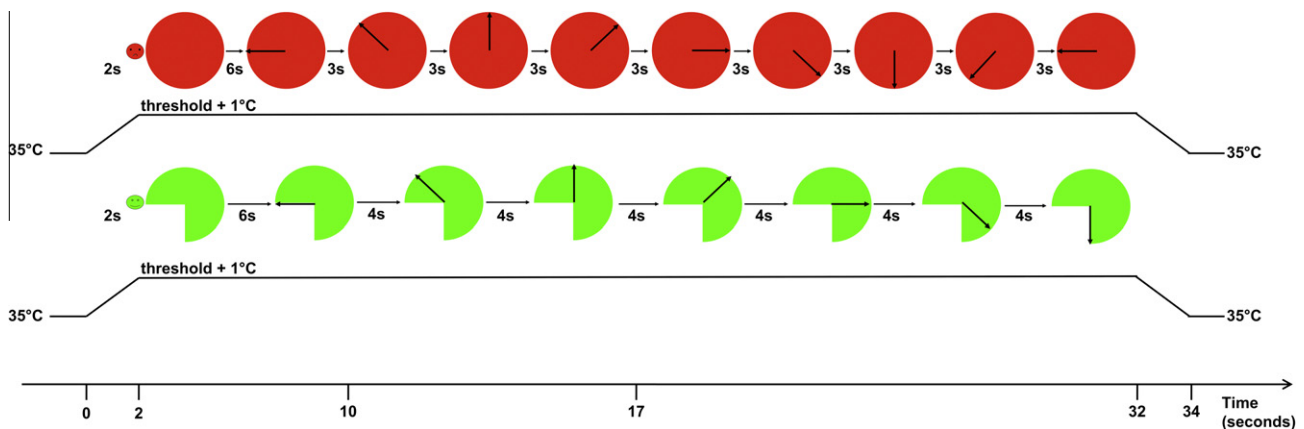


Fig. 1. Experimental design. In the 2 conditions, the clock with the emoticon was first presented for 2 s corresponding to the delay for the temperature to reach the plateau, then the first hand position on the clock was presented for 6 s. In the shortened-length condition, green clock with a happy-face emoticon, the hand moved every 4 s, in the full-length condition, red clock with a sad-face emoticon, the hand moved every 3 s. After 30 s, the temperature decreased to 35°C (baseline) and the clock was removed.

clocks or the experiment?") that they did not recognize the illusion and that they were really misled.

2.4. Statistical analyses

Statistical analyses were conducted on SPSS (version 16.0.2, SPSS, Inc., Chicago, IL) with parametrical tests. Pain intensity ratings were normally distributed in the 2×2 conditions and sessions (Kolmogorov–Smirnov $Z < 0.71$, $P > .05$). Repeated-measures analysis of variance tests were conducted on mean pain ratings. We defined 2 within-subject factors: condition (shortened or full-length) and session (passive or active) in the main study, condition (shortened or full-length) and temperature (pain threshold or pain threshold +1 °C) in the complementary study. These analyses allowed us to test the main effect of condition, as well as the condition by session/temperature interactions. Student paired t tests were used for post hoc analyses, and P values were corrected for multiple comparisons with the Bonferroni correction, when appropriate (P_{corr}). To verify whether the illusion was maintained for the short time duration, the 15-s session was analyzed with Student paired t test because these conditions were only manipulated by the condition factor (shortened or full length).

When necessary, the pain intensity rating obtained in different sessions in the conditions of the full-length clock were averaged together, as well as the pain intensity rating obtained in the conditions of the shortened clock. Results are reported in the text as the mean \pm SD and in Fig. 2A and B as the mean \pm SEM. The significance criterion was set at $P < .05$.

3. Results

3.1. Main study, 30-s duration

A main effect of condition (shortened-length clock vs. full-length clock) was found ($F_{1,35} = 7.778$, $P = .008$) (Fig. 2A) and showed that

the shorter the stimulus seemed to be, the lower was the intensity of pain (mean pain score \pm SD for full-length clock: 5.25 ± 1.86 , shortened clock: 4.71 ± 2.14). No significant effect of session (passive session vs. active session) was found ($F_{1,35} = 0.238$, $P = .629$) and showed that the selection mode of conditions had no significant effect on pain intensity scores (passive: 5.03 ± 1.90 , active: 4.93 ± 2.14). No significant interaction was found between selection mode and perceived duration ($F_{1,35} = .001$, $P = .978$). Detailed results showed a significant effect of condition for both passive (full-length clock: 5.30 ± 1.89 , shortened clock: 4.76 ± 2.11 ; $T = 2.524$, $P = .016$) and active sessions (full-length clock: 5.20 ± 2.25 , shortened clock: 4.65 ± 2.29 ; $T = 2.169$, $P = .037$). Magnitude of pain modulation in the chosen sessions was correlated with those of the forced sessions (mean differences in pain scores: 0.55 ± 1.52 and 0.54 ± 1.29 , respectively; $R = 0.394$, $P = .018$).

3.2. Complementary study: colourless sessions, 25-s duration

Regarding the main study in which thermal pain stimulations lasted 30 s, a main effect of condition (shortened-length clock vs. full-length clock) was found ($F_{1,23} = 12.214$, $P = .002$ [Fig. 2B]; mean pain score \pm SD for full-length clock: 5.23 ± 1.79 , shortened clock: 4.88 ± 1.67). A positive main effect of temperature (pain threshold vs. pain threshold +1 °C) on pain intensity ratings was found ($F_{1,23} = 78.873$, $P < .001$; mean pain score \pm SD for pain threshold: 4.15 ± 1.52 , pain threshold +1 °C: 5.96 ± 1.44).

A significant interaction was found between condition and temperature ($F_{1,23} = 5.014$, $P = .035$). Detailed results showed that pain intensity ratings were significantly lower in the shortened than in the full-length conditions when thermal stimulation was set to pain threshold +1 °C (full-length clock: 6.24 ± 1.47 , shortened clock: 5.68 ± 1.39 ; $T = 3.139$, $P_{\text{corr}} = .01$). In the conditions with stimulation intensity set to pain threshold instead of pain threshold +1 °C, pain intensity did not differ significantly between condition (full-length clock: 4.22 ± 1.50 , shortened clock: 4.09 ± 1.57 ; $T = 1.726$, $P_{\text{corr}} = .196$).

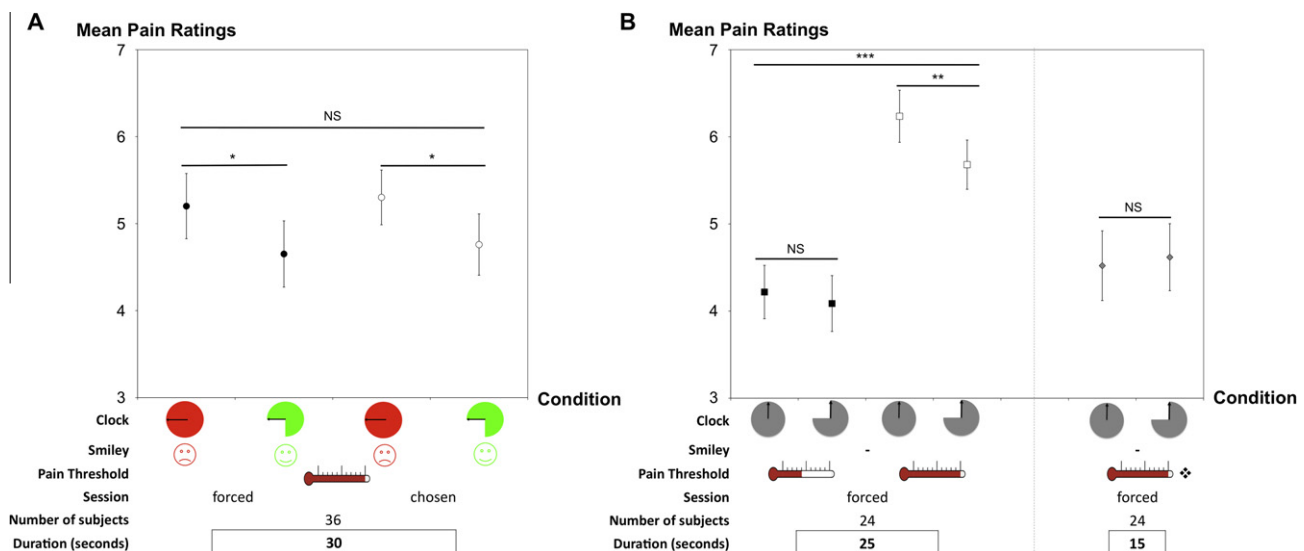


Fig. 2. (A) Main study. Mean pain ratings from 36 subjects were obtained in 2 sessions by 2 conditions. Full-length condition corresponds to a red, full-length clock with a sad-face emoticon, and shortened condition corresponds to a green, three-fourths-full clock with a happy-face emoticon. During the whole experiment, stimulation temperature was set to pain threshold +1 °C and duration was set to 30 s. In both the chosen and the forced sessions, shortened stimulations were perceived as significantly less painful than full-length ones. Mean pain ratings (\pm SEM) during chosen sessions did not differ from those recorded in forced sessions. (B) Complementary study. Mean pain ratings from 24 subjects were obtained in 2 sessions. Full-length condition corresponds to a full-length clock, and shortened condition corresponds to a three-fourths-full clock, both gray. In one session, stimulation duration was set to 25 s and temperature to pain threshold or pain threshold +1 °C. In the other session, stimulation duration was set to 15 s and temperature to pain threshold +1 °C (♦ except for 6 of 24 subjects, who would not support the repetition of stimulations at pain threshold +1 °C). Shortened stimulations were perceived as significantly less painful (mean pain ratings \pm SEM) than full-length ones only for longer conditions at pain threshold +1 °C. Statistically significant difference: * $P < .05$, ** $P < .005$, and *** $P < .001$. NS = nonsignificant.

3.3. Complementary study: colourless sessions, 15-s duration

In the conditions with a duration of 15 s of stimulation instead of 25 s, in 6 of the 24 subjects the stimulation set to pain threshold +1 °C was unbearable and they were therefore stimulated at pain threshold. Pain intensity scores were not different in these 6 subjects as compared with the 18 subjects stimulated at pain threshold +1 °C (full-length clock: 4.97 ± 2.68 and 4.37 ± 1.73 , $T = -0.64$, $P = .53$; shortened clock: 5.58 ± 2.2 and 4.30 ± 1.72 , $T = -1.49$, $P = .151$ in the 6 and the 18 subjects, respectively). In these 24 subjects, pain intensity did not differ between the full-length clock and the shortened clock (4.52 ± 1.96 and 4.62 ± 1.88 , respectively; $T = 0.608$, $P = .549$).

The magnitude of pain modulation between full-length and shortened conditions were not significantly different in the 25-s conditions as compared with the 30-s sessions (mean differences in pain scores: 30 s: 0.55 ± 1.18 , 25 s: 0.56 ± 0.87 ; $T = -1.249$, $P = .217$). These results were obtained even though colour and emoticons were present in the 30-s conditions but not in the 25-s conditions. The magnitude of pain modulation was significantly higher in the 25-s sessions (at pain threshold +1 °C) than in the 15-s sessions (mean differences in pain scores: 25 s: 0.56 ± 0.87 , 15 s: -0.098 ± 0.79 ; $T = 2.35$, $P = .012$).

3.4. Time perception

Throughout the main and the complementary experiments, none of the subjects realized that the differences in stimulation duration were an illusion.

4. Discussion

In this study, we succeeded in creating an illusion of shortened painful stimulation by a misleading materialization of time. For given temperatures and fixed duration of stimuli, a simple illusion on the time course made the pain perception less intense. By convention, in what follows, consistent with the instructions given to participants, we will discuss our results as lowered pain in shortened clock conditions rather than increased pain in full-length clock conditions. These results are in agreement with the finding that long stimuli (30 s) are generally more painful than short stimuli (5 to 15 s) [18] at high temperatures and suggest that subjects' perception of time has actually been misled by the context of the experiment. Although many other modulations of pain or pain illusions have been demonstrated previously, it is always fascinating to observe that previously unexplored and natural situations can reduce pain intensity. Attentional [8,11,20,22,32], emotional [12], diversion [31], anticipation [24,27], memorization [3], or sensory illusions [4,7] are nonexhaustive examples of what the nervous system can do to change pain perception. Hypnotic suggestion has been reported to modulate pain perception [25], and shortening the perception of time duration with hypnosis can alleviate acute or chronic pain [2]. Conversely to instrumental and drug therapies, the main interest of these modulations is that they recruit endogenous resorts. This is particularly relevant for the comprehension of time appraisal in painful situations because it is clear from these results that the contextual estimation of time may change pain intensity. It seems possible that the enhancement of pain ratings that is reported here over a 30-s duration in a condition that is expected to be long, as compared with a shortened condition, would be a mechanism of importance in how the subject's relation with time during a painful episode can influence pain intensity ratings. According to this interpretation, the modulation of pain intensity by time representation was not found for shorter pain conditions (i.e., 15 s), consistent with a low influence of time effect for acute or short painful stimuli compared with longer ones.

As suggested previously by others [1], chronic pain states could be explained by pernicious loops among pain perception, duration of pain, and additional cognitive factors. Although our study did not apply to patients with chronic pain, the short-term modulations reported here emphasized the importance of duration on the perception of a painful state. Later on, other processes such as emotion could further amplify these processes because time has been shown to be overestimated in cases of negative emotions as compared with positive emotions [10,19,29]. Alternatively, the modulations reported here may be viewed from the inside of the subjects as an equivalent of temporal summation: with the distortion of the temporal reference, stimuli of presumed longer duration were associated with stronger pain. These results may appear as a replication of another study showing a temporal summation of phasic stimuli of between 10 and 30 s with a maximal effect for high temperature [18]. Increased pain intensity was reported here for 25 s as compared with 10 s, with a similar enhancement for pain intensity observed for the highest intensities of stimulations (pain threshold +1 °C) but not for lower intensities (pain threshold). However, conversely to the study by Koyama et al. [18], our paradigm was designed to test temporal manipulation rather than temporal summation; therefore, stimuli were tonic rather than phasic and constant rather than repetitive.

A second aspect of the study was that pain modulation by time perception was not influenced by the visual aspects associated with time representation, such as colours and emoticons. If we consider similar duration of pain stimulation (i.e., 30 and 25 s) and similar thermal intensities (pain threshold +1 °C), the complementary study replicated findings from the main study in a different population of volunteers, suggesting a reliable effect of time representation on pain intensity that prevails over these cosmetic details. It is not possible on the basis of these data to conclude whether the speeds of the hands or the angular degrees completed (or both) are the most important pieces in the representation of time. On the basis of previous literature, the temporal frequency of visual stimuli plays an important role in estimating duration [17]. In other words, when temporal frequency (as velocity and speed) increases, time overestimation increases, at least for short durations of stimuli (200 to 1000 ms). If we extrapolate these data to our experiment, it would mean that the higher temporal frequency and speed of the full-length clock would have enhanced the apparent length of stimuli as compared with the shortened clock, and therefore would have enhanced the illusion. Because in both experiments (main and complementary studies), the common denominator was the representation of time by the clock, these results suggest a direct modulation of pain perception, regardless of colours and emoticons that may have a conditioning power. Interestingly, the complementary study demonstrated that this modulatory effect survived neither to shorter duration (15 s) of pain stimulation, nor to lower thermal intensities (pain threshold instead of pain threshold +1 °C). This may be caused by a specific effect of time representation on high pain intensities, as suggested previously by others [18], but also on relatively long painful stimulations, consistently with what has been shown for temporal summation [18].

A third aspect of the study was that pain modulation by time perception was not influenced by whether the decision was forced or chosen. In a previous experiment investigating 2 contexts that differ for their pain controllability, it was also found that pain intensity was not different [26]. Thus, it seems that perception of time prevails over other aspects of pain perception, such as whether pain was forced or chosen, a situation that is very close to that of pain controllability.

Finally, our study raises the question of a conditioning effect because the participants were actually instructed that pain was reduced for the shortened clock as compared with the full-length

clock. In addition to these instructions, both the colour of the clocks and the associated emoticon were indexes that may theoretically have conditioned their response to pain in the main experiment. Colour conditioning/anticipation has been successfully reported to modulate pain intensity [23,24]. Although these aspects associated with materialization of time may have contributed to the present results, the complementary study suggests that perception of time, even misled, prevails over other aspects such as conditioning or anticipation. The pattern of brain activations associated with the modulations of pain intensity by the perception of stimulus duration will be precised in an (ongoing) fMRI study replicating this experimental paradigm.

Conflicts of interest statement

The authors declare that there are no conflicts of interest in the publication of the article.

Acknowledgements

The authors thank Sébastien Bassard and Fatah Torche for their help with data collection.

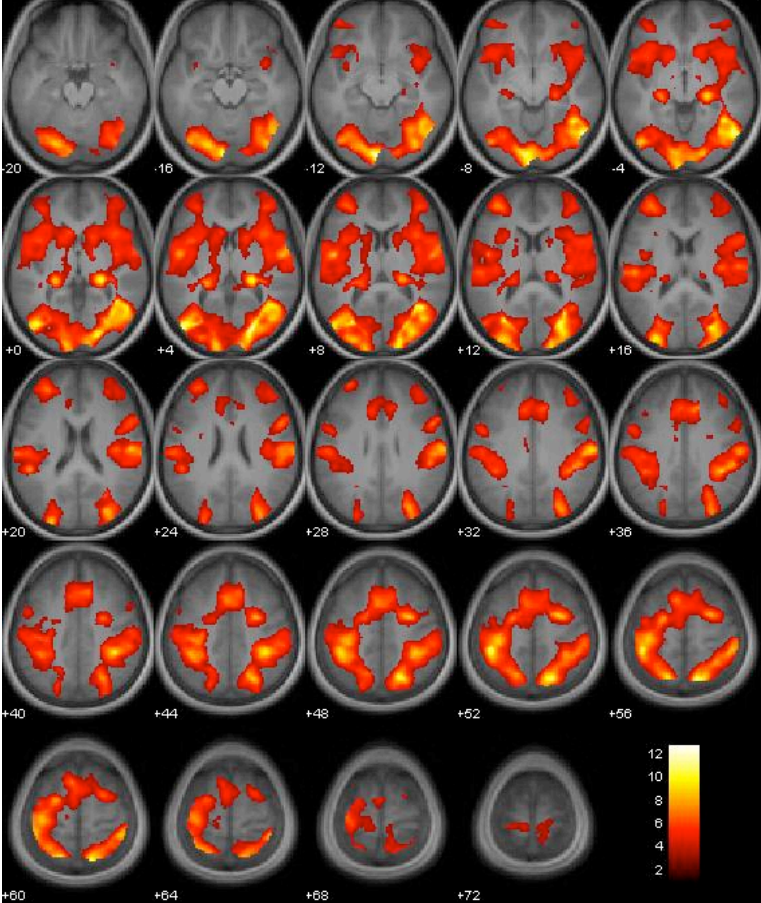
References

- [1] Apkarian A, Baliki M, Geha P. Towards a theory of chronic pain. *Progr Neurobiol* 2009;87:81–97.
- [2] Barber J. Hypnosis and suggestion in the treatment of pain. A clinical guide. New York: Norton; 1996.
- [3] Bingel U, Schoell E, Herken W, Büchel C, May A. Habituation to painful stimulation involves the antinociceptive system. *Pain* 2007;131:21–30.
- [4] Bouhassira D, Kern D, Rouaud J, Pelle-Lancien E, Morain F. Investigation of the paradoxical painful sensation ('illusion of pain') produced by a thermal grill. *Pain* 2005;114:160–7.
- [5] Chaston A, Kingstone A. Time estimation: the effect of cortically mediated attention. *Brain Cogn* 2004;55:286–9.
- [6] Coldwell S, Kaakko T, Gartner-Makihara A, Williams T, Milgrom P, Weinstein P, Ramsay DS. Temporal information reduces children's pain reports during a multiple-trial cold pressor procedure. *Behav Therapy* 2002;33:45–63.
- [7] Craig A, Bushnell M. The thermal grill illusion: unmasking the burn of cold pain. *Science* 1994;265:252–5.
- [8] Davis K, Hutchison W, Lozano A, Tasker R, Dostrovsky J. Human anterior cingulate cortex neurons modulated by attention-demanding tasks. *J Neurophysiol* 2000;83:3575–7.
- [9] Droit-Volet S, Tourret S, Wearden J. Perception of the duration of auditory and visual stimuli in children and adults. *Q J Exp Psychol A* 2004;57:797–818.
- [10] Droit-Volet S, Meck W. How emotions colour our perception of time. *Trends Cogn Sci* 2007;11:504–13.
- [11] Frankenstein U, Richter W, McIntyre M, Remy F. Distraction modulates anterior cingulate gyrus activations during the cold pressor test. *NeuroImage* 2001;14:827–36.
- [12] Godinho F, Magnin M, Frot M, Perchet C, Garcia-Larrea L. Emotional modulation of pain: is it the sensation or what we recall? *J Neurosci* 2006;26:11454–61.
- [13] Hellström C, Carlsson S. Busy with pain: disorganization in subjective time in experimental pain. *Eur J Pain* 1997;1:133–9.
- [14] Johnston A, Nishida S. Time perception: brain time or event time? *Curr Biol* 2001;11:R427–30.
- [15] Johnston A, Arnold D, Nishida S. Spatially localized distortions of event time. *Curr Biol* 2006;16:472–9.
- [16] Jokic-Begic N, Ivanec D, Markanovic D. Effects of cognitive pain coping strategies and locus of control on perception of cold pressor pain in healthy individuals: experimental study. *Acute Pain* 2009;11:113–20.
- [17] Kanai R, Paffen C, Hogendoorn H, Verstraten F. Time dilation in dynamic visual display. *J Vision* 2006;6:1421–30.
- [18] Koyama Y, Koyama T, Kroncke A, Coghill R. Effects of stimulus duration on heat induced pain: the relationship between real-time and post-stimulus pain ratings. *Pain* 2004;107:256–66.
- [19] Meagher M, Arnau R, Rhudy J. Pain and emotion: effects of affective picture modulation. *Psychosom Med* 2001;63:79–90.
- [20] Miron D, Duncan G, Bushnell M. Effects of attention on the intensity and unpleasantness of thermal pain. *Pain* 1989;39:345–52.
- [21] Petrovic P, Petersson K, Ghatan P, Stone-Elander S, Ingvar M. Pain-related cerebral activation is altered by a distracting cognitive task. *Pain* 2000;85:19–30.
- [22] Peyron R, Garcia-Larrea L, Gregoire M, Costes N, Convers P, Lavenne F, Mauguier F, Michel D, Laurent B. Haemodynamic brain responses to acute pain in humans: sensory and attentional networks. *Brain* 1999;122:1765–80.
- [23] Ploghaus A. Dissociating pain from its anticipation in the human brain. *Science* 1999;284:1979–81.
- [24] Ploghaus A, Narain C, Beckmann C, Clare S, Bantick S, Wise R, Matthews PM, Rawlins JN, Tracey I. Exacerbation of pain by anxiety is associated with activity in a hippocampal network. *J Neurosci* 2001;21:9896–903.
- [25] Rainville P, Carrier B, Hofbauer R, Bushnell M, Duncan G. Dissociation of sensory and affective dimensions of pain using hypnotic modulation. *Pain* 1999;82:159–71.
- [26] Salomons T, Johnstone T, Backonja M, Davidson R. Perceived controllability modulates the neural response to pain. *J Neurosci* 2004;24:7199–203.
- [27] Sawamoto N, Honda M, Okada T, Hanakawa T, Kanda M, Fukuyama H, Konishi J, Shibasaki H. Expectation of pain enhances responses to nonpainful somatosensory stimulation in the anterior cingulate cortex and parietal operculum/posterior insula: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 2000;20:7438–45.
- [28] Thorn B, Hansell P. Goals for coping with pain mitigate time distortion. *Am J Psychol* 1993;106:211–25.
- [29] Tipples J. Negative emotionality influences the effects of emotion on time perception. *Emotion* 2008;8:127–31.
- [30] Tse P, Intriligator J, Rivest J, Cavanagh P. Attention and the subjective expansion of time. *Percept Psychophys* 2004;66:1171–89.
- [31] Valet M, Sprenger T, Boecker H, Willloch F, Rummey E, Conrad B, Erhard P, Tolle TR. Distraction modulates connectivity of the cingulo-frontal cortex and the midbrain during pain—an fMRI analysis. *Pain* 2004;109:399–408.
- [32] Van Damme S, Legrain V, Vogt J, Crombez G. Keeping pain in mind: a motivational account of attention to pain. *Neurosci Biobehav Rev* 2010;34:204–13.
- [33] Van Wassenhove V, Buonomano DV, Shimojo S, Shams L. Distortions of subjective time perception within and across senses. *PLoS One* 2008;3:e1437.
- [34] Xuan B, Zhang D, He S, Chen X. Larger stimuli are judged to last longer. *J Vision* 2007;7:1–5.

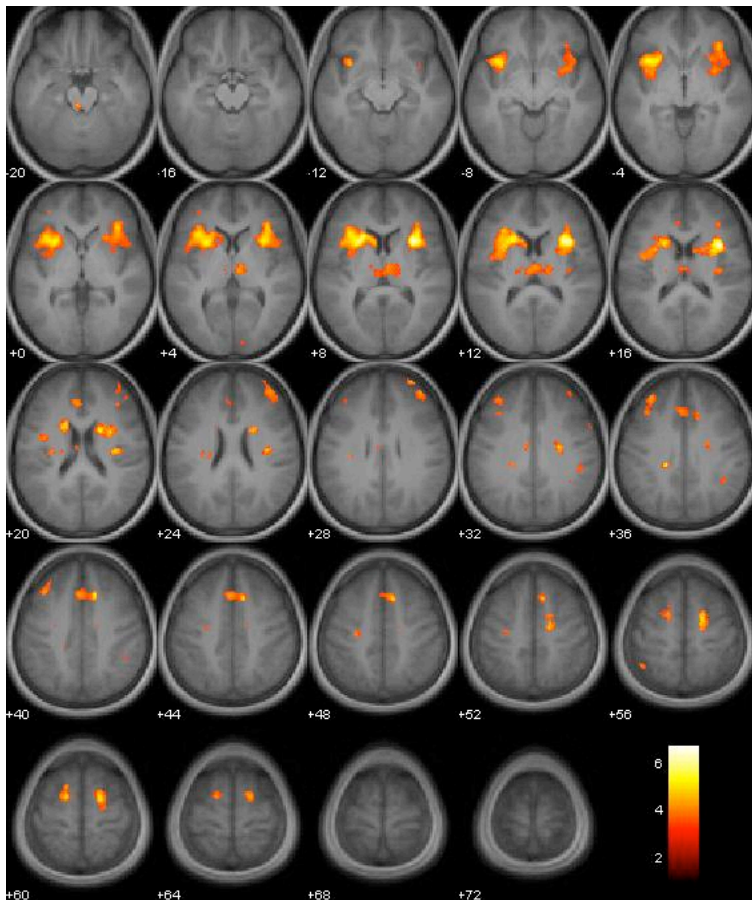
7.2 Annexe 3 – Résultats analyse random GLM

Résultats de l'analyse random : « Effet d'un leurre de la durée de stimulation », sur 24 sujets
(seuil : $p < 0.001$ non-corrigé)

Stimulation bimodale :



Modulation par l'intensité de stimulation (forte > modérée) :



Modulation par l'illusion de la durée de stimulation (longue > courte) :

