



HAL
open science

**Effet de l'anticipation sur les phénomènes douloureux
liés à la distension rectale chez des patients ayant une
maladie de Crohn en rémission : étude en IRM
fonctionnelle**

Amandine Rubio

► **To cite this version:**

Amandine Rubio. Effet de l'anticipation sur les phénomènes douloureux liés à la distension rectale chez des patients ayant une maladie de Crohn en rémission : étude en IRM fonctionnelle. Neurobiologie. Université de Grenoble, 2014. Français. NNT : 2014GRENV012 . tel-01555600

HAL Id: tel-01555600

<https://theses.hal.science/tel-01555600>

Submitted on 4 Jul 2017

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

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Neurosciences - neurobiologie**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Amandine RUBIO

Thèse dirigée par **Bruno BONAZ**

Préparée au sein du **Laboratoire Stress et interactions Neuro-Digestives (Grenoble Institut des Neurosciences, INSERM U836)**
Dans l'**École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

Effet de l'anticipation sur les phénomènes douloureux liés à la distension rectale chez des patients ayant une maladie de Crohn en rémission : étude IRM fonctionnelle

Thèse soutenue publiquement le **16 juin 2014**

Devant le jury composé de :

M Lukas VAN OUDENHOVE

PUPH, Psychiatrie et Centre Recherche Translationnelle sur les Pathologies Digestives, Université de Louvain, Belgique (Président)

M Philippe DUCROTTE

PUPH, CHU Hépatogastroentérologie, Rouen (Rapporteur)

M Thierry PICHE

PUPH, CHU Hépatogastroentérologie, Nice (Rapporteur)

Mme Chantal DELON-MARTIN

PhD, GIN, Grenoble (Membre)

Mme Sonia PELLISSIER

MCU-HDR, Université de Savoie Psychologie, Chambéry et GIN, Grenoble (Membre)

M Bruno BONAZ

PU-PH, CHU Hépatogastroentérologie et GIN, Grenoble (Directeur de thèse)



“It is not the most intellectual of the species that survives;
it is not the strongest that survives; but the species that survives is the
one that is best able to adapt and adjust to the
changing environment in which it finds itself.”

Darwin, Origin of Species

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier tout particulièrement,

Le **Professeur Bruno Bonaz**, Directeur de Recherche de l'équipe 8 du Grenoble Institut des Neurosciences et Gastroentérologue au CHU de Grenoble, pour m'avoir accueillie à Grenoble et au sein de son équipe Stress et Interactions Neurodigestives, pour avoir dirigé cette thèse et pour la confiance qu'il m'a témoignée.

Le **Docteur Sonia Pellissier**, pour ton soutien et tes conseils, ta disponibilité. Ton calme, ta sérénité et ton entrain sont un véritable exemple pour moi. Sans toi, ce travail n'aurait pas pu se faire.

Le **Docteur Chantal Delon-Martin**, pour ta disponibilité, ton aide, ta bonne humeur, ton enthousiasme. Ce travail s'est aussi fait grâce à toi.

Le **Professeur Lukas Van Oudenhove** pour son aide et sa disponibilité dans la mise en place de ce travail, pour le prêt du barostat. Merci également de me faire l'honneur d'examiner ce travail.

J'adresse également mes remerciements aux membres du jury,

Aux **Professeurs Philippe Ducrotté et Thierry Piche** qui me font l'honneur de juger ce travail en qualité de rapporteur. Veuillez trouver dans ce travail mes sincères remerciements.

Le **Docteur Giau Huyng Li** pour son aide dans la mise en place du travail sur le barostat.

Les **Docteurs Valérie Sinniger, Chloé Picq et Didier Clarençon**, pour leur sympathie, leur bonne humeur, leur soutien moral, leurs encouragements. Ca a toujours été un plaisir de vous retrouver dans le bureau lors de mes journées de travail au GIN.

Les **Docteurs Irène Tropès et Laurent Lamalle** de la plateforme d'imagerie 3T pour leur disponibilité et leur réactivité au cours des (nombreux) problèmes techniques survenus au cours des séances d'IRM.

Le **Professeur Patrick Levy** de m'avoir accueillie en tant qu'Assistante Hospitalo-Universitaire au sein de son équipe de Physiologie pendant 4 ans, et pour la confiance et le soutien qu'il m'a témoignés, et qui m'ont permis d'initier ce travail.

J'adresse un grand merci également à Maelys et Nadège pour leur amitié, leur soutien moral et leur aide avec l'activité clinique qui m'a permis d'achever ce travail.

RESUME

La maladie de Crohn est caractérisée par l'alternance de phases de rémission et de poussées d'inflammation intestinale, de survenue imprévisible. L'objectif de la thèse était d'étudier l'effet, en terme d'activité cérébrale (IRMf), de l'incertitude dans l'anticipation de la survenue d'une douleur viscérale dans la MC en rémission.

Les résultats majeurs montrent que dans la MC, cette phase est associée à une hyperactivation significative, par rapport au sujet sain, du cortex cingulaire antérieur et postérieur, de l'insula, du thalamus et de l'amygdale. Il s'agit de régions clés dans la gestion sensorielle, cognitive et émotionnelle de la douleur.

En conclusion, la MC est associée à une hyperréactivité cérébrale liée au caractère incertain de la survenue d'une douleur viscérale. Ceci peut expliquer une plus grande vulnérabilité des patients face aux effets du stress sur leurs symptômes et le cours de leur maladie et l'efficacité des thérapies cognitivo-comportementales.

THESIS TITLE

**Effect of anticipation on
visceral pain induced by rectal
distension in quiescent Crohn's
disease: a fMRI study**

SUMMARY

Crohn's disease (CD) is a chronic recurring inflammatory bowel disease, with unpredictable recurrence of flares; this unpredictability leads to great anticipatory anxiety and stress. The aim of this thesis was to study the effect, in terms of brain activity (fMRI), of uncertainty in the anticipation of visceral pain in quiescent CD.

Le main results show that in CD, uncertainty is associated with hyperactivity in the anterior and posterior cingulate cortex, insula, thalamus and amygdala. These are key regions in the regulation of sensory, cognitive and emotional aspects of pain.

In conclusion, CD comprises excessive cerebral reactivity linked to the uncertain character of the occurrence of visceral pain. This might account for the greater vulnerability of CD patients towards the effects of stress on their symptoms and the course of their disease, as well as the efficacy of behavioral therapies that aim at modifying the activity of limbic structures.

MOTS CLES

Anticipation – Anxiété – Cortex cingulaire antérieur – Dépression – Distension rectale – Douleur viscérale – Incertitude – IRMf – Maladie de Crohn – Nerf vague – Stress – Système nerveux autonome

KEY WORDS

Anticipation – Anxiety – Anterior cingulate cortex – Autonomic nervous system – Crohn's disease – Depression – fMRI – Rectal distension – Stress – Visceral pain – Vagus nerve – Uncertainty

SYNTHESE DES TRAVAUX

Introduction : Dans la maladie de Crohn (MC), le caractère incertain et non prédictible de la survenue d'une crise douloureuse ou d'une rechute inflammatoire peut induire une appréhension et une anxiété anticipatrice à l'origine d'une amplification des symptômes et/ou du stress perçu par ces patients. Le stress et les états psychologiques (dépression, anxiété) ont une place importante dans la pathogénie de la MC, et dans la perception des phénomènes douloureux. Des anomalies de la sensibilité viscérale ainsi qu'une dysautonomie ont été mises en évidence dans cette maladie.

L'effet de l'anticipation d'une douleur viscérale n'a jamais été étudié chez les patients ayant une MC en rémission, de même que l'impact des états psychologiques et du système nerveux autonome (SNA) au cours de l'anticipation incertaine de la survenue d'une douleur viscérale.

Objectifs : Nous avons recherché si des patients ayant une MC en rémission, par rapport à des sujets volontaires sains, présentaient: i) une modification de la sensibilité viscérale mesurée au niveau rectal et si celle-ci était corrélée à une dysautonomie et/ou à une dépression/anxiété ; ii) des différences d'activité cérébrale au cours de l'anticipation certaine et incertaine d'une douleur viscérale induite par distension d'un ballonnet intra-rectal. Enfin nous avons cherché des corrélations entre l'activité de ces régions cérébrales, les modifications du tonus vagal et les variables psychologiques.

Méthodologie : Onze patients avec MC en rémission et quinze volontaires sains ont été inclus. Le seuil de distension rectal retenu pour les sessions d'IRMf était le volume provoquant un inconfort d'au moins 70% et la survenue d'une douleur rectale. La session d'IRMf consistait en 6 séries fonctionnelles de 12 essais chacune. Chaque essai comprenait une période d'anticipation certaine ou incertaine de la survenue ou non d'une distension, la distension rectale éventuelle et une période de cotation. Les images ont été acquises sur un scanner 3.0 Tesla. Le traitement des images obtenues reposait sur l'analyse de la différence moyenne de signal entre les différentes conditions. La composante basse fréquence de la variabilité cardiaque (LF-HRV) a été insérée en tant que régresseur dans le modèle d'analyse des données d'IRMf (modèle LF-HRV). L'impact

de l'activité autonome a été ainsi évalué en comparant le signal dans le modèle LF-HRV versus standard au cours des différentes conditions d'anticipation et de distension.

Résultats : Les patients avec MC en rémission avaient une hyposensibilité à la distension rectale, associée à une baisse du tonus vagal et de la réactivité sympathique.

Chez les sujets contrôles, nous avons mis en évidence en IRMf : 1) une activation unique du cortex cingulaire antérieur sub-génual (sgACC) lors de l'incertitude, corrélée à l'anxiété liée à la douleur du sujet ; 2) l'activation du sgACC et du cortex préfrontal médian, et la désactivation de l'amygdale, l'insula, le thalamus, l'aire somatosensorielle secondaire (S2), l'aire motrice accessoire et le cervelet lors de l'anticipation incertaine d'une distension ; 3) la désactivation des régions de la « matrice de la douleur » au cours de l'anticipation certaine d'une distension. Enfin, à l'aide du modèle LF-HRV, nous avons montré que la quasi-totalité de l'activité cérébrale lors de l'anticipation des distensions rectales était liée à l'activité du système nerveux autonome (SNA).

Chez les patients, dans le « modèle LF-HRV », nous avons mis en évidence en IRMf : 1) une activation de la région antérieure de l'ACC (aACC), inversement corrélée au volume de distension rectale, et une activation du cortex cingulaire postérieur (PCC) inversement corrélée à l'index de sensibilité viscérale au cours de l'incertitude pure ; par ailleurs, dans cette condition, les patients présentaient une activation significativement plus importante que les contrôles au niveau de l'aACC, du PCC, de l'insula antérieure et ventrale, du thalamus et de l'amygdale, et une activation significativement moins importante au niveau du sgACC ; 2) une désactivation, au cours de l'anticipation incertaine d'une distension, de l'operculum et de l'aACC, proportionnelle à l'ancienneté de la maladie, avec une activation significativement plus importante que les contrôles au niveau du thalamus et significativement moins importante au niveau du sgACC ; 3) l'absence d'activation/désactivation significative au niveau du groupe au cours de l'anticipation certaine d'une distension. L'analyse différentielle de l'effet de l'incertitude sur la perception de la distension a montré une activation significativement plus importante au niveau de l'insula, du thalamus et du PCC chez les patients que chez les contrôles.

Discussion et conclusion : La MC est associée à une modification de l'activité cérébrale, à type d'hyperactivation, dans le contexte d'anticipation incertaine de la

survenue d'une douleur viscérale. Ces hyperactivations, qui sont pour partie corrélées à l'ancienneté de la maladie chez les patients, concernent en particulier des régions impliquées dans la gestion sensorielle, cognitive et émotionnelle de la douleur et dans l'analyse de situations de danger potentiel (cortex cingulaire, préfrontal et insulaire, thalamus et amygdale notamment). Elles font également partie du réseau autonome central régulant l'activité du SNA que nous avons trouvé très perturbée chez nos patients. L'ensemble de ces modifications pourrait ainsi expliquer la vulnérabilité des patients de MC face aux effets du stress sur leurs symptômes et sur le cours de leur maladie. De plus, nos résultats peuvent contribuer à expliquer l'efficacité des thérapies cognitivo-comportementales dans la MC, qui agissent par le biais de la modification de l'activité des structures limbiques et participent à rétablir l'équilibre de la balance sympatho-vagale.

Ce travail a fait l'objet des communications suivantes :

Publications

Acceptée:

- **Rubio A**, Pellissier S, Picot A, Dantzer C, Bonaz B. The link between negative affect, vagal tone and visceral sensitivity in inactive Crohn's disease. *Neurogastroenterology* 2014;26(8):1200-3.

En cours de révision favorable :

- **Rubio A**, Van Oudenhove L, Pellissier S, Ly HG, Dupont P, Tack J, Dantzer C, Delon-Martin C, Bonaz B. Uncertainty in anticipation of uncomfortable rectal distension is modulated by the autonomic nervous system – a fMRI study in healthy volunteers. Version corrigée soumise à Neuroimage le 27/08/2014

En cours de rédaction :

- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Ly HG, Dupont P, Tack J, Dantzer C, Van Oudenhove L, Bonaz B. Uncertainty in anticipation of visceral pain in Crohn's disease – a fMRI study
En cours de rédaction pour soumission à Gut

Communications orales

- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Mathieu N, Huynh GL, VanOudenhove L, Tack J, Bonaz B. Effet différentiel de l'anticipation incertaine versus certaine de la douleur viscérale dans la maladie de Crohn – étude IRMf. Congrès du Groupe Français de Neuro Gastroentérologie. Grenoble 20 21 juin 2013

Communications affichées

- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Tack J, VanOudenhove L, Bonaz B. Uncertainty in anticipation of visceral pain is modulated by the autonomic nervous system and behavior – a fMRI study. Digestive Disease Week. Chicago 3-6 mai 2014
- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Tack J, VanOudenhove L, Bonaz B. Effet différentiel de l'anticipation incertaine *versus* certaine de la douleur viscérale dans la

maladie de Crohn - étude IRMf. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive. Paris 20-23 mars 2014

- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Tack J, VanOudenhove L, Bonaz B. Differential effect of uncertain versus certain anticipation of visceral pain in healthy subjects – a fMRI study. Digestive Disease Week. Orlando 18-21 mai 2013

- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Tack J, VanOudenhove L, Bonaz B. Effet différentiel de l'anticipation incertaine *versus* certaine de la douleur viscérale chez le volontaire sain - étude IRMf. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive. Paris 21-24 mars 2013

- **Rubio A**, Delon-Martin C, Pellissier S, Tack J, VanOudenhove L, Bonaz B. Effet différentiel de l'anticipation incertaine *versus* certaine de la douleur viscérale chez le volontaire sain - étude IRMf. Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive. Paris 15-18 mars 2012

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX.....	18
ABREVIATIONS.....	20
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	22
DOULEUR : BASES PHYSIOLOGIQUES	23
<i>Définition.....</i>	23
<i>Bases neuro-anatomiques de la sensibilité.....</i>	25
Les récepteurs sensitifs.....	25
Les fibres nerveuses afférentes primaires	25
Le relais médullaire et les contrôles médullaires inhibiteurs/activateurs	26
Les faisceaux ascendants	29
Intégration de la douleur au niveau cérébral et contrôles supra-spinaux	33
Les contrôles inhibiteurs descendants supraspinaux.....	34
Les contrôles inhibiteurs descendants déclenchés par stimulations nociceptives (CIDN) ...	34
Les contrôles descendants d'origine supraspinale déclenchés par stimulations cérébrales	35
<i>La sensibilité viscérale et le système nerveux entérique</i>	36
Les récepteurs sensitifs du TD et faisceaux ascendants	37
<i>La douleur viscérale chronique.....</i>	38
Anticipation de la douleur	40
Anticipation certaine	40
Anticipation incertaine	41
L'hypervigilance.....	42
Catastrophisme de la douleur	43
INTERACTIONS CERVEAU-TUBE DIGESTIF	45
<i>Le système nerveux autonome.....</i>	45
Le système nerveux autonome sympathique (SNAs).....	46
Le système nerveux autonome parasympathique (SNAp).....	47
Intégration centrale des informations digestives transmises via le SNA.....	52
La voie anti-inflammatoire cholinergique.....	53
Le réseau autonome central	55
La variabilité du rythme cardiaque	58
MALADIE DE CROHN.....	64
<i>Épidémiologie.....</i>	64
<i>Étiologie de la MC.....</i>	69
Facteurs génétiques	69
Facteurs environnementaux	69

Le tabac.....	70
Les agents infectieux	70
Les facteurs alimentaires	71
Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens	71
Les contraceptifs oraux	72
Les facteurs socio-économiques et niveau d'exercice physique	72
Le stress et les facteurs psychologiques	72
Symptomatologie.....	73
Traitement et rémission dans la MC.....	73
Thérapies médico-chirurgicales conventionnelles	73
Thérapies comportementales et cognitives.....	74
Sensibilité viscérale dans la MC.....	75
Influence des facteurs affectifs et cognitifs dans la MC.....	75
Effet du stress dans la maladie de Crohn.....	76
Atteinte des SNE et SNA dans la MC.....	82
Anomalies structurelles et fonctionnelles du SNE.....	82
Dysautonomie dans la MC	86
PRINCIPES DE L'IRM FONCTIONNELLE.....	88
<i>La technique d'IRM.....</i>	88
<i>L'IRM fonctionnelle (IRMf)</i>	88
OBJECTIFS DE LA THESE.....	90
<i>Lien entre affects négatifs, tonus vagal et sensibilité rectale dans la MC en rémission .</i>	<i>91</i>
<i>Effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une douleur viscérale chez le sujet volontaire sain et rôle du SNA.....</i>	<i>91</i>
<i>Effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une douleur viscérale chez le patient ayant une MC en rémission par rapport au sujet contrôle.....</i>	<i>91</i>
METHODOLOGIE	93
PATIENTS	94
SUJETS VOLONTAIRES SAINS.....	96
PROTOCOLE EXPERIMENTAL	98
<i>Session d'IRMf de repos et structurelle.....</i>	<i>98</i>
<i>Etude de la variabilité cardiaque (HRV)</i>	<i>99</i>
<i>Tests psychologiques</i>	<i>99</i>
<i>Détermination du seuil de distension rectale.....</i>	<i>100</i>
<i>Réactivité électrodermale</i>	<i>101</i>
<i>Session d'IRMf d'activation.....</i>	<i>102</i>
<i>Acquisition des données physiologiques.....</i>	<i>105</i>

<i>Analyse de l'HRV mesurée au cours de l'IRMf d'activation</i>	105
<i>Analyse individuelle des données IRMf</i>	107
<i>Evaluation de l'impact des caractéristiques psychologiques</i>	108
<i>Analyse statistique de groupe</i>	108
<i>Analyse par régions d'intérêt</i>	110
RESULTATS	114
LIEN ENTRE AFFECTS NEGATIFS, TONUS VAGAL ET SENSIBILITE RECTALE DANS LA MC EN REMISSION	115
<i>Article "The link between negative affect, vagal tone and visceral sensitivity in inactive Crohn's disease"</i>	118
MODULATION PAR LE SYSTEME NERVEUX AUTONOME DE L'EFFET DE L'INCERTITUDE DANS L'ANTICIPATION D'UNE DISTENSION RECTALE CHEZ LE SUJET SAIN	126
<i>Article "Uncertainty in anticipation of uncomfortable rectal distension is modulated by the autonomic nervous system – a fMRI study in healthy volunteers"</i>	129
EFFET DE L'INCERTITUDE DANS L'ANTICIPATION D'UNE DOULEUR VISCERALE CHEZ LE PATIENT AYANT UNE MC EN REMISSION PAR RAPPORT AU SUJET SAIN	177
<i>Article "Uncertain anticipation of visceral pain in quiescent Crohn's disease – a fMRI study"</i>	180
DISCUSSION GENERALE	220
PERSPECTIVES	224
CONCLUSION	226
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	228

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

FIGURES

Figure 1 : Lames I-X de matière grise des cornes dorsales et ventrales de la moelle épinière	27
Figure 2 : Distribution des fibres afférentes primaires dans la corne postérieure de la moelle.	27
Figure 3 : Le « contrôle de la porte »	29
Figure 4 : Les faisceaux ascendants spino-thalamiques ou extra-lemnisciaux de la douleur .	31
Figure 5 : Origine et trajet de la voie cordonale postérieure ou lémniscale	32
Figure 6 : Connectivité et voies afférentes des régions de la « matrice douleur »	34
Figure 7 : Les contrôles inhibiteurs descendants supraspinaux.	35
Figure 8 : Coupe transversale du TD permettant de voir le SNE	36
Figure 9 : Apparition et auto entretien de l'hypervigilance dans la douleur	43
Figure 10 : Organisation de l'innervation du système nerveux sympathique et parasymphatique.....	49
Figure 11 : Anatomie de l'innervation du système nerveux sympathique et parasymphatique	50
Figure 12 : Médiateurs du SNAs et du SNAp.....	51
Figure 13 : La voie anti-inflammatoire cholinergique.....	54
Figure 14 : Régions cérébrales impliquées dans réseau autonome central	56
Figure 15 : Interconnexions du réseau autonome central	57
Figure 16 : Analyse temporelle et fréquentielle de la variabilité cardiaque.	60
Figure 17 : Analyse non linéaire de la variabilité cardiaque	61
Figure 18 : Boucle de rétrocontrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien	63
Figure 19 : Augmentation de l'incidence mondiale de la MC.....	66
Figure 20 : Incidence et prévalence mondiale combinées de la MC	67
Figure 21 : Incidence de la MC en Europe dans les années 2000	68
Figure 22 : Effets combinés des axes HHS et HSNA sur l'inflammation intestinale dans la MC	80
Figure 23 : Neural pathway of immunomodulation.....	81
Figure 24 : Hypertrophie des fibres nerveuses sous-muqueuses dans la MC.....	84
Figure 25 : Lésions axonales dans la MC.....	84
Figure 26 : Représentation schématique des altérations des SNE et SNA dans les MICI.....	85
Figure 27 : Neurostimulation vagale.	87
Figure 28 : Schéma des examens et des visites du protocole expérimental.	98
Figure 29 : Installation de l'IRMf d'activation.....	103
Figure 30 : Schéma d'un essai	104
Figure 31 : ROI sur l'insula gauche	112
Figure 32 : ROI sur le cortex cingulaire, l'hypothalamus et la substance grise périaqueducale.....	112
Figure 33 : ROI sur le thalamus, l'hypothalamus et l'amygdale gauches	113
Figure 34 : ROI sur le S2/operculum, vINS et pulvinar gauches	113

TABLEAUX

Tableau 1 : Anomalies structurelles du SNE dans la MC en microscopie électronique.	83
Tableau 2 : Coordonnées des ROIs	111

ABREVIATIONS

ACh	Acétylcholine
ACTH	Adrenocorticotrope Hormone
BA	Brodman Area (aire de Brodman)
CAN	Central Autonomic Network (Réseau autonome central)
CIDN nociceptives	Contrôles inhibiteurs descendants déclenchés par stimulations
CRF	Corticotropin Releasing Factor
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
HF	High Frequency (composante haute fréquence de la HRV)
HHS	Hypothalamo-hypophyso-surrénalien
HRV	Heart Rate Variability (variabilité du rythme cardiaque)
HSNA	Hypothalamo-système nerveux autonome
LF	Low Frequency (composante basse fréquence de la HRV)
MC	Maladie de Crohn
MICI	Maladie inflammatoire chronique intestinale
RCH	Rectocolite hémorragique
ROI	Region of interest (Région d'intérêt)
SG	Substance grise
SII	Syndrome de l'intestin irritable
SNA	Système nerveux autonome
SNAP	Système nerveux parasympathique
SNC	Système nerveux central
SNE	Système nerveux entérique
SNP	Système nerveux périphérique
SNAs	Système nerveux autonome sympathique
TC	Tronc cérébral
TD	Tractus digestif
TFI	Trouble fonctionnel intestinal
VLF	Very Low Frequency (composante très basse fréquence de la HRV)
X	Nerf vague

REGIONS CEREBRALES

INS	Insula
S1	Primary Somesthetic area (aire somatosensorielle primaire)
S2	Secondary Somesthetic area (aire somatosensorielle secondaire)
PAG	Periaqueductal Gray matter (substance grise périaqueducule)
PFC	PreFrontal Cortex (Cortex préfrontal)
dIPFC	Dorso-lateral Prefrontal Cortex (Cortex préfrontal dorso-latéral)
mPFC	Medial Prefrontal Cortex (Cortex préfrontal médian)
SMA	Supplementary Motor Area (Aire Motrice Accessoire)

Thal	Thalamus
VPLN	Ventral Posterior Lateral Nucleus (Noyau thalamique ventro-postéro-latéral)
VPMN	Ventral Posterior Medial Nucleus (Noyau thalamique ventro-postéro-médian)
CC	Cingulate Cortex (Cortex cingulaire)
ACC	Anterior Cingulate Cortex (Cortex cingulaire antérieur)
pACC	Pregenua Anterior Cingulate Cortex (Cortex cingulaire antérieur pré-génua)
sgACC	Subgenua Anterior Cingulate Cortex (Cortex cingulaire antérieur sous-génua)
MCC	Middle Cingulate Cortex
PCC	Posterior Cingulate Cortex

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Douleur : bases physiologiques

Définition

La perception de la douleur émerge d'un système sensoriel chargé d'une fonction spécifique : la conservation de l'intégrité corporelle ou homéostasie. La nociception peut être considérée comme un système d'alarme qui protège l'organisme ; elle déclenche des réponses réflexes et comportementales dont la finalité est d'en supprimer la cause et par conséquent d'en limiter les conséquences.

La douleur est une manifestation totalement subjective, et sa définition est de ce fait difficile. L'association internationale pour l'étude de la douleur (IASP) a proposé en 1979 la définition suivante : « *La douleur est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite dans des termes impliquant une telle lésion* ». Cette définition évite de lier étroitement la douleur à son seul stimulus nocif causal. Elle souligne également l'intrication étroite existant entre l'organicité d'une douleur et ses conséquences émotionnelles et affectives sur les réactions individuelles de chaque patient. En effet, une même agression, provoquant la même lésion anatomique apparente, peut entraîner des sensations et des conséquences fonctionnelles tout à fait différentes chez deux sujets distincts. Par ailleurs, un même individu ne réagit pas toujours de manière univoque à la douleur. Son seuil de tolérance à la douleur peut varier en fonction des circonstances de sa vie et du contexte dans lequel celle-ci survient.

Il est actuellement parfaitement admis qu'une douleur a une double dimension : sensorielle et psychologique. La dimension sensorielle représente la composante neurologique à l'origine de la sensation douloureuse. Le cerveau possède ainsi une fonction discriminative lui permettant de distinguer avec la plus grande précision l'intensité de la douleur, la nature de l'agression, sa durée et sa localisation. La dimension psychologique est quant à elle une véritable variante individuelle. Elle représente la

réponse affective-émotionnelle, cognitive ou comportementale à une agression douloureuse.

Bases neuro-anatomiques de la sensibilité

Les récepteurs sensitifs

En dehors des corpuscules de Paccini, les récepteurs sensitifs (ou nocicepteurs), qu'ils soient cutanés, articulaires, musculaires ou viscéraux, se présentent sous la forme de terminaisons nerveuses libres. Les nocicepteurs peuvent être de trois types : i) des récepteurs unimodaux purs qui ne sont activés que par des stimulations mécaniques intenses; ii) des récepteurs polymodaux, de loin les plus nombreux, répondant à des stimulations mécaniques, thermiques ($t^{\circ} \geq 42^{\circ}\text{C}$) ou chimiques (substances algogènes) et iii) des récepteurs silencieux qui ne sont recrutés qu'après une sensibilisation, par exemple lors des processus inflammatoires chroniques. La répétition d'un stimulus provoque une sensibilisation des récepteurs entraînant un abaissement de leur seuil de dépolarisation et une amplification de leurs réponses.

Les fibres nerveuses afférentes primaires

Après activation des nocicepteurs, le message est véhiculé jusqu'à la corne postérieure de la moelle par des fibres nerveuses. Chaque fibre est le prolongement principal, ou axone, du premier neurone ou « protoneurone » dont le corps cellulaire est situé dans le ganglion spinal ou le ganglion trigéminal de Gasser et dont le prolongement est dans le tissu périphérique (peau, muscle, articulation, viscère). Les fibres sensibles ne sont pas uniformes ; elles propagent le signal sensoriel à des vitesses de conduction différentes, proportionnelles à leur diamètre et à l'épaisseur de leur gaine de myéline (Mackenzie et al., 1975).

La sensation douloureuse résulte de la mise en jeu de fibres à conduction lente : les fibres A δ et C. Les fibres A δ , faiblement myélinisées (vitesse de conduction de 5 à 30 m/s), transmettent électivement les messages provenant des nocicepteurs unimodaux. Elles sont responsables de la perception douloureuse aiguë, localisée et précise à type de piquûre et que l'on désigne sous le terme de douleur rapide ou primaire. Les fibres C, de petit calibre et non myélinisées, ont une vitesse de conduction de 0,4 à 2 m/s et sont responsables de la douleur retardée, plus diffuse et prolongée, à tendance extensive, à type de brûlure, que l'on désigne sous le terme de douleur lente ou tardive ou secondaire.

Ces fibres transmettent les messages des récepteurs polymodaux et silencieux (Basbaum and Jessell, 2000). Ce sont les plus nombreuses puisqu'elles constituent 60 à 90% de l'ensemble des fibres afférentes cutanées et la quasi-totalité des fibres afférentes viscérales.

Les afférences primaires fortement myélinisées (fibres $A\alpha\beta$, vitesse 30 à 120 m/s) répondent aux stimulations mécaniques modérées, comme le tact ou le toucher, mais ne répondent pas aux stimulations nociceptives.

Le relais médullaire et les contrôles médullaires inhibiteurs/activateurs

Les fibres afférentes primaires rejoignent la corne dorsale de la moelle épinière. Les fibres $A\delta$ et C se terminent dans les lames superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière (lames I, II et V) (Figures 1 et 2). Elles font relais avec des neurones nociceptifs spécifiques ne véhiculant que des stimuli douloureux (Christensen and Perl, 1970). Elles envoient également des collatérales aux étages médullaires sus et sous-jacents, réalisant un recouvrement important entre des territoires différents. Les fibres C provenant des structures viscérales vont se projeter sur des lames profondes (V-VII et X) et faire relais avec des neurones nociceptifs non spécifiques, appelés aussi « neurones convergents », pouvant véhiculer à la fois des stimuli douloureux et non douloureux. Les grosses fibres tactiles $A\alpha\beta$ vont rejoindre les noyaux de Goll et Burdach par les cordons postérieurs (sensibilité tactile et proprioceptive). Ainsi, les neurones convergents de la lame V reçoivent des afférences de toutes les catégories de fibres avec des informations d'origine cutanée, musculaire, articulaire ou viscérale. Cette convergence des afférences sensibles de provenance variée (peau, muscle ou viscères) sur les neurones convergents spinothalamiques de la corne postérieure, qui transportent jusqu'au cerveau des influx d'origine topographique diverse et de qualité différente (nociceptif ou non), est le support des douleurs projetées (Milne et al., 1981).

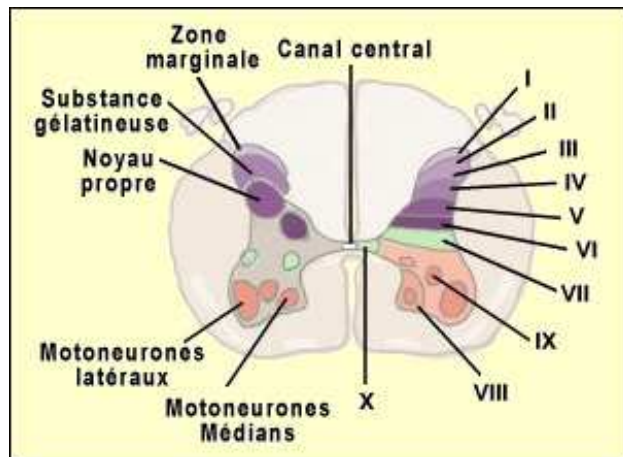


Figure 1 : Lames I-X de matière grise des cornes dorsales et ventrales de la moelle épinière. La corne dorsale, dans laquelle se fait le premier relais des voies nociceptives, comprend les couches I à VII. La corne ventrale comprend les motoneurones des lames VIII et X. La lame X ou lame centrale péri-épendymaire, est également le site de relais des voies nociceptives, d'origine viscérale.

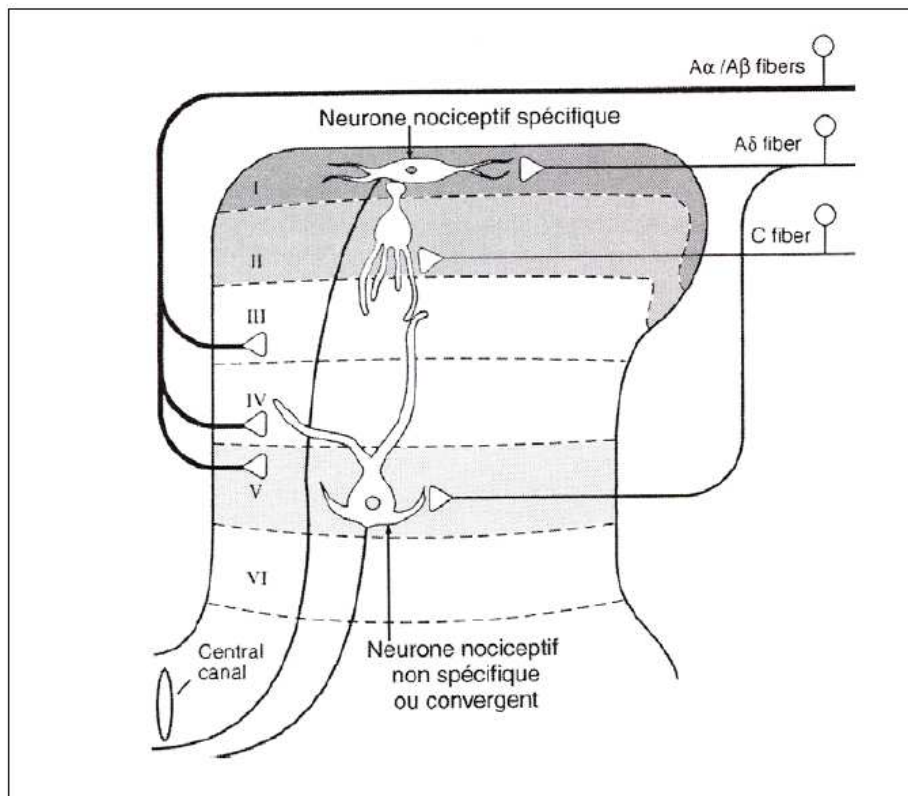


Figure 2 : Distribution des fibres afférentes primaires dans la corne postérieure de la moelle. D'après (Guirimand and Le Bars, 1996)

La transmission de l'information douloureuse peut être modulée négativement par deux systèmes : le contrôle de la porte (« gate theory of pain » de Melzack et Wall (Melzack and Wall, 1965) (Figure 3) et le système opioïde. Le contrôle de la porte fait référence à l'activation d'interneurones qui vont inhiber la transmission des influx nociceptifs vers les neurones à convergence des couches profondes de la corne dorsale. L'activité des fibres tactiles A α afférentes augmente l'activité des interneurones inhibiteurs et « ferme la porte de la douleur », inhibant ainsi la transmission vers les neurones convergents. Ces mécanismes segmentaires peuvent être également contrôlés par des influences supraspinales. En thérapeutique, le contrôle de la porte est le support de l'utilisation de la neurostimulation transcutanée et cordonale (stimulation électrique de la corne postérieure de la moelle épinière) à visée antalgique dans les douleurs chroniques rebelles. Par ailleurs, la corne dorsale de la moelle est riche en récepteurs pré- et postsynaptiques aux opioïdes (Ruda, 1982). Les endorphines, opioïdes endogènes largement distribuées dans les structures cérébrales impliquées dans la nociception et au niveau de la corne dorsale de la moelle, peuvent ainsi bloquer les réponses aux stimuli nociceptifs.

Au niveau de la corne médullaire, la transmission de l'information douloureuse peut également être modulée positivement. Différents peptides (substance P, peptide lié au gène de la calcitonine, somatostatine, cholecystokinine, neurokinine A...) ont été reconnus pour avoir une action pro-algique et anti-opioïde. Ceux-ci sont présents dans le système nerveux central (SNC), et leur distribution est à peu près superposable à celle des récepteurs opioïdes et des endorphines.

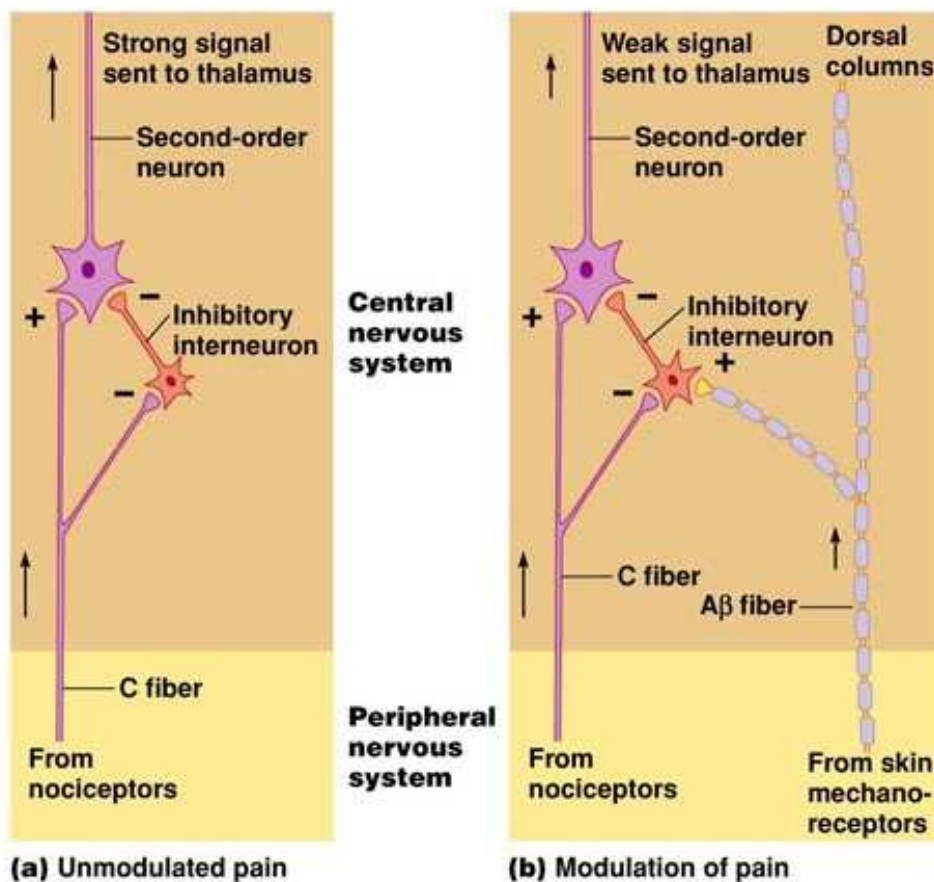


Figure 3 : Le « contrôle de la porte »

a) Douleur non modulée. B) Modulation de la douleur par l'activité des fibres tactiles A α β afférentes augmentant l'activité des interneurons inhibiteurs. D'après (Dickenson, 2002)

Les faisceaux ascendants

La majeure partie des messages nociceptifs croise la ligne médiane par la commissure grise antérieure après leur relais avec les neurones de la corne postérieure. Deux voies ascendantes sont impliquées dans la transmission à l'étage supra-spinal de la douleur :

- La voie spino-thalamique (Figure 4) ou extra-lemniscale, antéro-latérale, elle-même constituée de 2 faisceaux :
 - Le faisceau néo-spino-thalamique (il s'agit de la voie nociceptive la plus récente d'un point de vue évolutif) qui chemine au niveau du cordon antéro-latéral de la moelle controlatérale ou homolatérale (Tasker, 1982). Les fibres du faisceau néo-

spino-thalamique sont des fibres A δ , et se projettent avec une somatotopie précise dans le noyau ventropostéro-latéral (NVPL) du thalamus contenant le corps du troisième neurone de la voie nociceptive qui, à son tour, envoie des projections sur la partie inféro-latérale du gyrus postcentral et sur le cortex insulaire. Ce faisceau est notamment impliqué dans l'analyse sensori-discriminative du stimulus nocif (localisation, type et intensité).

- Le faisceau spino-réticulo-thalamique (ou paléo-spino-réticulo-thalamique car plus ancien d'un point de vue évolutif) (Fields et al., 1974) composé de petites fibres à conduction lente et multisynaptiques. Cette voie, sans organisation somatotopique, chemine également au niveau du cordon antéro-latéral de la moelle. Elle se projette largement sur la formation réticulée à tous les niveaux du tronc cérébral, contribuant ainsi à deux phénomènes importants : d'abord l'éveil général du SNC par le système réticulaire ascendant ; ensuite, l'activation de certains noyaux du tronc cérébral qui sont à l'origine des voies descendantes du contrôle de la douleur. Elle se projette ensuite sur les centres supérieurs du névraxe, notamment au niveau de la substance grise périaqueducale (PAG) mésencéphalique, de l'hypothalamus et des noyaux intralaminaires du thalamus, ces derniers projetant sur diverses régions du cortex cérébral (structures limbiques et cortex préfrontal (PFC) et frontal en particulier). Ce faisceau est impliqué dans le codage de l'intensité des stimuli douloureux ainsi que dans l'intégration émotionnelle, mémorisation et adaptation comportementale (fuite, anticipation).

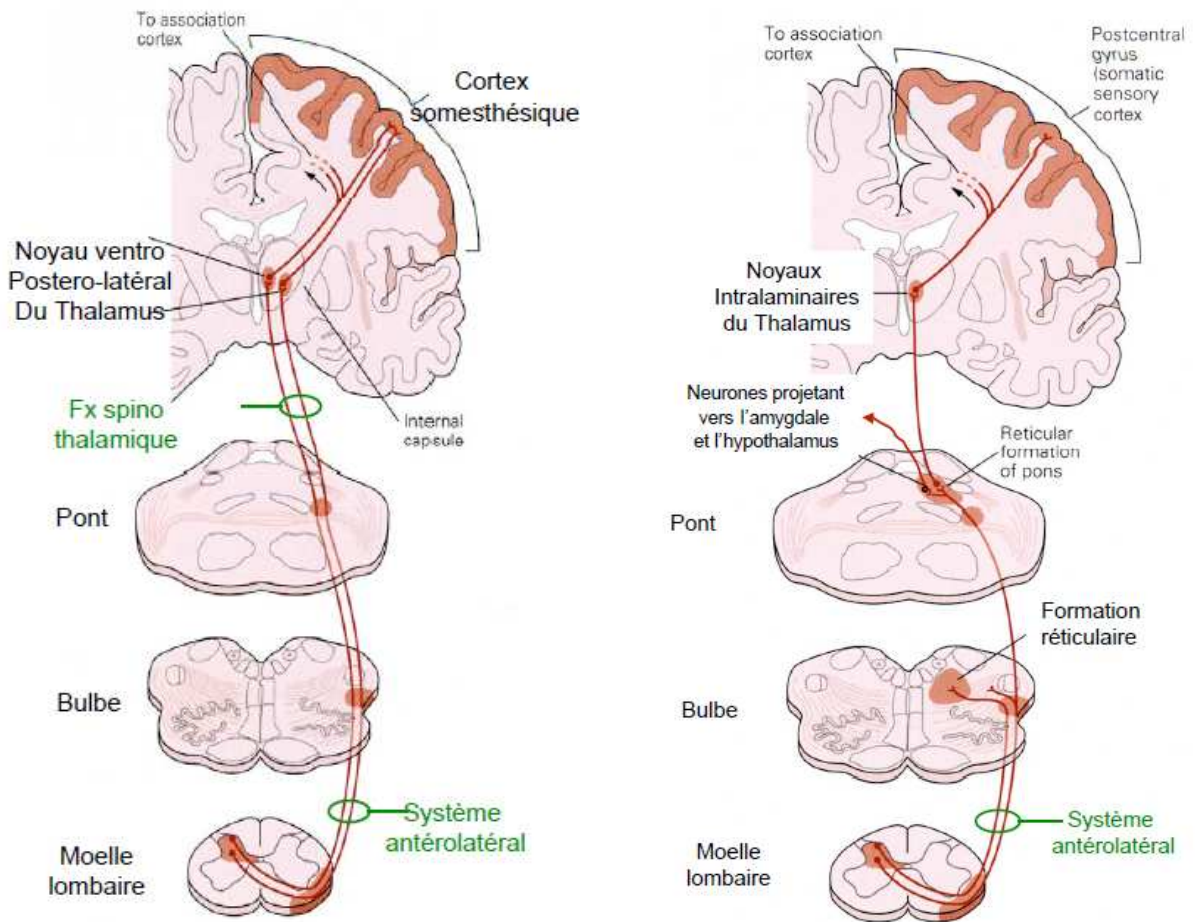


Figure 4 : Les faisceaux ascendants spino-thalamiques ou extra-lemniscaux de la douleur
a) Faisceau néo-spino-thalamique B) Faisceau paléospino-réticulo-thalamique

- La voie cordonale postérieure ou voie lemniscale qui chemine dans la colonne dorsale de la moelle épinière (Figure 5). Cette voie véhicule les informations sur la sensibilité épicrotique, proprioceptive consciente et vibratoire. Elle transmet également la majeure partie des informations de sensibilité viscérale (Al-Chaer et al., 1996b; Willis et al., 1999). Cette voie chemine dans la corne dorsale de la moelle épinière homolatérale ; le premier relais synaptique se situe dans les noyaux gracile et cunéiforme bulbaires. Après décussation, le trajet bulbaire s'effectue dans le lemnisque médial avant de rejoindre les noyaux ventraux postéro-latéraux du

thalamus pour se projeter au niveau des cortex somesthésiques primaire (S1) et secondaire (S2).

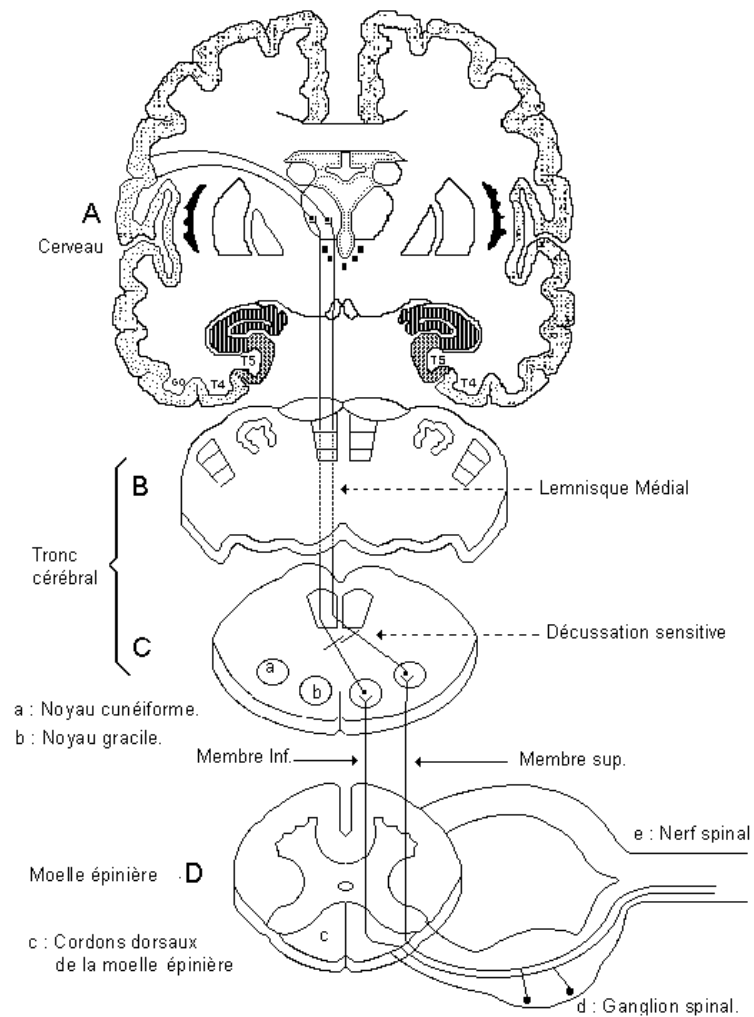


Figure 5 : Origine et trajet de la voie cordonale postérieure ou lémniscale

Intégration de la douleur au niveau cérébral et contrôles supra-spinaux

Il n'existe pas de centre unique d'intégration, de discrimination et de mémorisation 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 de la douleur » (Wager et al., 2013). Il comprend les cortex somesthésiques primaire (S1) et secondaire (S2), le thalamus ventro-latéral et médial, le cortex cingulaire antérieur (ACC), l'insula, les cortex préfrontal dorso-latéral (dlPFC), pariétal postérieur, moteur primaire (M1), l'aire motrice accessoire (SMA), le cervelet et la PAG (Apkarian et al., 2005; Peyron et al., 2000; Tracey and Mantyh, 2007; Wager et al., 2013) (Figure 6).

La projection des voies nociceptives sur la région préfrontale est classiquement décrite comme responsable du caractère désagréable de la sensation douloureuse et du contexte affectif qui l'entoure. La projection à partir de la formation réticulée sur les aires limbiques (cortex orbito-frontal, cortex cingulaire, insulaire antérieur et sur l'amygdale temporale) joue un rôle dans l'apprentissage et la mémorisation des sensations nociceptives, l'intégration de réponses émotionnelles et cognitives et dans le contrôle de la douleur (Vogt, 2013). Il permet notamment de reconnaître un contexte spatial et social à risque et permet ainsi un comportement adapté à des stimulations potentiellement nociceptives (réponse d'évitement, fuite, anticipation). Les projections d'informations nociceptives sur l'hypothalamus, principale structure régulatrice végétative, est à l'origine des réponses neuroendocrines à la douleur.

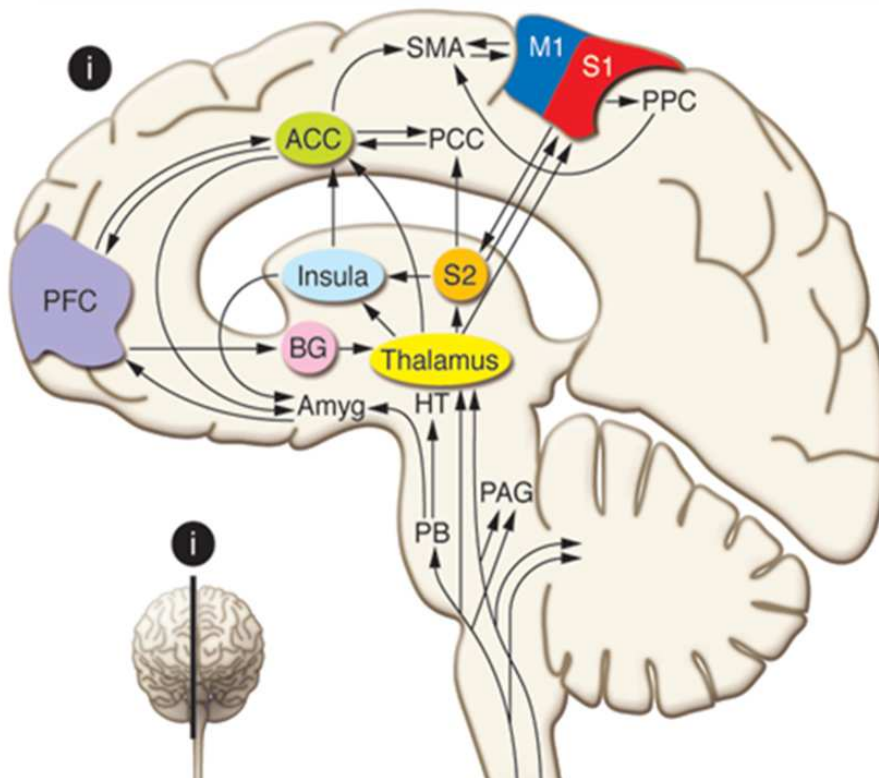


Figure 6 : Connectivité et voies afférentes des régions de la « matrice douleur »
 ACC : Cortex cingulaire antérieur ; Amyg : Amygdale ; BG : Ganglions de la base ; HT : Hypothalamus ; M1 : Cortex moteur primaire ; PCC : Cortex cingulaire postérieur ; PF : Cortex préfrontal ; PAG : Substance grise périaqueducale ; PPC : Cortex pariétal postérieur ; S1 : Cortex sensoriel primaire ; SMA : Aire motrice accessoire. D'après (Apkarian et al., 2005)

Les contrôles inhibiteurs descendants supraspinaux

Schématiquement, 2 types de contrôles inhibiteurs descendants ont été identifiés (Figure 7):

Les contrôles inhibiteurs descendants déclenchés par stimulations nociceptives (CIDN)

(Le Bars et al., 1979) ou « Diffuse Noxious Inhibitory Control » : l'application d'un stimulus nociceptif sur une zone du corps éloignée d'un champ récepteur d'un neurone convergent déclenche un mécanisme d'inhibition sur ce même neurone convergent. L'importance du CIDN est proportionnelle à l'intensité du stimulus et à sa durée. La structure bulbaire impliquée dans cette boucle est la rétillée bulbaire. Les neuromédiateurs des DNIC seraient sérotoninergiques et endomorphiniques.

Les contrôles descendants d'origine supraspinale déclenchés par stimulations cérébrales (ou associés à des facteurs psychologiques): La séquence d'activation de ces voies descendantes impliquerait le cortex préfrontal dorsolatéral en lien avec l'ACC puis la PAG, les noyaux du raphé, le noyau giganto-cellulaire et le noyau réticulé latéral du tractus solitaire et d'autres noyaux du tronc cérébral. A partir de cette région bulbaire, des fibres vont rejoindre les neurones spinaux à chaque étage et réaliser un effet inhibiteur sur les neurones convergents. Les neuromédiateurs impliqués dans ce système inhibiteur sont les substances opioïdes, la sérotonine et la noradrénaline.

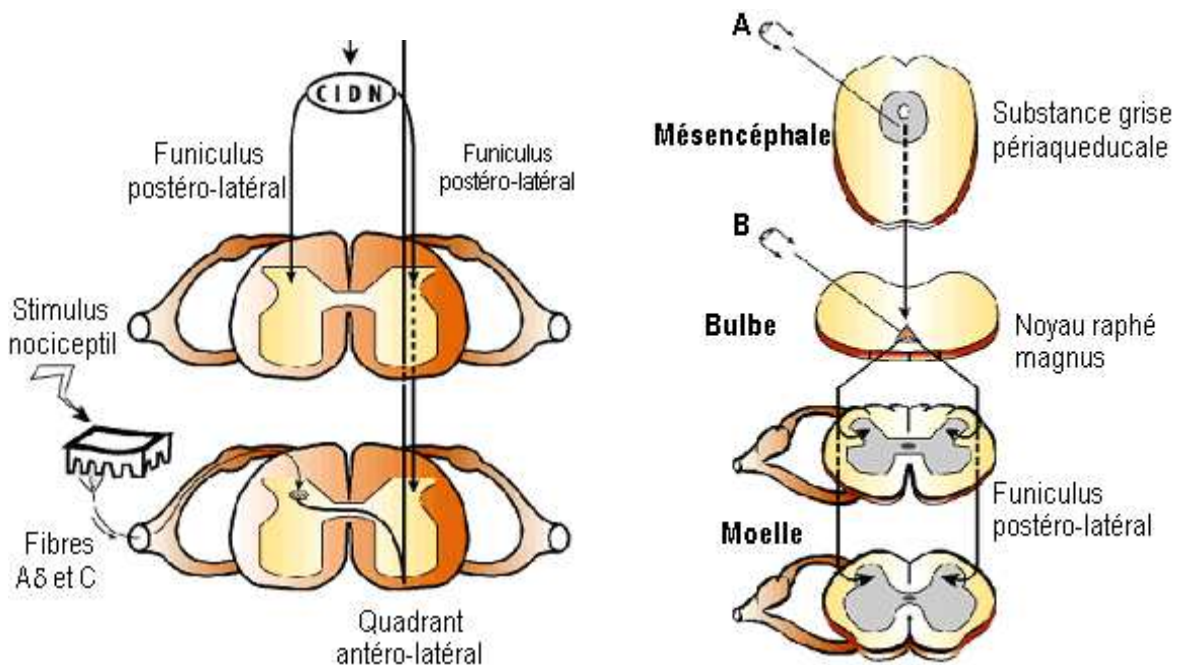


Figure 7 : Les contrôles inhibiteurs descendants supraspinaux. A) Contrôle inhibiteur descendant déclenché par stimulation nociceptive (CIDN). B) Contrôles inhibiteurs descendants déclenchés par des stimulations cérébrales. D'après (Guirimand and Le Bars, 1996)

La sensibilité viscérale et le système nerveux entérique

Le système nerveux entérique (SNE), ou système nerveux intrinsèque du tube digestif (TD), est impliqué à la fois dans l'activité sensitive, motrice, sécrétoire et vasculaire intestinale.

Le SNE est constitué de deux plexus ganglionnaires qui s'étendent sur toute la longueur du TD : le plexus myentérique (ou plexus d'Auerbach), qui se trouve entre les couches musculaires longitudinale et circulaire et qui régule la motricité intestinale, et le plexus sous-muqueux (ou plexus de Meissner), situé entre ces derniers et la muqueuse intestinale, qui régule notamment le flux sanguin local et les échanges hydro-électrolytiques (Figure 8). Les deux plexus qui le composent forment un réseau réticulaire, de plus de 200 millions de neurones densément connectés les uns aux autres, tout comme le cerveau, d'où ses autres noms (en anglais « *gut's brain* », littéralement « cerveau viscéral » ; « deuxième cerveau »). Ces neurones peuvent être catégorisés en quatre types distincts : neurones sensitifs (de type mécano, thermo, ou chémorécepteurs), neurones effecteurs et interneurones. On retrouve au sein du système entérique l'essentiel des neurotransmetteurs du SNC (sérotonine, acétylcholine [ACh], noradrénaline [NA], acide γ -aminobutyrique [GABA]).

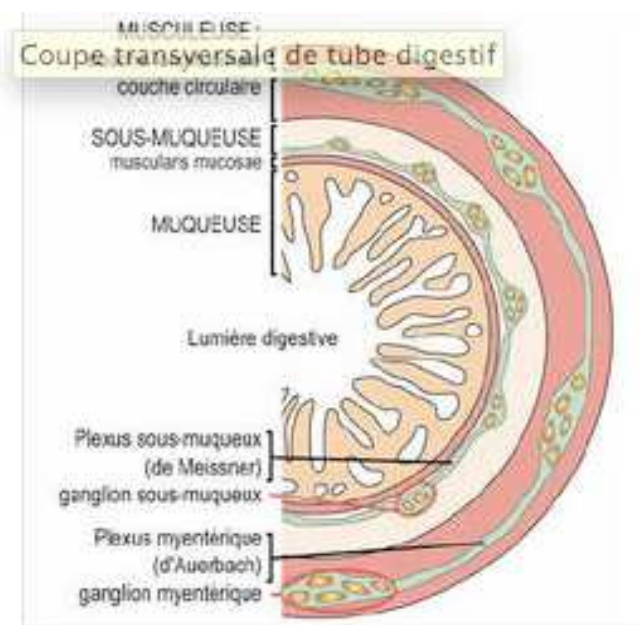


Figure 8 : Coupe transversale du TD permettant de voir le SNE

Les cellules entériques gliales, qui sont des analogues des astrocytes du SNC, ont un rôle fondamental dans la régulation de la physiologie intestinale (Cabarrocas et al., 2003). Elles sont 4 fois plus nombreuses que les neurones entériques et encapsulent les corps cellulaires entériques dans et aux environs des plexus ganglionnaires. L'ablation de ces cellules conduit à une neurodégénérescence, une rupture de la barrière intestinale et des anomalies vasculaires telles que celles qui sont observées dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI). De plus, les cellules entériques gliales participent activement aux processus inflammatoires en produisant et répondant à un large éventail de cytokines ; elles expriment de façon constitutive les molécules du CMH de classe I et de façon inductible les molécules de classe II, impliquant un rôle potentiel de présentation antigénique au système immunitaire (Bernstein and Vidrich, 1994; Neunlist et al., 2013).

Les récepteurs sensitifs du TD et faisceaux ascendants

En dehors des corpuscules de Paccini, situés au niveau du mésentère, les récepteurs sensitifs digestifs se présentent sous la forme de terminaisons nerveuses libres. Les récepteurs intra-muqueux, décrits au niveau de l'estomac, duodénum et du côlon (Grundy and Scatcherd, 1989), sont pour leur quasi-totalité des terminaisons libres amyéliniques de type C. Ils transmettent la majorité de leurs messages via le nerf vague (X) et les afférences spinales. Ce sont essentiellement des mécanorécepteurs, sensibles au frottement et à la déformation de la muqueuse digestive ainsi qu'à la distension. Il existe également des chémorécepteurs (taux d'hydrates de carbone, concentration en acide chlorhydrique) et des thermorécepteurs; d'autres enfin sont des récepteurs silencieux, recrutés après sensibilisation, notamment lors des processus inflammatoires chroniques. Les afférences viscérales jouent un rôle fondamental dans l'organisation des réflexes dits viscéraux. Cependant, certains influx peuvent gagner les centres supérieurs et émerger à la conscience. La sensation viscérale peut être subdivisée en 2 catégories fonctionnelles: a) les sensations conscientes non douloureuses qui renseignent l'individu sur l'état du tractus gastro-intestinal telles que la sensation de plénitude, de satiété, de nausées, de faim, véhiculées par le nerf vague (80% afférent et 20% efférent) et

b) la sensation viscérale douloureuse (classiquement transmise par les afférents sympathiques) qui informe le sujet des événements douloureux potentiels. Les stimuli viscéraux perçus comme douloureux incluent l'irritation de la muqueuse ou de la séreuse, la distension importante d'un viscère, la torsion ou la traction du mésentère, la contraction forcée, l'anoxie et la nécrose, l'inflammation.

Les neurones localisés dans la corne dorsale (lames I, II externe, V, VII et X) et qui reçoivent les afférences viscérales splanchniques, envoient leur axone de façon rostrale vers les centres supra-spinaux via la colonne dorsale de la moelle épinière, voie préférentielle de transmission de la douleur viscérale digestive (Al-Chaer et al., 1996a), et le faisceau spinothalamique.

La douleur viscérale chronique

La douleur viscérale chronique est une douleur prolongée pendant des mois (arbitrairement définie comme supérieure à 3 à 6 mois), provenant d'une lésion tissulaire viscérale, d'une inflammation, de lésions nerveuses, d'une croissance tumorale ou de lésions ou occlusions vasculaires. La douleur viscérale chronique peut induire une sensibilisation du système nerveux périphérique (SNP) ou du SNC.

La sensibilisation est le recrutement, suite à une stimulation nociceptive continue et prolongée, de neurones nociceptifs silencieux adjacents. Les douleurs deviennent plus intenses (hyperalgésie). Certaines substances produites au site lésionnel altèrent également les propriétés physiologiques des nocicepteurs, modifiant le seuil de déclenchement des influx nociceptifs. Des stimuli faibles, tels qu'un contact léger qui n'avait précédemment aucun effet sur ces nocicepteurs, vont ainsi les activer, déclenchant des signaux de douleur sévère (allodynie). Des douleurs spontanées sans stimulus nociceptif peuvent également apparaître. Ce phénomène est connu sous le nom de « sensibilisation périphérique ». Cette sensibilisation conduit à une stimulation toujours plus intense et persistance de rafales de décharges neuronales vers le SNC. Ceci induit des changements à long-terme dans l'activité neuronale au niveau de la moelle épinière et dans les centres du SNC, liés à la plasticité neuronale, sous l'action notamment du « nerve growth factor » (NGF). Ce phénomène est intitulé « sensibilisation centrale ». La

sensibilisation périphérique et centrale tend à persister au-delà de la guérison apparente de la lésion initiale.

On distingue classiquement plusieurs types de douleur chronique selon le mécanisme physiopathologique :

- Par excès de nociception : le stimulus nociceptif est prolongé, la réaction inflammatoire intense (par exemple : douleurs des maladies inflammatoires chroniques intestinales [MICI])
- Par lésion périphérique ou centrale du système nociceptif. On parle de douleurs neuropathiques, neurogènes, ou de déafférentation (par exemple : étirements de plexus, atteintes thalamiques)
- Par stimulation locale du système sympathique, à l'origine de troubles vasomoteurs, trophiques (algodystrophie)
- Par désordre émotionnel sévère modifiant l'intégration du message douloureux conscient (douleurs psychogènes)
- De mécanisme mal connu (douleurs sine materia ; par exemple : la fibromyalgie)
- Par mécanisme mixte (inflammatoire et neuropathique notamment), probablement le mécanisme le plus répandu.

Une situation douloureuse chronique peut aussi être classée en fonction de son évolution, pour laquelle 4 stades sont distingués :

- une forme simple où l'intensité de la douleur et l'incapacité sont faibles,
- une forme intermédiaire où l'intensité est élevée mais l'incapacité est modérée,
- une forme évoluée où l'état d'inhibition (incapacité) est élevé associée à une intensité douloureuse élevée,
- une forme terminale où intensité, incapacité, troubles psychoaffectifs sont intenses et associés à des échecs thérapeutiques multiples.

Les facteurs psycho-émotionnels (personnalité affective, croyance en évitement anxieux) et environnementaux conditionnent le passage de la douleur entre ces différentes formes.

Effet de l'anticipation et de l'hypervigilance sur la perception douloureuse

Anticipation de la douleur

Des études de neuroimagerie chez l'Homme ont montré que le cerveau répondait à la fois avant (par anticipation) et pendant l'application d'un stimulus douloureux (Ploghaus et al., 1999; Porro et al., 2002). Cette phase d'anticipation de la douleur permet à l'organisme de préparer son système nociceptif afin de gérer de manière adaptée le stimulus aversif à venir (Weisenberg et al., 1996). Cette « gestion anticipatrice » pourrait correspondre à l'activation des zones cérébrales régulatrices de la douleur, ou bien à l'augmentation de la sensibilisation à la douleur (Porro et al., 2002).

Anticipation certaine

Les mécanismes cérébraux à l'origine des effets de l'anticipation (et la peur et/ou anxiété accompagnatrices) sur la sensation douloureuse à venir ont été abondamment étudiés (Berman et al., 2008; Drabant et al., 2011; Fairhurst et al., 2007; Nitschke et al., 2006; Ploghaus et al., 2003; Porro et al., 2002; Seifert et al., 2013; Song et al., 2006; Straube et al., 2009a, b; Ter Minassian et al., 2012; Van Oudenhove et al., 2010). Les techniques d'IRMf ont permis de mettre en évidence que le pendant, en termes d'activation cérébrale, de l'appréhension ressentie lors de l'anticipation d'une douleur, comprenait l'activation ou « désactivation » de régions clés du réseau de la douleur, dont le cortex cingulaire médian (MCC), S1, S2 et l'insula postérieure, et de la gestion cognitive et affective de la douleur (ACC et cortex orbitofrontal) (Berman et al., 2008). Cependant, du fait de la grande variabilité des conditions expérimentales utilisées (variabilité sur l'intensité de la douleur, sur le type de douleur, sur le type de population explorée), les résultats de ces travaux divergent fréquemment. A titre d'exemple, tandis que certaines études rapportent une activation du cortex préfrontal médial (comprenant notamment l'ACCsg) (Drabant et al., 2011; Nitschke et al., 2006; Ploghaus et al., 2003; Straube et al., 2009a, b), d'autres retrouvent une désactivation significative de ces régions (Berman et al., 2008; Ploghaus et al., 1999; Simpson et al., 2001). Une autre hypothèse pour expliquer ces divergences

est la différence de signification, en termes d'activité cérébrale, de l'importance de la menace perçue par un sujet. En effet, au cours d'une menace modérée, un sujet sain semble capable d'éloigner son attention de la source de danger, tout en privilégiant un mode de fonctionnement par défaut (Mogg and Bradley, 1998). Par contre, une menace importante majore la vigilance envers la source de danger, induisant une préparation à l'action (Mogg and Bradley, 1998).

Enfin, il a été montré que certaines pathologies caractérisées par une hypersensibilité somatique et/ou viscérale, telles que les troubles fonctionnels intestinaux (TFI) et la fibromyalgie, ainsi que la dépression, étaient associées à des déficits dans l'inhibition préparatrice de la phase d'anticipation, ce qui contribuerait à l'augmentation de la réponse cérébrale et à la perception du stimulus viscéral (Berman et al., 2008; Burgmer et al., 2011; Strigo et al., 2008).

Anticipation incertaine

L'incapacité à prévoir les événements à venir majore l'impact d'un stimulus aversif en termes de stress et d'anxiété. Carlsson et ses collaborateurs ont montré que l'imprévisibilité dans la survenue d'un stimulus aversif douloureux était corrélée à une activation de l'insula antérieure et du cortex orbito-frontal, régions impliquées dans le traitement de la douleur affective, et du cortex pariétal et préfrontal latéral, attribué à l'accroissement de la vigilance et à une attention soutenue (Carlsson et al., 2006). Par ailleurs, l'imprévisibilité conduit aussi à une hypersensibilité, pour des stimuli douloureux et non-douloureux (Sawamoto et al., 2000).

Le rôle différentiel de l'anticipation incertaine versus certaine dans le contexte de la douleur a très peu été étudié dans la littérature, malgré le fait que ces deux types d'anticipation soient associées à des réponses émotionnelles, cognitives et comportementales différentes (Ploghaus et al., 2003). Yoshida et coll ont montré que l'incertitude, portant sur le caractère douloureux ou non d'une stimulation thermique cutanée à venir, induisait une hyperalgésie importante (Yoshida et al., 2013). Cet effet hyperalgésique était associé à une activation élective de la PAG. Dans les mêmes conditions d'expérimentation, Brown a décrit une activation anticipatoire de régions du réseau attentionnel (cortex préfrontal dorsolatéral gauche, CCP gauche et cortex pariétal

inférieur bilatéral) (Brown et al., 2008). Clark et coll ont montré que l'incertitude concernant l'instant de survenue d'une douleur thermique cutanée induisait également l'activation de régions du réseau attentionnel (S2 et MCC) (Clark et al., 2008). Enfin, Sarinopoulos et coll ont mis en évidence une majoration de l'activation au niveau de l'ACC supra-génual au cours d'une anticipation incertaine d'un stimulus aversif non douloureux (projection d'images à valence négative) par rapport à la condition d'anticipation certaine, suivie de réponses amplifiées au niveau de l'insula et de l'amygdale au cours du stimulus (Sarinopoulos et al., 2010).

L'hypervigilance

L'anxiété dans l'anticipation d'une douleur induit de l'hypervigilance (Brown et al., 2014) : le patient focalise son attention sur la survenue éventuelle de la douleur, guette d'éventuels signes de douleur avec une attention exacerbée, il « attend sa douleur ». Cette hypervigilance peut conduire à un état d'hypersensibilisation diffuse centrale, avec comme conséquences une exagération de la perception de la douleur (détectée plus précocement et à des seuils plus faibles) et une augmentation de l'impact de la douleur sur les comportements (possibles troubles de la mémoire, troubles de la concentration, modification de l'humeur). L'hypervigilance s'entretient d'elle-même : plus la douleur est forte, plus la douleur est perçue comme importante et plus la peur d'une douleur ultérieure devient forte (Figure 9). Différents travaux ont montré que l'état d'hypervigilance était directement lié à la présence de facteurs environnementaux stressants, personnels et/ou professionnels (Feuerstein et al., 1985; McCarberg et al., 2012). Plus l'individu est confronté à un nombre important de facteurs stressants, plus l'état d'incapacité augmente et moins l'individu est capable de gérer une situation douloureuse. Par ailleurs, l'hypervigilance favorise le passage d'une douleur aiguë à une douleur chronique, et d'une douleur localisée à une douleur diffuse. Enfin, l'hypervigilance favorise l'apparition d'un état dépressif (Sternbach, 1975).

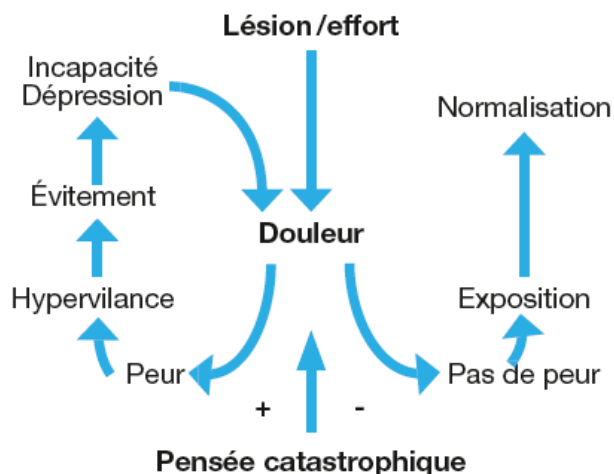


Figure 9 : Apparition et auto entretien de l'hypervigilance dans la douleur

Catastrophisme de la douleur

Le catastrophisme est une attitude émotionnelle et cognitive exagérément négative et inadaptée envers la douleur ; un ajustement délétère (Geisser et al., 1994) qui se construit vis-à-vis d'une expérience douloureuse en cours ou future. Il s'agit d'un des principaux déterminants de l'expérience individuelle de la douleur.

Le catastrophisme associe trois aspects : l'amplification, la rumination, et l'impuissance (Sullivan et al., 2001). Le patient se focalise exclusivement sur les aspects aversifs et négatifs de son expérience douloureuse. Il présente une attitude de rumination sur sa douleur associée à un vécu véritablement obsessionnel de son état. De fait, le catastrophisme entraîne un accroissement de l'intensité de la douleur, de la détresse émotionnelle ou encore des prises médicamenteuses (Reid et al., 1998). Si la douleur est perçue comme menaçante, la peur liée à la douleur progresse, pouvant conduire à une dépression qui sera, elle, responsable d'une persistance des expériences douloureuses et donc d'un cercle vicieux de peur et d'évitements croissants (Sullivan and D'Eon, 1990).

Le substratum neurologique à l'origine de l'association entre catastrophisme et majoration de la perception douloureuse est incomplètement élucidé. Graceley et coll ont montré, sur une série de patients fibromyalgiques, que le catastrophisme, indépendamment de l'influence de la dépression, est associé de façon significative à une augmentation de

l'activité cérébrale dans les territoires relatifs à l'anticipation de la douleur (cortex frontal médian, cervelet), à l'attention à la douleur (ACC dorsal, dIPFC), à l'aspect émotionnel de la douleur (claustrum, amygdale) et au contrôle moteur (Gracely et al., 2004). Récemment, une augmentation de l'activation au niveau de la PAG, du dIPFC et du cortex pariétal postérieur a été mise en évidence au cours de l'anticipation d'une douleur chez des patients sujets au catastrophisme (Burgmer et al., 2011). Ces résultats étayaient l'hypothèse selon laquelle le catastrophisme a une influence sur la perception de la douleur en altérant l'anticipation et majorant l'attention, et en augmentant la réponse émotionnelle à la douleur. Enfin, Ruscheweyh et coll ont très récemment montré que l'effet du catastrophisme sur la perception douloureuse impliquait essentiellement les centres supraspinaux, associé à une inhibition significative des voies descendantes de contrôle de la douleur (Ruscheweyh et al., 2013).

Interactions cerveau-tube digestif

Trois voies de communication entre l'intestin et le SNC ont été décrites :

- le système nerveux autonome, qui transmet de façon bidirectionnelle les informations viscérales digestives et les efférences autonomiques en provenance du réseau autonome central (cf infra)
- l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS) (cf sous-chapitre correspondant)
- les organes circumventriculaires (Bonaz and Bernstein, 2013) : épiphyse, neurohypophyse, organe subfornical, organe vasculaire de la lame terminale, organe commissural et area postrema.

Le système nerveux autonome

Le système nerveux autonome (SNA), aussi appelé système végétatif ou neurovégétatif, régule les fonctions automatiques de tous les tissus et organes. Il s'agit d'un système mixte afférent et efférent.

Les efférences du SNA calibrent les réactions de l'organisme en fonction du contexte pour répondre aux exigences métaboliques des stimulations motrices, émotionnelles et cognitives (Critchley, 2005; Thayer and Lane, 2000). Le SNA maintient ainsi l'équilibre du milieu intérieur ou homéostasie. En particulier, le SNA est l'interface neurologique relayant, de façon bidirectionnelle, les informations entre le SNC et le système nerveux entérique (SNE) du TD. Il a un rôle primordial dans les liens privilégiés existant entre le cerveau et le TD, appelés axe cerveau-tube digestif (axe « brain-gut » des anglo-saxons). Le SNA est dit autonome, car ses activités échappent au contrôle volontaire. Il est constitué notamment de deux branches:

- la branche sympathique
- la branche parasympathique.

Le système nerveux autonome sympathique (SNAs)

Le SNA est le composant du SNA le plus étendu et le plus diversifié physiologiquement. Il est essentiellement impliqué dans les réactions d'alerte et prépare l'organisme à une réaction rapide en cas d'agression externe, pour induire la réponse « flight or fight » : de fuite ou de lutte. Ainsi, l'activation du SNA induit une tachycardie, une vasoconstriction périphérique, une augmentation de la pression artérielle, une augmentation de la sécrétion d'adrénaline et de noradrénaline par les glandes surrénales, une bronchodilatation, une stimulation de la libération de glucose par le foie, une mydriase, un ralentissement du péristaltisme, une relaxation de la vessie et une stimulation des glandes sudoripares.

Le SNA fonctionne sur un modèle à deux neurones : un neurone préganglionnaire (dont le corps cellulaire est localisé dans la moelle épinière dans la zone thoraco-lombaire T5-L2) qui donne naissance aux fibres efférentes préganglionnaires émergeant à travers les nerfs spinaux thoraco-lombaires (Figures 10 et 11) et qui fait synapse sur un neurone post-ganglionnaire (dont le corps cellulaire est localisé dans un ganglion végétatif) qui lui-même innerve le tissu cible. Les ganglions sympathiques sont organisés en deux paires de chaînes : 1) le tronc sympathique vertébral : les ganglions sont placés de part et d'autre de la colonne vertébrale et répartis en une série de ganglions étagés (sympathique cervical, thoracique, lombaire et sacré) reliés par des rameaux interganglionnaires ; 2) la chaîne préviscérale de part et d'autre de l'aorte abdominale et reliée au tronc sympathique paravertébral par les nerfs splanchniques. Plusieurs groupes de ganglions peuvent être distingués : le groupe ganglionnaire supérieur (ganglions cœliaques), les ganglions mésentériques et les plexus hypogastriques.

Le neuromédiateur des fibres pré-ganglionnaires est l'acétylcholine, tandis que les fibres post-ganglionnaires, innervant les tissus cibles, sont noradrénergiques, sécrétant des catécholamines : la noradrénaline (norépinephrine) et l'adrénaline (épinephrine) (Figure 12). Ces neuromédiateurs se lient aux récepteurs adrénergiques (α 1-2, β 1-3).

Les fibres sympathiques innervant le SNA sont majoritairement issues des nerfs hypogastriques et splanchniques. Ces fibres innervent les ganglions hypogastriques et mésentériques. Les nerfs splanchniques donnent la sensibilité à l'œsophage inférieur, à

l'estomac et aux intestins ; le côlon est innervé par les nerfs coliques lombaires et les nerfs hypogastriques.

Le système nerveux autonome parasympathique (SNAp)

Le SNAp a des fonctions généralement, mais pas constamment, antagonistes au SNA. Le SNAp répond plus rapidement, au cours d'un changement de situation, que le SNA. Ses principales fonctions sont la récupération de l'organisme et la vidange des organes creux. En effet, au cours des situations neutres, notamment pendant le sommeil, l'activation du SNAp induit un ralentissement général des fonctions de l'organisme et une réduction de la consommation d'énergie tout en assurant le mécanisme de vidange de l'organisme par la progression des aliments dans le tube digestif.

Les fibres nerveuses parasympathiques émergent du tronc cérébral (à partir des noyaux étagés du parasympathique crânien dont fait partie le noyau cardio-pneumo-entérique à l'origine du nerf vague) et de la région sacrée de la moelle épinière. On distingue quatre paires de nerfs crâniens parasympathiques : les nerfs faciaux (VII), occulo-moteurs (III), glossopharyngiens (IX) et vagues (X) (Figure 10). Les fibres préganglionnaires sont longues, s'étendant du SNC aux structures qu'elles innervent ; elles font synapses avec des neurones postganglionnaires situés dans les ganglions, pour la majorité, dans les organes viscéraux ou très proches (Lane et al. 2009). Il est classiquement décrit que les fibres parasympathiques préganglionnaires et les fibres afférentes viscérales réflexes acheminées par les nerfs vagues s'étendent jusqu'aux ganglions intrinsèques de l'œsophage inférieur, de l'estomac, du duodénum, de l'intestin grêle, du côlon ascendant et de la plus grande partie du côlon transverse, tandis que les côlons descendant et sigmoïde et le rectum seraient innervés les nerfs splanchniques pelviens (Figure 10). Cependant, selon des anatomistes français (Delmas, Jayle et Laux), le nerf vague innoverait la totalité du colon jusqu'au rectum ; cette théorie a été vérifiée chez le rat (Altschuler et al., 1993).

Le nerf vague est un nerf mixte constitué pour 20% de fibres efférentes parasympathiques, et pour 80% de fibres afférentes (Bonaz, 2007) véhiculant des informations viscérales (mécaniques, chimiques, thermiques, nociceptives) qui

convergent dans le noyau du tractus solitaire (NTS). Toutes les fibres nerveuses du parasympathique secrètent de l'acétylcholine (ACh) (Figure 12).

La majorité des organes vitaux reçoit une innervation duale, avec des afférences du SNAs et du SNAp. Le plus souvent, les deux divisions du SNA ont une action antagoniste ; cette action est la plus évidente au niveau du cœur, des poumons et du tube digestif. Dans d'autres territoires, ces activités peuvent être séparées ou complémentaires (dans les glandes salivaires ou les organes sexuels mâles, par exemple).

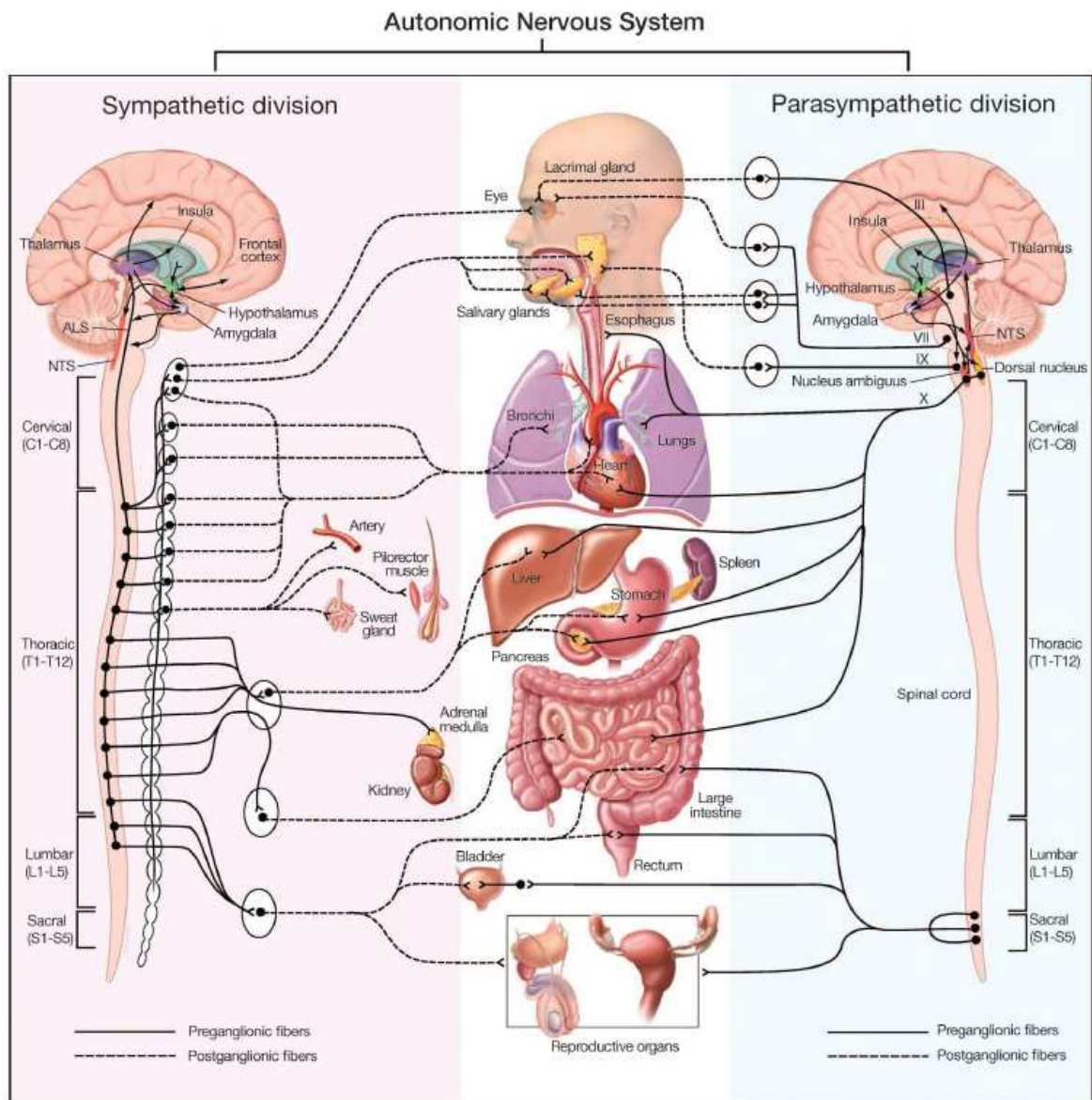
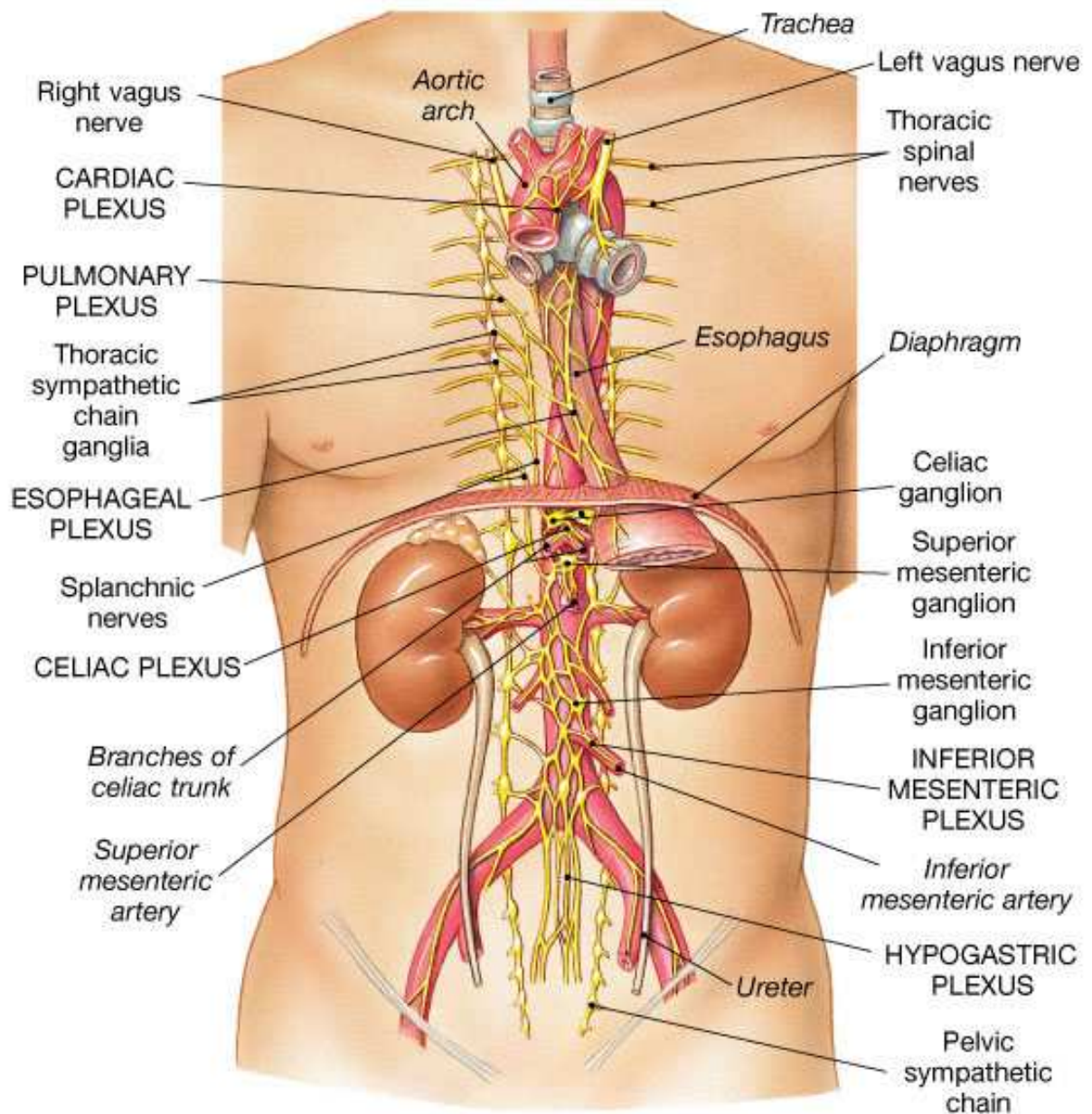


Figure 10 : Organisation de l'innervation du système nerveux sympathique et parasympathique
D'après (Lane et al., 2009). ALS : système antérolatéral ; NTS : noyau du tractus solitaire ; les chiffres romains représentent les nerfs crâniens (III : nerfs oculo-moteurs, VII : nerfs faciaux, IX : nerfs glossopharyngiens, X : nerf vague).



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Figure 11 : Anatomie de l'innervation du système nerveux sympathique et parasympathique
D'après (Marieb and Hoehn, 2007).

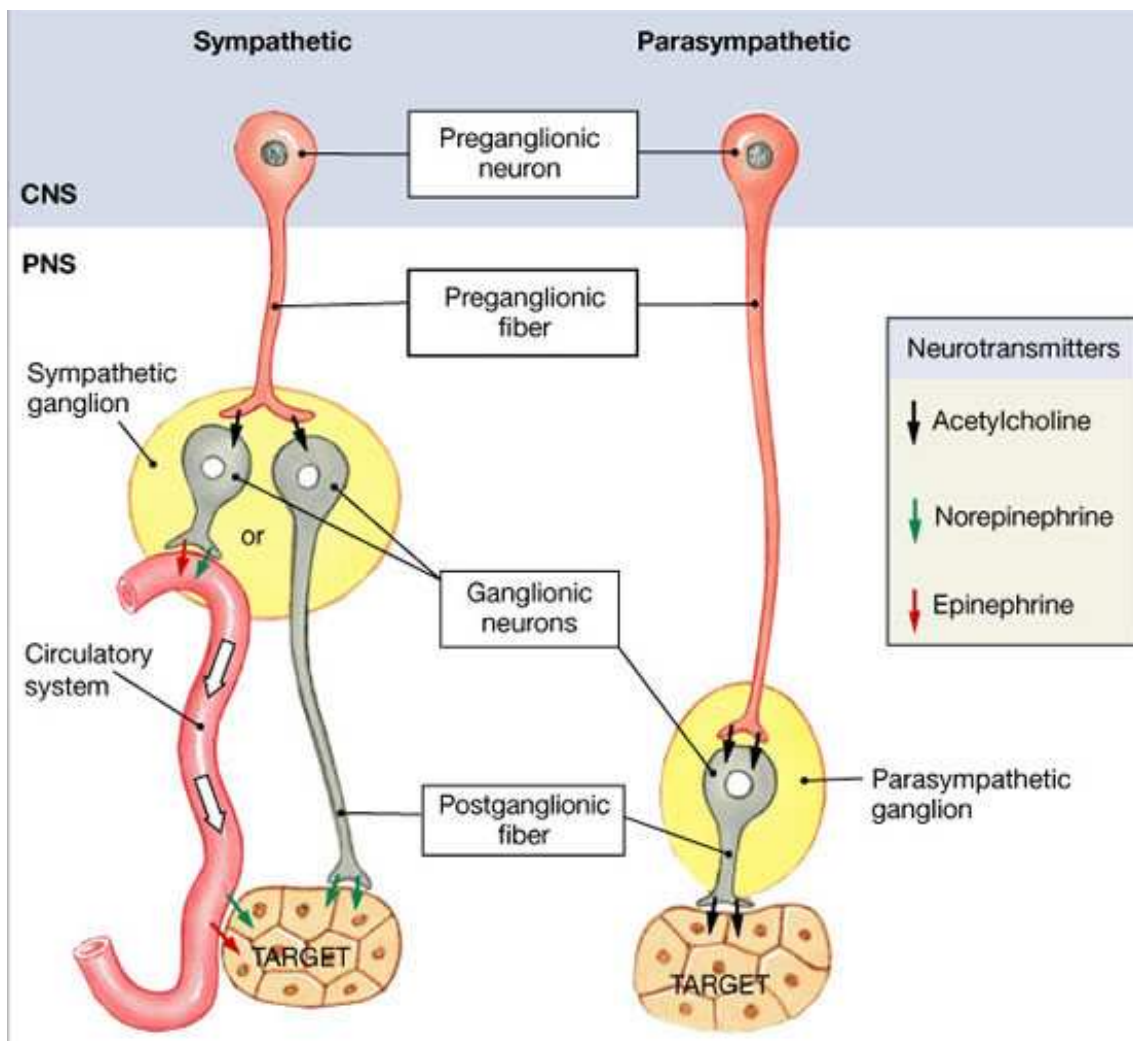


Figure 12 : Médiateurs du SNAs et du SNAp
 (CNS : Système nerveux central ; PNS : système nerveux périphérique). D'après (Marieb and Hoehn, 2007).

Intégration centrale des informations digestives transmises via le SNA

Le SNAs et le SNAp sont en lien avec les noyaux du tronc cérébral (TC), la formation réticulée, le locus coeruleus et les centres supérieurs (Loewy, 1990).

Ainsi, l'information viscérale transmise via les afférents du SNA atteint le SNC à deux niveaux distincts : i) le noyau du tractus solitaire (NTS) localisé dans le bulbe rachidien, recevant les afférences du X, et ii) la moelle thoraco-lombaire et sacrée, recevant respectivement les afférences des nerfs splanchniques et pelviens. Cette information est ensuite intégrée par le réseau autonome central.

Les informations viscérales peuvent ainsi moduler positivement ou négativement, via le SNA, le fonctionnement de ces régions du SNC (Benarroch, 1993; Saper, 2002). La modulation du message nociceptif peut s'effectuer à différents niveaux spinaux et supra-spinaux; il existe de plus des voies anti-nociceptives descendantes issues des centres supérieurs vers la moelle épinière.

Par ailleurs, l'intégration centrale du message nociceptif s'accompagne de mécanismes adaptatifs comportementaux, moteurs et autonomiques. Les régions cérébrales impliquées dans le traitement de la douleur (cortex sensitif primaire [S1] et secondaire [S2], cortex cingulaire antérieur [ACC], cortex insulaire, PFC, thalamus, ganglions de la base, cervelet) sont en effet également impliquées dans la régulation des comportements émotionnels (humeur, anxiété, affects négatifs, douleur) et cognitifs (prise de décision, planification, recherche d'information) et donc dans le développement du comportement social, de la stratégie de gestion du stress et du bien-être (Seminowicz et al., 2004).

La voie anti-inflammatoire cholinergique

Cette voie, aux propriétés anti-inflammatoires, a été découverte au début des années 2000 par l'équipe de Tracey (Borovikova et al., 2000). Elle repose sur l'activation des efférences vagales et la sécrétion d'acétylcholine (ACh) (Pavlov and Tracey, 2005). Cette voie est complémentaire de l'axe corticotrope ou axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) qui est la voie classique connue.

Sur le site d'une lésion ou d'une infection locale, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6) par les cellules immunitaires est détectée par les afférences vagales. Celles-ci transmettent l'information au SNC via le NTS et les organes circumventriculaires. En réponse, les efférences vagales activées libèrent de l'ACh au niveau de leurs extrémités, au contact des cellules immunitaires, notamment les macrophages, sur le site de l'inflammation et dans les organes lymphoïdes. Matteoli et coll ont mis en évidence une voie anti-inflammatoire cholinergique distincte au niveau intestinal, sans innervation directe des macrophages résidents par les terminaisons vagales efférentes (Matteoli et al., 2013). Ils ont montré que les terminaisons efférentes du X interagissaient avec des neurones myentériques cholinergiques, eux-mêmes en contact avec les macrophages de la musculature, et ce de façon indépendante de la rate et des lymphocytes T.

Les macrophages expriment le récepteur $\alpha 7$ nicotinique de l'ACh à leur surface, dont la liaison induit l'inhibition du facteur de transcription NF- κ B (Nuclear Factor Kappa B) responsable de la transcription de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6) (Van Der Zanden et al., 2009). Un effet anti-inflammatoire périphérique est alors obtenu (Figure 13) permettant d'éviter que la réponse inflammatoire ne diffuse de façon systémique. La voie anti-inflammatoire cholinergique constitue ainsi un effet de frein protecteur sur la réponse immunitaire innée, protégeant l'organisme de lésions tissulaires provoquées par une réponse inflammatoire diffuse (Tracey, 2009), notamment dans des contextes de septicémie (Borovikova et al., 2000; van Westerloo et al., 2005), de lésions d'ischémie-reperfusion tissulaire (Bernik et al., 2002; Mioni et al., 2005), de choc hémorragique (Guarini et al., 2003), de pancréatite (van Westerloo et al., 2006) et de chirurgie digestive (Matteoli et al., 2013) expérimentaux.

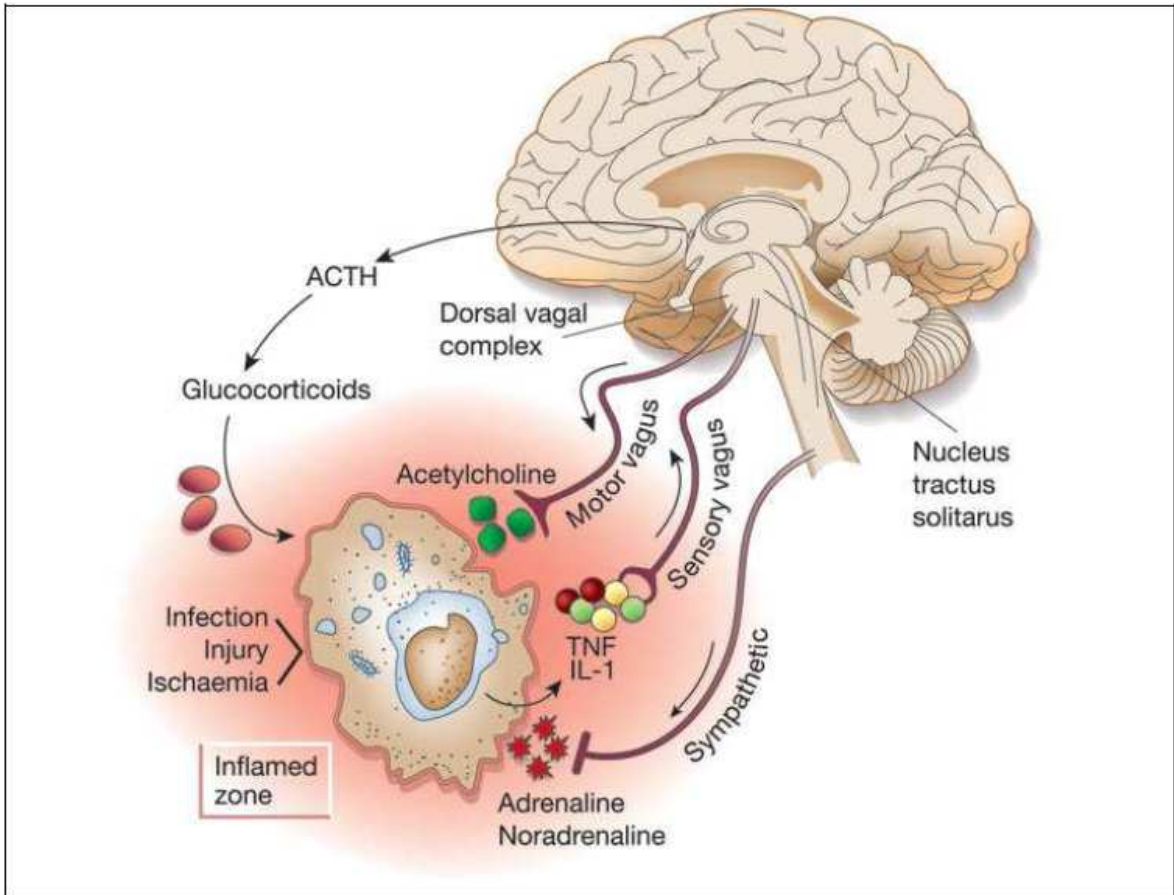


Figure 13 : La voie anti-inflammatoire cholinergique
D'après (Tracey, 2002)

Le réseau autonome central

Le réseau autonome central ou “central autonome network” (CAN) est un composant intégral du système de régulation par lequel le cerveau contrôle les réponses viscéromotrices, neuroendocrines, douloureuses et comportementales essentielles pour la survie de l'organisme. Le CAN régule l'activité des motoneurons préganglionnaires sympathiques et parasympathiques, neuroendocrines, respiratoires et sphinctériens (Benarroch, 1993), tout en intégrant les signaux provenant de l'extérieur de l'organisme. Jusqu'à récemment, l'existence du CAN avait été établie à partir d'expérimentations animales invasives (Benarroch, 1993; Saper, 2002). Depuis l'avènement des techniques de neuroimagerie, la mise en évidence de ces régions est devenue possible chez l'homme (Beissner et al., 2013; Critchley et al., 2011). Un nombre croissant d'études ont exploré le rôle de ces régions dans le contrôle végétatif au cours de tâches cognitives (Critchley et al., 2003; Matthews et al., 2004), affectives (Harrison et al., 2010; Knight et al., 2005; Urry et al., 2009) et motrices (Goswami et al., 2011; Wong et al., 2007), ainsi qu'au cours de stimulations sensorielles somatiques (Beissner et al., 2012; Critchley et al., 2000; Goswami et al., 2011; Napadow et al., 2013).

Les principales régions cérébrales impliquées dans le CAN sont le cortex insulaire, l'ACC, l'amygdale, l'hypothalamus (le noyau paraventriculaire en particulier), le thalamus, le précunéus, le MCC antérieur, la PAG (Figure 14) (Beissner et al., 2013) ainsi que, au niveau du TC et médullaire, le noyau parabrachial, le NTS, la formation réticulée et le raphé médian. Ces régions sont interconnectées (Figure 15), recevant des données viscérales et somato-sensorielles convergentes et contrôlant les efférences autonomiques, et génèrent des réponses autonomiques, endocriniennes et motrices stimulus-spécifique. Par ailleurs, leur activité est régulée en fonction de l'état comportemental instantané de l'individu.

Plusieurs niveaux de boucles existent au sein du CAN. Les boucles de contrôles entre le tronc cérébral (TC) et la moelle épinière interviennent dans la régulation rapide et à court terme de l'activité du SNA ; les réseaux hypothalamus-TC-moelle régulent les fonctions métaboliques et reproductives à plus long terme ; enfin, les boucles système limbique-hypothalamus-TC-moelle permettent la régulation autonome dans l'anticipation.

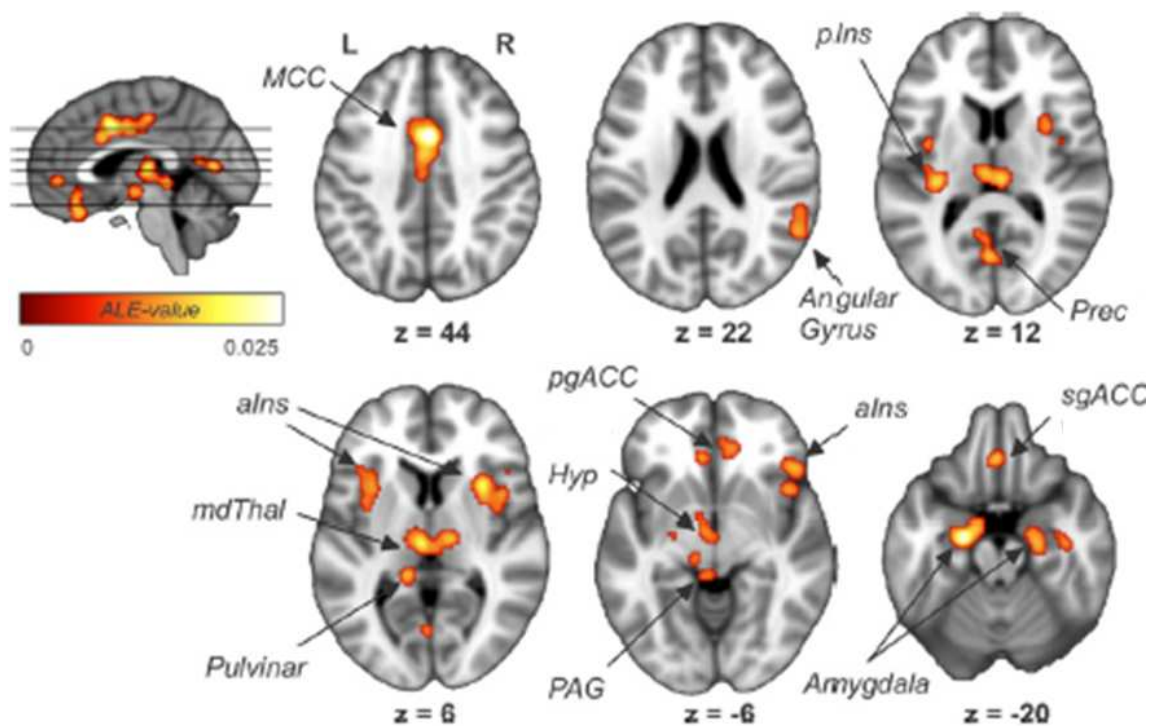


Figure 14 : Régions cérébrales impliquées dans réseau autonome central
 D'après (Beissner et al., 2013). pgACC : Cortex cingulaire antérieur prégenual ; Hyp : Hypothalamus ; aINS : insula antérieure, pINS : insula postérieure ; MCC : Cortex Cingulaire Médian ; PAG : Substance grise périaqueducule ; Prec : précunéus ; mdThal : Thalamus médiodorsal.

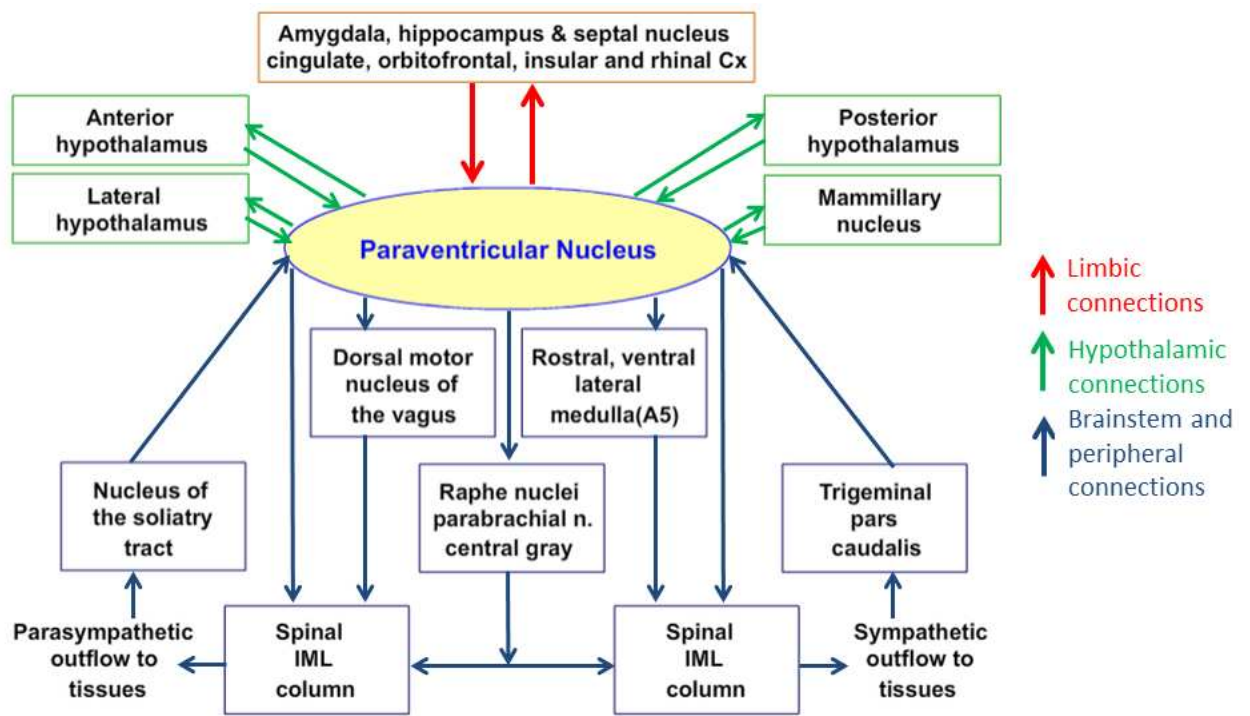


Figure 15 : Interconnections du réseau autonome central
D'après Dougherty P, Neuroscience Online, Ch3

La variabilité du rythme cardiaque

L'activité contractile du cœur est soumise à de nombreuses variations permettant la meilleure adaptation possible aux perturbations extérieures et intérieures à l'organisme. Ceci est possible grâce à l'innervation cardiaque extrinsèque provenant du SNA. L'activité spontanée du nœud sinusal est modulée par les branches efférentes sympathiques et parasympathiques (nerf vague) du SNA, aux actions antagonistes. Au repos, le nœud sinusal est sous le contrôle inhibiteur tonique direct du nerf vague (le droit surtout) et sous le contrôle inhibiteur indirect du parasympathique crânien via l'inhibition du centre sympathique spinal. Au cours d'une situation de stress, il existe une levée rapide du frein parasympathique, induisant une activation du sympathique et une augmentation de la fréquence cardiaque. L'hypothalamus (noyau paraventriculaire) a un rôle majeur dans cette situation, inhibant le vague et stimulant le sympathique via ses projections autonomiques sur le noyau moteur dorsal du vague et le tractus intermedio-latéralis (origine du sympathique spinal).

La variabilité du rythme cardiaque, plus communément désignée sous le terme anglo-saxon « Heart Rate Variability » (HRV), fait référence aux variations de durées continues séparant deux contractions cardiaques successives sur une période donnée, sous l'effet du tonus sympathique et parasympathique. L'analyse de l'HRV permet ainsi d'obtenir, de façon fiable, reproductible et non invasive, des indices reflétant le niveau d'activité du SNA ou l'équilibre fonctionnel du CAN.

Chez un sujet en bonne santé, il existe une arythmie sinusale respiratoire (ASR) : variation instantanée de la fréquence cardiaque avec les phases de cycle respiratoire. Il s'agit d'un phénomène physiologique imputable aux fluctuations des influx du X sur le noyau du tractus solitaire (NTS). Cette ASR, directement dépendante du tonus vagal, est le reflet de l'HRV.

L'analyse de l'HRV porte sur les fluctuations du temps séparant deux intervalles R-R successifs sur un enregistrement électrocardiographique. Trois types d'analyses de l'HRV peuvent être réalisés : analyse temporelle, fréquentielle et non linéaire.

- L'analyse temporelle est l'appréciation de la distribution et de la variance des intervalles R-R au cours du temps (Figure 16). Cette analyse permet la mesure de

variables issues de la mesure directe de l'intervalle R-R (NN pour « Normal-to-Normal interbeat intervals » et SDNN pour « Standard Deviation of Normal-to-Normal interbeat intervals ») et de variables issues de la différence entre les intervalles R-R (RMSSD pour « squared Root of the Mean of the Sum of the Squares of Differences between successive NN intervals », index très utilisé pour évaluer la variabilité à court terme de l'HRV; NN50 pour « number of interval differences of successive NN intervals greater than 50 ms ») qui sont de bons marqueurs de l'activité du SNAp.

- L'analyse fréquentielle de l'HRV est l'analyse de l'ASR en fonction des bandes de fréquences qui la composent (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996b; Yamamoto et al., 1991) (Figure 16):

- les hautes fréquences (HF) comprises entre 0,15 et 0,4 Hz. Elles sont un indicateur de la modulation du tonus vagal (Berntson et al., 1997; Hedman et al., 1995).

- les basses fréquences (LF) comprises entre 0,04 et 0,15 Hz, liées à l'activité du baroréflexe (Robbe et al., 1987). Elles reflètent à la fois l'activité sympathique et parasympathique contrôlant le nœud sinusal, mais avec une très nette prédominance de l'activité parasympathique en position couchée (Appelhans and Luecken, 2008; Reyes Del Paso et al., 2013)

- les très basses fréquences (VLF) comprises entre 0,0033 et 0,04 Hz. Elles traduisent les mécanismes de régulation à long terme, liés à la thermorégulation, à la vasomotricité, au système rénine–angiotensine. Les VLF sont essentiellement dépendantes de l'influx parasympathique (Taylor et al., 1998).

- L'analyse non linéaire de l'HRV permet d'estimer la corrélation interne entre les R-R successifs et ainsi de définir le comportement stochastique du cœur. SD1 (ms) reflète l'activité parasympathique cardiaque, tandis que SD2 (ms) est le reflet de l'activité sympathique et parasympathique (Figure 17).

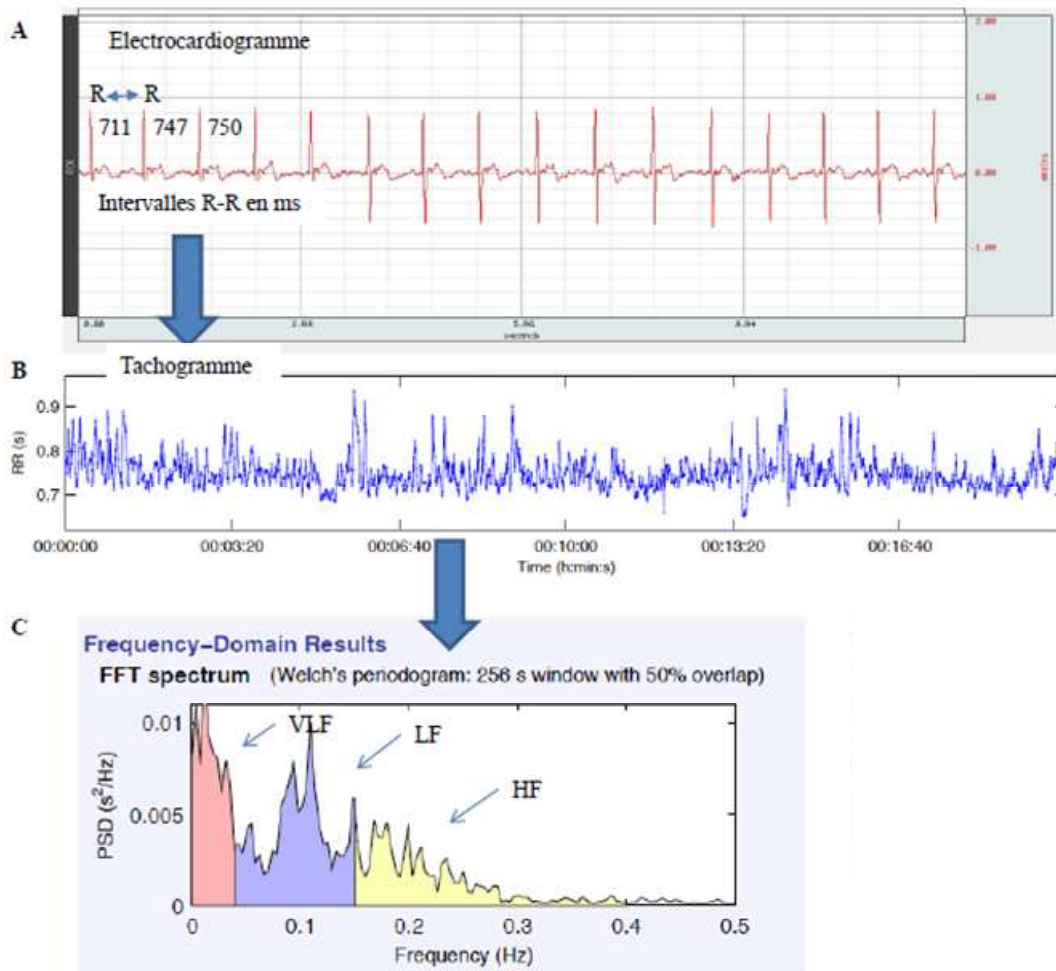


Figure 16 : Analyse temporelle et fréquentielle de la variabilité cardiaque. A. Electrocardiogramme et variabilité de la durée des intervalles RR successifs. B. Représentation des variations de l'intervalle RR (sec) au cours du temps d'enregistrement. C. Analyse fréquentielle de la variabilité du RR par transformée de Fourier. En abscisse les bandes de fréquence (Hz) et en ordonnée la densité de puissance spectrale (sec^2/Hz)
D'après (Pellissier, 2013)

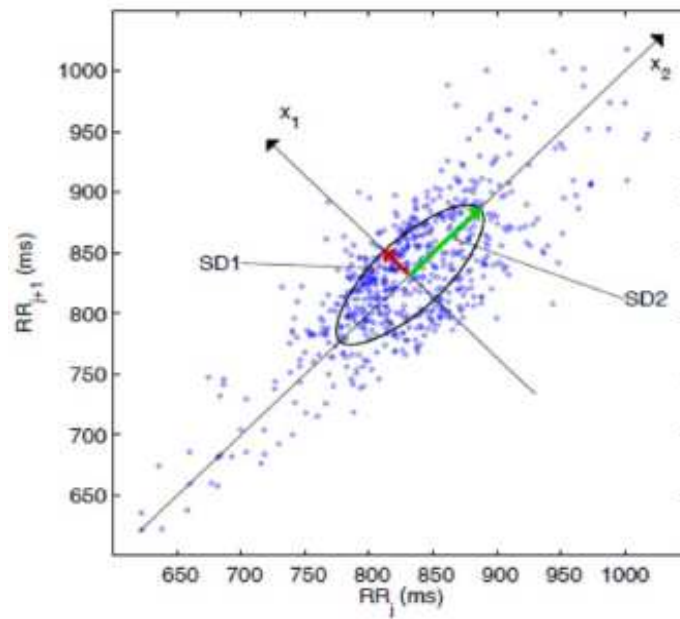


Figure 17 : Analyse non linéaire de la variabilité cardiaque
 SD1 (ms) est l'indice de variabilité à court terme reflétant l'activité parasympathique dans le noeud sinusal. SD2 (ms) est l'indice de variabilité à long terme représentant les activités sympathique et parasympathique dans le noeud sinusal.
 D'après (Pellissier, 2013)

L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien

L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS) ou axe corticotrope prend sa source dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (NPV). Le NPV reçoit l'information provenant des noyaux amygdaliens, de l'hippocampe, du cortex préfrontal, du locus coeruleus et du NTS, concernant notamment le stress et l'homéostasie hormonale. Le NPV est relié à l'hypophyse, aux centres du tronc cérébral et de la moelle épinière qui commandent le système nerveux végétatif. Les neurones parvocellulaires du NPV produisent la corticotropin releasing hormone (CRH) tandis que la zone magnocellulaire libère la vasopressine, les deux hormones principales qui stimulent la sécrétion de l'hormone adrénocorticotrope ACTH. La stimulation de ces neurones au cours du stress entraîne la libération de CRH dans la circulation porte hypophysaire à partir de l'hypothalamus (Rivest et al., 2000). Le CRH se lie à ses récepteurs au niveau de l'hypophyse ou glande pituitaire antérieure, stimulant la production d'ACTH. La vasopressine exerce un effet potentialisateur sur le CRH pour la libération sanguine de l'ACTH. Au niveau cortico-surrénalien, l'ACTH induit la libération de cortisol. Par une boucle de rétrocontrôle négatif, l'élévation du cortisol circulant freine l'axe HHS à plusieurs niveaux (hypophyse, hypothalamus, hippocampe). L'ACTH et le corticotropin releasing factor (CRF) agissent également comme inhibiteur au niveau hypothalamique par d'autres boucles de rétroaction négative (Figure 18).

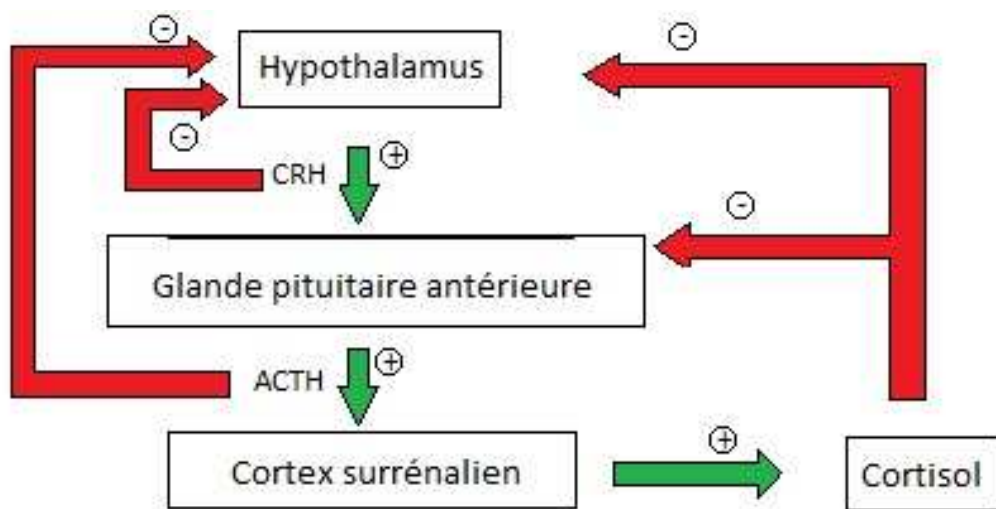


Figure 18 : Boucle de rétrocontrôle de l'axe hypothalamo-hypophyséo-surrénalien
 CRH: Corticotropin releasing hormone; ACTH: Adrenocorticotrophin hormone

Maladie de Crohn

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI), évoluant par poussées d'inflammation, entrecoupées de périodes de rémission dont il est impossible de prédire la fréquence et la gravité, et ayant une morbidité élevée. C'est une maladie complexe et d'étiologie plurifactorielle, où interviennent une susceptibilité génétique individuelle, des facteurs environnementaux et une altération du microbiome intestinal induisant et perpétuant une réponse inflammatoire.

Cette maladie a été décrite pour la première fois en 1932 aux États-Unis par le D^r Burrill Bernard Crohn (1884-1983), chirurgien digestif au Mount Sinai Hospital de New York.

Épidémiologie

L'incidence des MICI, toutes tranches d'âge confondues, a augmenté de façon dramatique sur les 50 dernières années dans les pays occidentaux, passant de 1-4 nouveaux cas par an et pour 100 000 personnes à 6-15/100 000 (Cosnes et al., 2011) (Figures 19, 20 et 21). Une revue systématique récente (Molodecky et al., 2012) reprenant les données de 167 études européennes, nord-américaines, asiatiques et du Moyen Orient a montré que l'Amérique du Nord était le continent le plus touché, avec une incidence de 20 nouveaux cas par an et pour 100 000 personnes, suivie de l'Europe avec une incidence de 13/100 000 puis de l'Asie et du Moyen Orient avec une incidence de 5/100 000. Un gradient nord-sud de l'incidence des MICI a été décrit en Europe et aux États-Unis. En France, l'incidence de la MC est significativement plus élevée que la moyenne nationale dans les régions du nord-est (Nord-Pas de Calais, Picardie, Champagne-Ardenne et Lorraine) et plus faible dans les régions du sud et de l'ouest (Bretagne, Aquitaine, Midi-Pyrénées, Rhône-Alpes, Limousin et Bourgogne) (Nerich et al., 2006). Par ailleurs, l'incidence de la MC varie avec l'origine ethnique (plus fréquente chez les sujets juifs d'origine Ashkénaze, par exemple (Zlotogora et al., 1990)).

L'incidence des formes pédiatriques de la MC dans les pays occidentalisés est de 3/100 000 environ ; il est estimé que 25% débute avant l'âge de 18 ans (Caprilli et al., 2006). Il

existe plusieurs pics d'apparition de la MC : un pic vers l'âge de 4-5 ans (Lehtinen et al., 2011), un pic dans l'adolescence et chez l'adulte jeune, et un 3^{ème} pic vers la 6^{ème} décennie (Baldassano and Piccoli, 1999). Tandis que l'incidence et la prévalence de la MC semblent tendre à se stabiliser chez l'adulte dans les zones à forte incidence (Europe du Nord et Amérique du Nord), elles continuent d'augmenter pour les formes à début pédiatrique (Chouraki et al., 2011), en particulier en Europe centrale et méridionale (Bousvaros et al., 2006).

La prévalence de la MC est la plus élevée en Europe (322/100 000), suivie des Etats Unis (319/100 000) (Molodecky et al., 2012). On estime à 60 000 le nombre de patients touchés en France en 2005, et à 80 000 au Canada en 2006. Environ 565 000 personnes en souffrent aux États-Unis (Kappelman et al., 2013). La MC touche habituellement plus fréquemment les femmes que les hommes, avec un ratio de 1,4/1 sauf pour les formes à début pédiatrique où filles et garçons sont touchés à part égale (Baron et al., 2005).

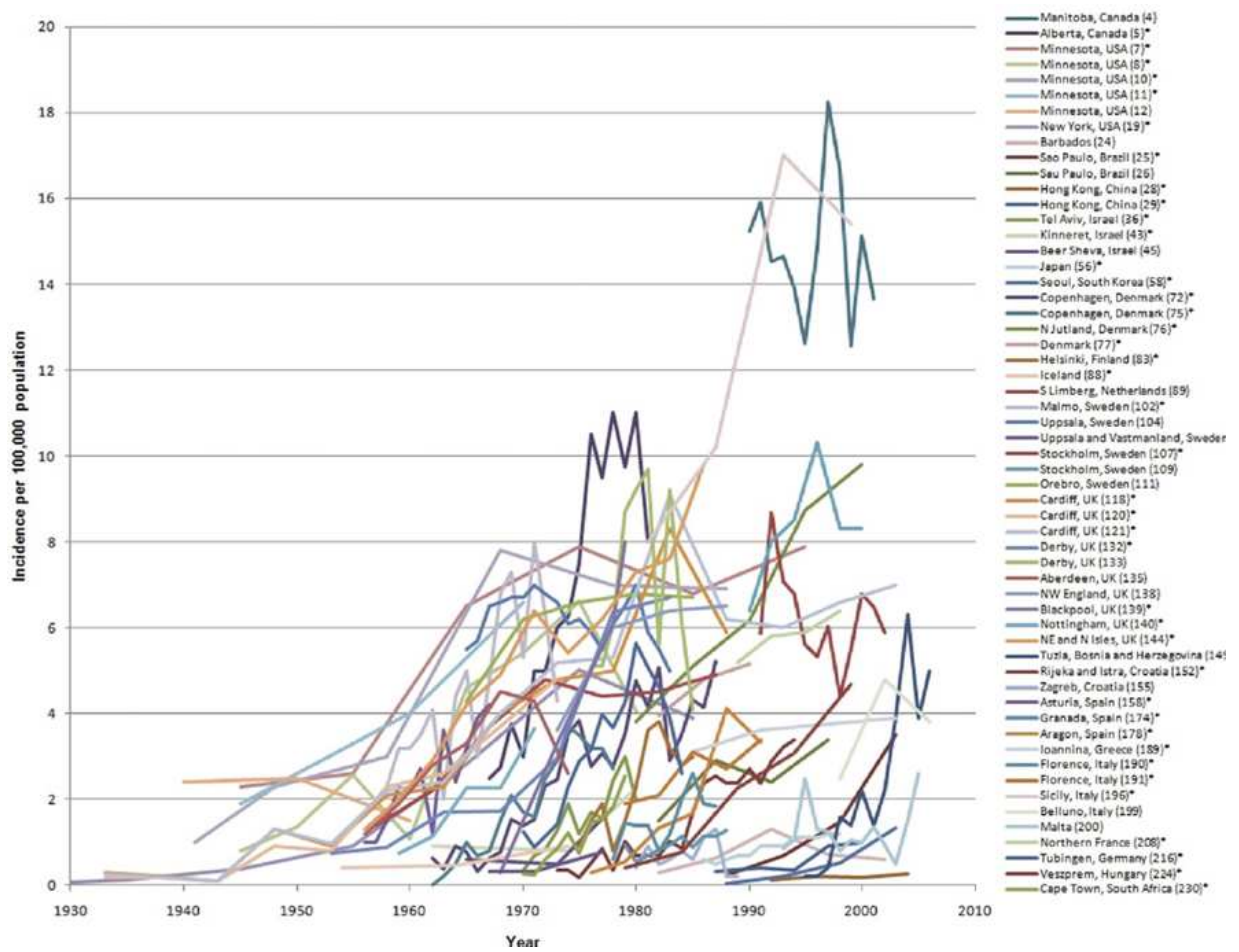


Figure 19 : Augmentation de l'incidence mondiale de la MC
 A partir d'études rapportant des données sur un minimum de 10 ans, avec au moins 3 points.
 D'après (Molodecky et al., 2012))

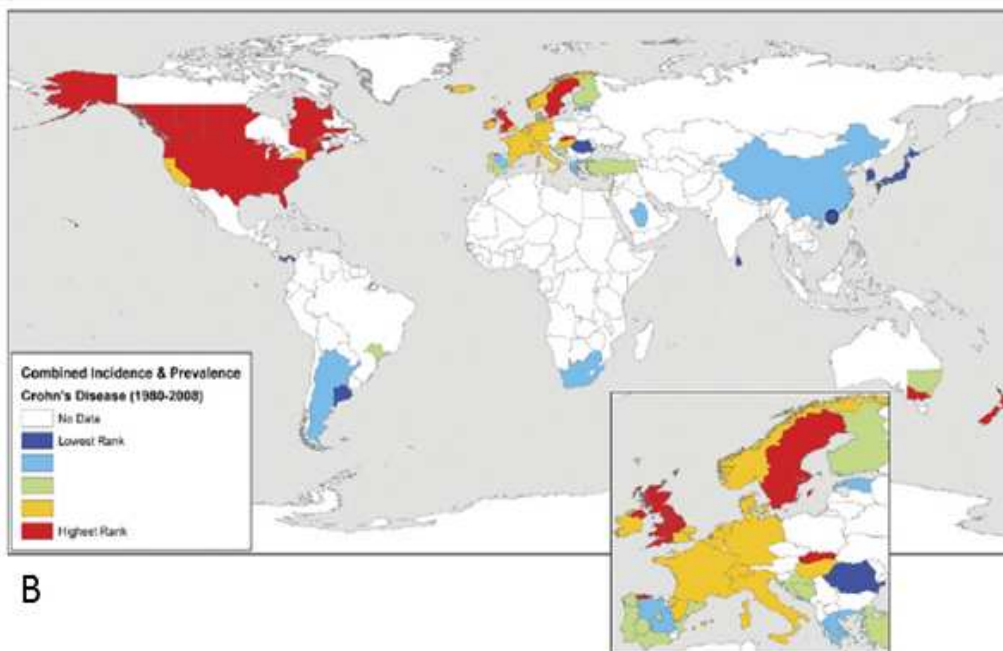
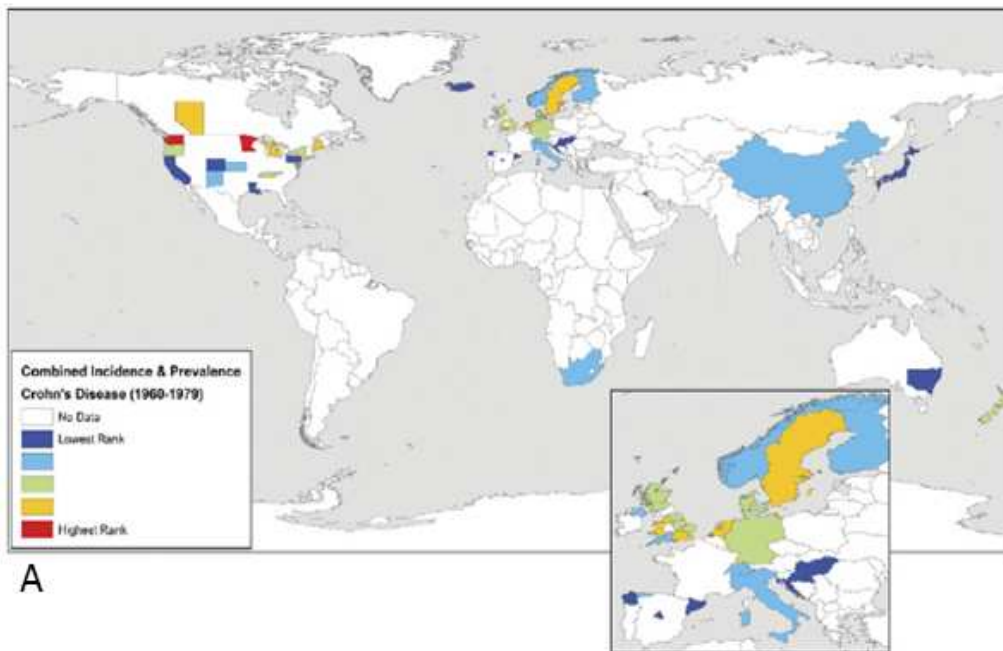


Figure 20 : Incidence et prévalence mondiale combinées de la MC (A) entre 1960 et 1980 et (B) à partir de 1980. D'après (Molodecky et al., 2012))
 Bleu foncé : 0-19^{ème} percentile : incidence < 1/100 000 et prévalence <7/100 000
 Bleu clair : 20-39^{ème} percentile : incidence 1-2/100 000 et prévalence 4-25/100 000
 Vert : 40-59^{ème} percentile : incidence 2-4/100 000 et prévalence 25-50/100 000
 Jaune : 60-79^{ème} percentile : incidence 4-6/100 000 et prévalence 50-150/100 000
 Rouge : 80-100^{ème} percentile : incidence 6-30/100 000 et prévalence 150-320/100 000.

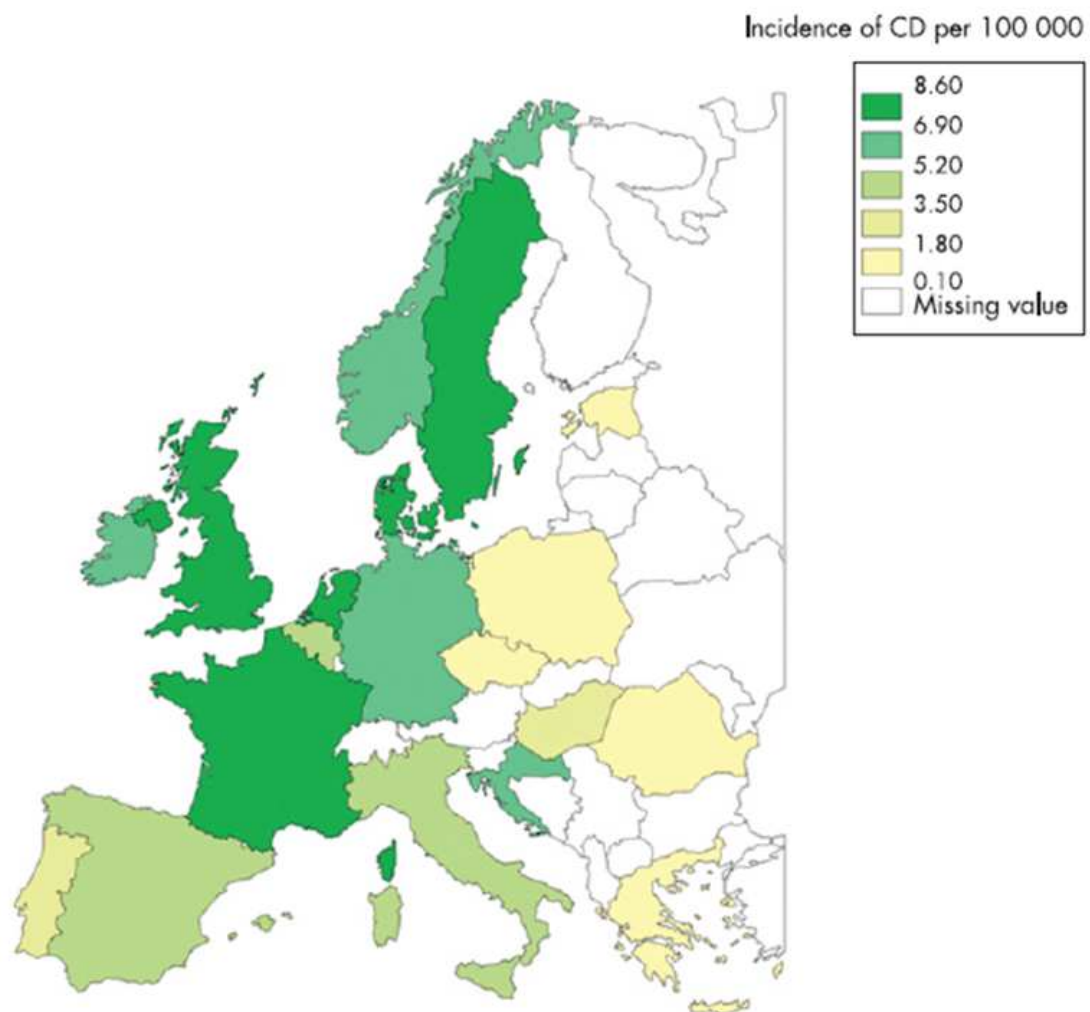


Figure 21 : Incidence de la MC en Europe dans les années 2000
D'après (Frangos, 2007)

Etiologie de la MC

L'étiologie de la MC paraît multifactorielle. L'hérédité (facteurs génétiques) et l'environnement (facteurs alimentaires, microbiologiques, comportementaux) interagissent pour constituer le terrain immunologique de la maladie. Il est probable que les patients aient une prédisposition génétique associée à des perturbations de la régulation immunitaire. La maladie peut ensuite être déclenchée par un certain nombre de facteurs environnementaux encore mal définis, et entretenue par une réponse immunitaire aberrante vis-à-vis de ces facteurs.

Facteurs génétiques

Les données épidémiologiques ont souligné le rôle de facteurs génétiques dans la pathogénie de la MC : notamment la prédisposition ethnique (plus grande prévalence chez les Juifs ashkénazes), l'agrégation familiale (environ 15% des patients ont un parent également affecté) et la concordance des jumeaux monozygotes (de 70% environ) supérieure à celle des jumeaux dizygotes. Une trentaine de gènes ont été impliqués dans la l'étiopathogénie et le pronostic de la MC. Ces gènes codent pour des protéines impliquées dans l'autophagie, la différenciation lymphocytaire, l'homéostasie et le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale, et des récepteurs de l'immunité innée (Van Limbergen et al., 2009).

A ce jour, les gènes les plus fortement impliqués dans la pathogénie et/ou le pronostic de la MC sont NOD2/CARD15 (gène codant pour une protéine de 1040 acides aminés possédant plusieurs domaines, dont deux domaines CARD intervenant dans la reconnaissance entre protéines impliquées dans les voies de l'apoptose et de l'activation de NF κ B), IL23R et ATG16L1 (gène codant pour la protéine ATG16L1 impliquée dans la dégradation des bactéries par voie autophagique).

Facteurs environnementaux

Les courbes d'incidence de la MC dans les pays industrialisés et en voie de développement suggèrent l'intervention de facteurs d'environnements liés au mode de vie occidental. De nombreux travaux ont eu pour objectif de les mettre en évidence. Cette recherche est ardue, car les facteurs « apparus dans le mode de vie occidental depuis la

seconde guerre mondiale » sont très nombreux et, sans doute, incomplètement répertoriés. Elle fait appel principalement à l'épidémiologie (études cas-témoin, corrélations géographiques, plus rarement études de cohorte) et aux études en laboratoire (recherche de microorganismes, étude de l'effet d'un facteur d'environnement sur la réponse immunitaire ou la muqueuse intestinale). Parmi les nombreux facteurs incriminés, un seul a un rôle établi dans la MC : le tabac (Ananthakrishnan, 2013).

Le tabac

Le tabac est le premier facteur environnemental ayant été retrouvé constamment associé à la MC (Ananthakrishnan, 2013). Les fumeurs ont deux fois plus de risque de développer une MC que les non-fumeurs. Le tabagisme favorise aussi le passage vers les formes sténosantes et pénétrantes (OR=3,8 dans l'étude de Lawrance et al. (Lawrance et al., 2013)). Les antécédents de tabagisme constituent également un risque moyen et persistant pendant plusieurs années après le sevrage. Les mécanismes exacts de cet effet délétère ne sont pas connus. Les cellules épithéliales intestinales expriment des récepteurs nicotiques à l'Ach (nAChRs), de même que les lymphocytes T. Les autres mécanismes proposés sont la modulation de l'immunité cellulaire, l'altération des profils et taux cytokiniques, la modification de la production du mucus colique, la production de radicaux libres de l'oxygène, des altérations de la microcirculation intestinale prédisposant à la formation de thrombi microvasculaires et des modifications de la flore intestinale. L'arrêt du tabac fait partie intégrante du traitement d'entretien des MICI.

Les agents infectieux

La flore intestinale est primordiale dans l'apparition d'une MC. Des études animales ont montré que les MICI ne se développaient pas dans un environnement stérile (Xavier and Podolsky, 2007). La diversité microbiologique de la flore intestinale de patients atteints de MICI est pauvre, avec une diminution des souches commensales aux propriétés anti-inflammatoires telles que *Faecalibacterium prausnitzii* et une surreprésentation de bactéries potentiellement pro-inflammatoires telles que les *Escherichia coli* entéro-invasifs (Dore and Corthier, 2010).

Par ailleurs, plusieurs agents infectieux ont été incriminés dans la genèse de la MC, mais à ce jour il n'y a pas de preuve qu'un seul facteur infectieux intervienne spécifiquement. La découverte de NOD2, dont les mutations entraînent un déficit de l'immunité innée, a

conduit à un regain de vigueur de la piste des bactéries intracellulaires, et notamment celle de *Mycobacterium paratuberculosis* (Over et al., 2011), dont la causalité dans la MC est le sujet d'une vieille controverse. *Mycobacterium paratuberculosis* est présent dans le lait non pasteurisé et l'eau potable ; récemment, son ADN a été mise en évidence dans les granulomes tuberculoïdes et le tissu intestinal de sujets atteints de MC (Autschbach et al., 2005; Ryan et al., 2002).

Enfin, selon « l'hypothèse hygiéniste » (Rook et al., 2004), l'hygiène a permis une baisse de la mortalité et de la morbidité infectieuses mais aurait éloigné l'homme de micro-organismes qui jouaient un rôle régulateur dans le fonctionnement du système immunitaire, tels que les helminthes, les lactobacilles et les mycobactéries saprophytes de l'environnement. La contrepartie de la diminution de la mortalité infectieuse serait donc l'augmentation des maladies dysimmunitaires inflammatoires et allergiques.

Les facteurs alimentaires

De nombreuses études se sont penchées sur le rôle des facteurs alimentaires dans la genèse des MICI. Une méta-analyse récente (Andersen et al., 2012) a conclu qu'un régime riche en protéines animales était associé à un risque plus élevé de MICI. Aucun lien de causalité ni aucune association statistique constante sur les différentes études épidémiologiques chez l'homme n'ont pu être établis pour la consommation de fibres, de sucres rapides, de macronutriments, les vitamines A,C,D,E et pour l'apport énergétique global.

Par ailleurs, l'alimentation des pays industrialisés contient une quantité croissante de microparticules comme l'oxyde de titane et le silicate d'aluminium. Selon une hypothèse récente, les microparticules se comporteraient comme des transporteurs d'antigène de la lumière vers la muqueuse intestinale. *In vitro*, les complexes formés par les antigènes et les microparticules sont de puissants stimuli des lymphocytes T et des macrophages (Lomer et al., 2002). Mais le rôle des microparticules est très difficile à étudier *in vivo*.

Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens

Une association positive entre consommation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et MC a été mise en évidence par Felder et al. (Felder et al., 2000). Les AINS peuvent provoquer des lésions muqueuses gastriques, intestinales et coliques et augmenter la perméabilité intestinale via l'inhibition de la cyclo-oxygénase (Felder et al.,

2000), ce qui induit une diminution de la synthèse de prostaglandines. L'inhibition des prostaglandines a été impliquée dans les MICI du fait de leurs effets immunorégulateurs, en particulier via l'inhibition du TNF α et l'induction de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL10 (Berg et al., 2002).

Les contraceptifs oraux

La contraception orale est un facteur introduit récemment dans le mode de vie occidental. Elle pourrait favoriser la formation de micro thrombi et d'infarctus focaux au niveau de la microvascularisation intestinale. Les œstrogènes induisent également une stimulation du système immunitaire, en particulier pour l'immunité humorale et la prolifération macrophagique (Khalili et al., 2013). Une méta-analyse a retrouvé un Odds Ratio de 1,44 pour la MC (Godet et al., 1995).

Les facteurs socio-économiques et niveau d'exercice physique

La majorité des études a retrouvé un excès de représentation des couches socio-économiques favorisées et des professions sédentaires (Boggild et al., 1996). Ces résultats n'excluent pas une interaction entre le niveau socio-économique ou l'activité physique et l'environnement domestique.

Le stress et les facteurs psychologiques

Les patients identifient fréquemment le stress et, dans une moindre mesure, les variables psychologiques négatives (dépression, humeur négative) comme des facteurs majeurs influençant la survenue de rechutes (Moser et al., 1993). Une étude sur la cohorte MICI de Manitoba a montré que la prévalence du diagnostic de dépression était plus fréquente chez les patients que dans un groupe contrôle (27% versus 12%, odds ratio OR 2,2, intervalle de confiance de 95% 1,6-3) (Walker et al., 2008). Il est intéressant de noter que chez ces patients, le diagnostic de dépression précédait de 2 ans celui de MICI, ne pouvant donc être imputé au diagnostic et à la symptomatologie de la maladie. De plus, il a été montré que la survenue de rechutes était plus précoce chez les patients dépressifs (Mittermaier et al., 2004). Enfin, Bernstein et coll ont récemment mis en évidence que l'humeur négative et le stress perçu étaient les principaux facteurs déclenchants d'une rechute inflammatoire (Bernstein et al., 2010). Ces données soulèvent la question du caractère prédisposant éventuel de la dépression dans les MICI, possiblement via la

majoration de la réponse immuno-inflammatoire. Des voies communes potentielles ont été suggérées, impliquant un dysfonctionnement des circuits immunorégulateurs (Ghia et al., 2008; Rook and Lowry, 2008; Rosenkranz, 2007; Tache and Bernstein, 2009). Il est également possible que ces deux pathologies présentent une prédisposition génétique ou une susceptibilité à des facteurs environnementaux communs.

Par ailleurs, l'effet spécifique du stress sur la réaction inflammatoire et immunitaire est développé plus amplement dans le chapitre « Effet du stress dans la MC » (cf infra).

Symptomatologie

La MC peut atteindre tout le tube digestif, depuis la bouche jusqu'à l'anus ; trois zones sont plus souvent touchées : l'iléon (30%), le colon (30%) et iléo-colon (30%) et la région ano-périnéale. La MC évolue par poussées d'inflammation, entrecoupées de périodes de rémission dont il est impossible de prédire la fréquence et la gravité. Au moment des poussées, la symptomatologie associe des douleurs abdominales, parfois de type sub-occlusif, qui sont souvent au premier plan, des nausées et/ou vomissements, une altération de l'état général avec amaigrissement, des diarrhées, des lésions ano-périnéales (fissure, fistule, abcès), et d'éventuelles atteintes extra-digestives (articulaires, cutanées, oculaires) (Rubio and Ruemmele, 2009).

Traitement et rémission dans la MC

Thérapies médico-chirurgicales conventionnelles

Le traitement de la MC en poussée associe un traitement d'attaque dans le but d'obtenir une rémission (nutrition entérale polymérique voire corticothérapie, thérapies biologiques : anti-TNF), et un traitement au long cours (le plus souvent immunosuppresseur type azathioprine et/ou biothérapies: anti-TNF) dans le but de maintenir cette rémission dans le temps. La rémission est généralement définie sur des critères cliniques (score CDAI < 150) et biologiques (CRP négative). Cependant la cicatrisation muqueuse est de plus en plus considérée comme un élément essentiel de la rémission de par son caractère

prédictif sur l'évolution de la maladie (Baert et al., 2010; Schnitzler et al., 2009). Cette cicatrisation peut être évaluée par le biais de l'endoscopie, de l'imagerie (échographie abdominale, entéro-IRM) et par le dosage de la calprotectine fécale. La calprotectine est la principale protéine enzymatique du cytoplasme des polynucléaires neutrophiles activés, dont l'excrétion dans les selles serait directement proportionnelle au degré d'inflammation de la muqueuse intestinale (Summerton et al., 2002; Tibble et al., 2000a). Elle reflète donc l'inflammation muqueuse et apparaît de plus en plus comme un excellent marqueur non invasif dont la normalité est corrélée à la rémission clinique, endoscopique et histologique (Sipponen et al., 2008). Elle permet également de prédire le risque de rechute chez des patients asymptomatiques (Tibble et al., 2000b) notamment en post-opératoire et de distinguer une origine inflammatoire d'une origine fonctionnelle devant des symptômes atypiques de poussée (Schoepfer et al., 2008). Le traitement chirurgical est réservé aux patients ayant développé des complications (sténoses, fistules) et aux formes réfractaires aux traitements médicaux ; cette prise en charge est nécessaire chez environ 80% des patients atteints de MC à un moment donné (Bernell et al., 2000; Cosnes et al., 2002). Elle a un effet suspensif uniquement, avec 50-90% de risque de rechute clinique et/ou endoscopique à 5 ans (Moss, 2013; Rutgeerts et al., 1984) et nécessite un traitement post-opératoire pour prévenir une nouvelle poussée.

Thérapies comportementales et cognitives

Les thérapies comportementales (psychothérapie, méditation, hypnose, acupuncture) ont également une place importante dans le traitement de la MC, en complément des traitements médicamenteux conventionnels. En effet, elles ont le potentiel de diminuer le risque de rechutes (Keefer et al., 2011; Wahed et al., 2010) notamment post-opératoires et d'hospitalisations (Deter et al., 2007), et de diminuer la symptomatologie digestive et générale dans la MC (Garcia-Vega and Fernandez-Rodriguez, 2004; Keefer et al., 2012; Vogelaar et al., 2011). Ces thérapies ont montré un impact favorable sur la consommation de corticoïdes (Wahed et al., 2010) et la compliance médicamenteuse (Hommel et al., 2012; Keefer et al., 2012). Enfin une amélioration de la qualité de vie (Vogelaar et al., 2011; Wahed et al., 2010), de l'estime de soi, de la gestion du stress et du « coping »

(stratégies d'ajustement) (Grootenhuis et al., 2009), et une diminution de l'anxiété, de la dépression et du stress perçu (Keefer et al., 2012) ont été mises en évidence.

Sensibilité viscérale dans la MC

Il est estimé qu'environ 40% des patients ayant une MC en rémission prolongée sont amenés à développer une hypersensibilité viscérale, avec des tableaux évocateurs du syndrome de l'intestin irritable (SII) associant douleurs abdominales en l'absence d'inflammation muqueuse, ballonnement et troubles du transit (Halpin and Ford, 2012; Piche et al., 2010; Simren et al., 2002). Cette hypersensibilité se traduit par ailleurs par un seuil de douleur viscérale à la distension rectale abaissé (Faure 2008 ; Ritchie 1973). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette hypersensibilité viscérale chronique: 1) la neuroplasticité centrale et des voies afférentes viscérales induite par une inflammation muqueuse peut persister au-delà de la lésion tissulaire (Geboes 1998 ; Lomax 2005) ; 2) la sensibilisation des cellules immunitaires par l'inflammation muqueuse intestinale, dont l'activation ultérieure peut induire une récurrence de l'inflammation (Verma-Gandhu 2006) ; 3) une activation chronique des voies de sensibilité afférente viscérale par l'inflammation chronique de bas grade ; 4) un dysfonctionnement du SNA avec une dysautonomie (Pellissier 2010) ; 5) un défaut de filtration spinale des sensations viscérales ascendantes ; 6) un défaut de fonctionnement des contrôles inhibiteurs descendants déclenchés par stimulations nociceptives (Schweinhardt 2010).

A contrario, les patients n'ayant pas de SII semblent avoir une diminution de la sensibilité rectale : seuil de sensation à la distension rectale 1,5 fois plus élevé que chez des sujets sains (Mueller et al., 2002) ; seuil d'inconfort et sensation de besoin d'exonération respectivement 1,5 et 2 fois plus élevés (Bernstein et al., 1996)

Influence des facteurs affectifs et cognitifs dans la MC

Le modèle biopsychosocial (Drossman, 1998) est communément admis dans le SII et plus récemment dans la MC (Bitton et al., 2008; Caprilli et al., 2006): l'apparition et

l'expression clinique de la maladie résultent de l'interaction entre les déterminants psychosociaux et biologiques.

La morbidité élevée de la MC, sa chronicité, la symptomatologie invalidante et le caractère imprévisible des poussées sont à l'origine d'une altération marquée de la qualité de vie chez les patients, y compris en phase de rémission (Guthrie et al., 2002; Lix et al., 2008; Piche et al., 2010). La MC a un impact négatif sur la perception et la gestion du stress et de l'anxiété liée à la douleur et à la santé (Lix et al., 2008). Par ailleurs, le stress et les variables psychologiques ou « ajustement affectif » (anxiété, dépression, humeur négative, stress perçu) ont une place importante dans la pathogénie de la MC. Ainsi les patients rapportent fréquemment des événements de vie stressants (séparation familiale, difficultés financières, difficultés professionnelles) à l'initialisation de leur maladie ou à l'origine de la survenue de poussées (Bernstein et al., 2010; Collins, 2001; Li et al., 2004). La dépression favorise la survenue de rechutes (Mittermaier et al., 2004) et serait un facteur prédictif de moins bonne réponse à l'infliximab (Persoons et al., 2005).

Les patients sont ainsi amenés à développer des stratégies de « coping », qui peuvent être soit centrées sur le problème (l'individu fait face au problème, cherche une solution et essaie de le résoudre), soit centrées sur l'émotion (l'individu essaie de nier l'existence du problème en contrôlant l'émergence de l'émotion négative) ou sur la recherche de soutien social. Graff et al. (Graff 2009) ont montré que les patients ayant une MICI adoptent plus souvent des stratégies d'évitement, centrées sur l'émotion, et ce particulièrement dans le cadre de poussées de la maladie. Or la stratégie retenue par le patient peut à son tour influencer le cours de la maladie (Pellissier et al., 2010) : il a ainsi été montré que les patients ayant les meilleures stratégies d'ajustement avaient moins de rechutes (Bitton 2008), une meilleure tolérance des symptômes, une augmentation des activités et un meilleur état de santé digestif et général (Kiebles 2010).

Effet du stress dans la maladie de Crohn

Le stress constitue la réponse d'un organisme à une sollicitation environnementale (Selye, 1950). La réaction au stress est physiologique, mais peut devenir pathologique en cas de déséquilibre entre les capacités d'adaptation et besoins imposés par

l'environnement, conduisant à des troubles fonctionnels, métaboliques, voire lésionnels (Chrousos, 2009). Des travaux récents chez l'animal ont apporté de solides arguments pour une relation entre stress et évolution des MICI avec la démonstration d'un effet pro-inflammatoire du stress au niveau du tube digestif (Lennon et al., 2013; Melgar et al., 2008; Reber et al., 2011) via l'augmentation de la perméabilité digestive et une présentation antigénique anormale au système immunitaire, conduisant à une exacerbation et une perpétuation de l'inflammation intestinale (Meddings and Swain, 2000). Les résultats d'études cliniques transversales ou longitudinales chez l'homme se sont révélées contradictoires ; néanmoins, les patients et la plupart des experts européens s'accordent à considérer le stress comme un facteur majeur pouvant influencer le cours de la MC (Bernstein et al., 2010; Caprilli et al., 2006; Lerebours et al., 2007).

Sur le plan physiopathologique, le stress chronique met en jeu les axes HHS et hypothalamo-SNA (HSNA) (Stasi and Orlandelli, 2008) (Figure 22). L'axe HHS est la voie classique par laquelle le stress induit une adaptation. Le CRF et les urocortines Ucn1,2,3 sont les principaux neuromédiateurs du stress. Ils exercent leur action biologique sur les cellules cibles via 2 récepteurs : CRF1 et CRF2. Les situations de stress chronique peuvent conduire à une hyper ou à une hyporéactivité persistante de l'axe HHS. L'hyperréactivité chronique de l'axe HHS par échappement aux mécanismes de rétrocontrôle induit un hypercorticisme chronique, rencontré au cours de certaines formes de dépression (Mayer, 2000). A l'inverse, l'hyporéactivité par inhibition chronique de l'axe HHS, observée chez les patients en état de stress post-traumatique et dans des modèles d'inflammation chronique telle que l'arthrite rhumatoïde, est caractérisée par un hypocorticisme (Eijsbouts et al., 2005), compromettant ainsi la capacité de l'organisme à contrebalancer l'inflammation muqueuse par production d'agents anti-inflammatoires. Au cours des MICI, une prédisposition génétique pourrait favoriser l'hyporéactivité de l'axe HHS avec une inhibition de la réponse centrale à un stress chronique de type intéroceptif tel que l'inflammation muqueuse (Bonaz and Bernstein, 2013). Le CRF est également produit en dehors du système nerveux central, en particulier par les cellules entérochromaffines du côlon et le tissu lymphoïde. Le CRF tissulaire est augmenté dans les tissus inflammatoires, comme par exemple l'intestin de patients atteints de rectocolite

hémorragique (RCH) (Yuan et al., 2012). Des récepteurs du CRF sont également retrouvés dans les tissus périphériques, en particulier au niveau du côlon, sur des cellules immunitaires telles que les macrophages, mastocytes et lymphocytes T et sur les cellules endothéliales. Leur présence implique une action directe, autocrine ou paracrine, du CRF dans ces tissus. Alors que le CRF central a un rôle protecteur de l'inflammation, le CRF périphérique a plutôt un rôle pro-inflammatoire (Yuan et al., 2012).

Parallèlement aux systèmes CRFergiques central et périphérique, le stress met en jeu le système limbique, induisant des réponses comportementales, et le SNA qui module le SNE du TD dont les neurones entretiennent des contacts étroits avec les cellules immunitaires (Figure 23). Au cours d'un stress aigu, il existe classiquement une activation du SNAs et une inhibition du SNAp (Tache and Bonaz, 2007). Or, le sympathique a un rôle délétère sur l'inflammation aiguë comme en témoigne l'amélioration d'une colite expérimentale par la sympathectomie (McCafferty et al., 1997). En activant le SNAs, le stress altérerait les fonctions immunes (Elenkov et al., 2000). La noradrénaline d'origine sympathique ou les catécholamines circulantes affectent la circulation et la prolifération lymphocytaire et modulent la production de cytokines et l'activité fonctionnelle de diverses cellules lymphoïdes. Le stress entraîne aussi une augmentation de la perméabilité intestinale via l'action du CRF périphérique, impliquant les mastocytes (Vanuytsel et al., 2013). Cet effet sur la barrière intestinale serait un des éléments clés à l'origine de poussées de MICI : l'augmentation de la perméabilité, en facilitant la rétrodiffusion des bactéries intestinales dans la paroi intestinale, favoriserait un emballement de la réponse immunitaire. Le mastocyte est au centre des phénomènes de perméabilité et d'inflammation intestinale (Tache and Perdue, 2004). C'est un effecteur terminal de l'axe cerveau-intestin. Il possède des récepteurs adrénergiques ainsi que des récepteurs à la substance P et des récepteurs au CRF et a des contacts étroits avec des terminaisons nerveuses sympathiques et vagues, favorisant l'inflammation neurogène. Ces afférences répondent aux diverses substances mastocytaires et expriment des peptides inflammatoires ainsi que leurs récepteurs. Par ailleurs, la noradrénaline, la substance P et le CRF entraînent une dégranulation des mastocytes avec libération de protéases et de TNF α , sous la dépendance de l'action du SNE (Overman et al., 2012; Piche et al., 2008). Par ailleurs, les HHS et HSNA sont en lien avec le PFC et l'amygdale. Le PFC exerce un contrôle inhibiteur tonique sur l'amygdale (Thayer and Sternberg, 2006), qui exerce elle-

même un rétrocontrôle négatif sur l'axe HHS (Czeh et al., 2008). Or le stress induit une hypoactivité du PFC, levant ainsi le frein sur l'amygdale et conduisant à une hyporéactivité de l'axe HHS (Czeh et al., 2008). Par ailleurs, le PFC module le flux des afférences vagales. Enfin, le PFC a une action régulatrice sur l'activité des cellules immunitaires via le SNA (Tracey, 2002). Ainsi, une dérégulation de la balance PFC-amygdale conduit à une dérégulation pro-inflammatoire de l'axe HSNA, qui a été mise en évidence dans les MICI (Straub et al., 2002).

Enfin, l'augmentation de la perméabilité digestive induite par le stress conduit au franchissement de la barrière intestinale par des bactéries intestinales, induisant une activation de la réponse immunitaire muqueuse (Bailey et al., 2006) et une translocation secondaire vers les organes lymphoïdes (Kiliaan et al., 1998) avec stimulation du système immunitaire inné. De plus le stress modifie le microbiote intestinal (Bailey et al., 2011), accroissant la susceptibilité aux infections digestives (Bailey et al., 2010) ; par ailleurs, le SNAs, via la libération de catécholamines, stimule la croissance bactérienne (Lyte et al., 2011). Il existe en effet une communication pluridirectionnelle entre le SNC, le SNE et les agents microbiologiques commensaux et pathogènes.

En résumé, dans la MC, le rôle pathogène du stress peut être induit par (Bonaz and Bernstein, 2013):

- une diminution du système CRFergique central anti-inflammatoire, directe et indirecte via la levée du frein du PFC sur l'amygdale
- une augmentation du système CRFergique périphérique pro-inflammatoire
- l'activation de SNAs et des mastocytes avec hyperperméabilité intestinale
- l'inhibition de la voie anti-inflammatoire cholinergique via l'inhibition du SNAp
- l'effet propre de la dépression sur l'inflammation muqueuse
- une modulation du microbiote intestinal et des translocations bactériennes entretenant des réponses immunitaires et inflammatoires anormales

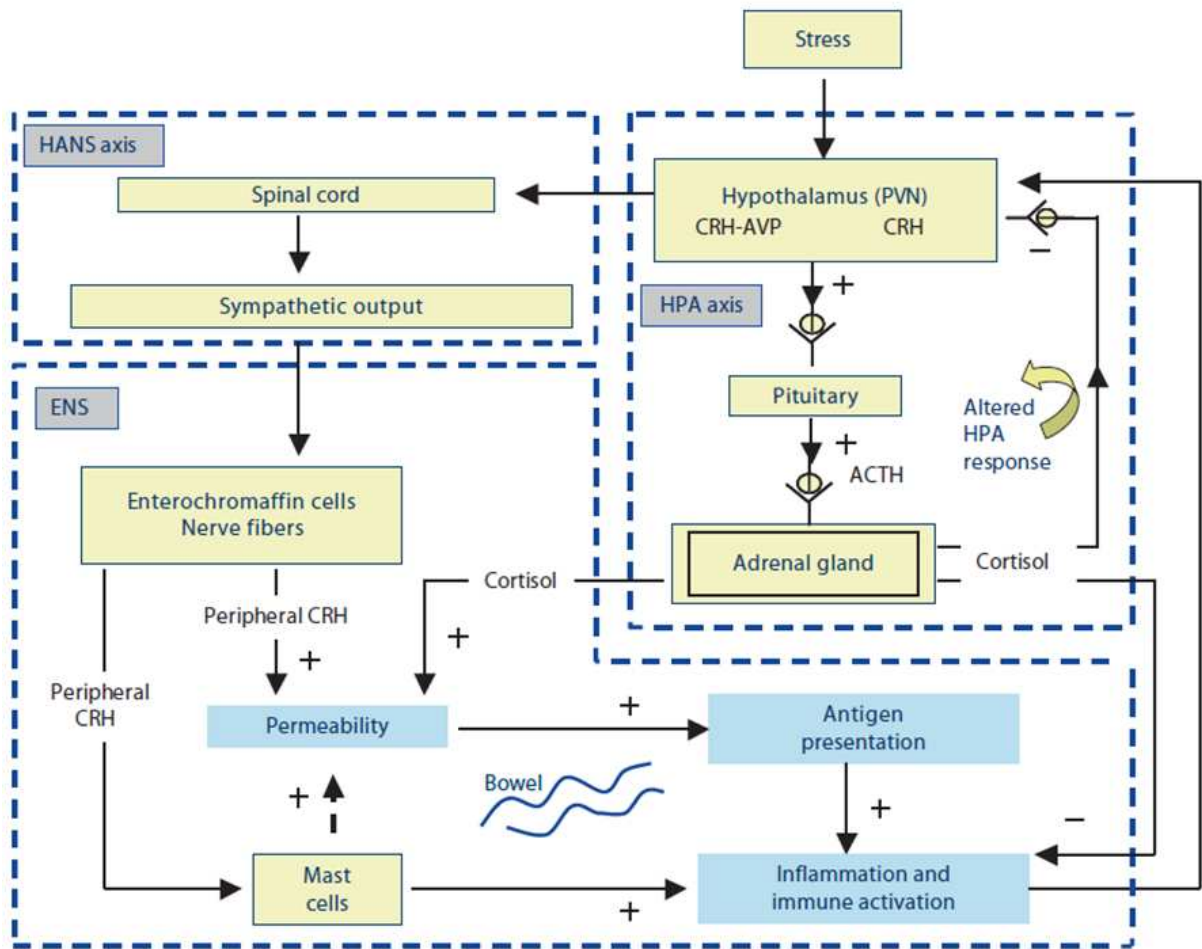


Figure 22 : Effets combinés des axes HHS et HSNA sur l'inflammation intestinale dans la MC
 Le stress peut provoquer l'activation de l'axe HSNA induisant une hypersécrétion du CRF périphérique avec une augmentation de la perméabilité intestinale, de la présentation antigénique luminale, qui, associée à une réponse anormale de l'axe HHS, peut conduire à une réponse immunitaire aberrante et une inflammation. D'après (Stasi and Orlandelli, 2008)

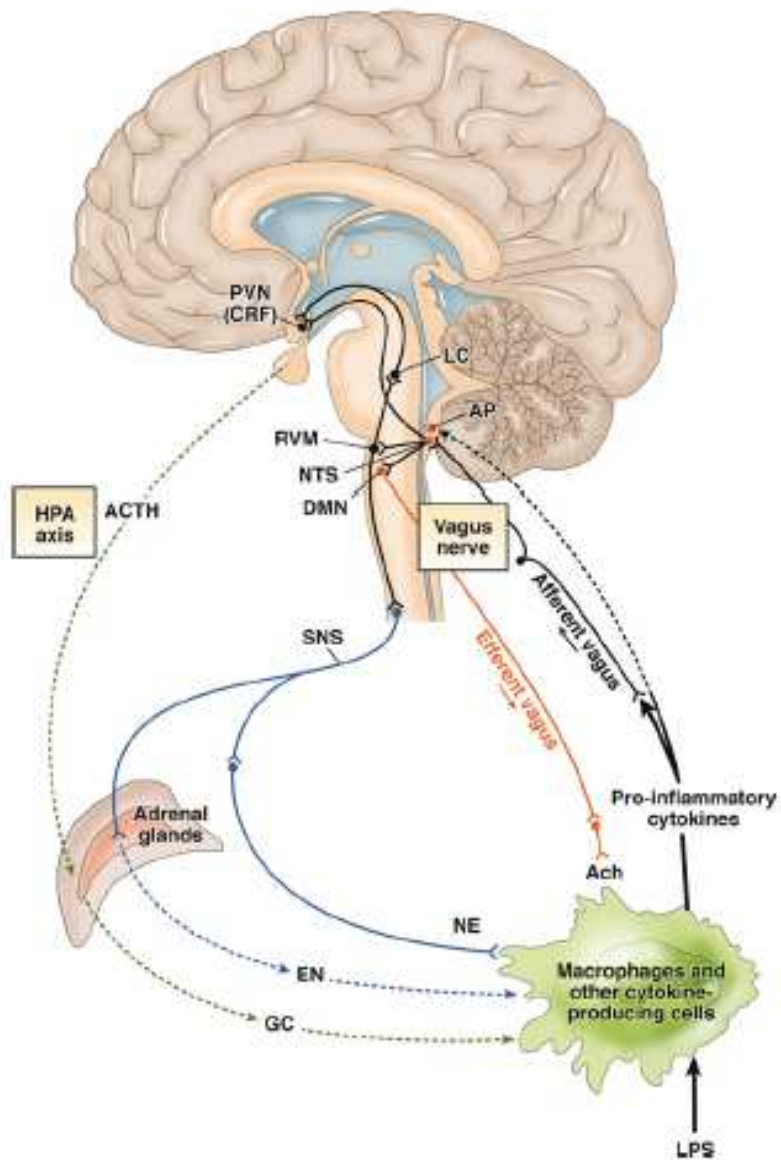


Figure 23 : Neural pathway of immunomodulation.

ACTH: hormone adrénocorticotrope hormone; AP, area postrema (organe circumventriculaire); DMN, Noyau moteur dorsal du vague ; EN : adrénaline ; GC : glucocorticoïdes ; LC : locus ceruleus ; NE : noradrénaline ; PVN : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; RVM : moelle rostrale ventrolatérale.

D'après (Bonaz and Bernstein, 2013)

Atteinte des SNE et SNA dans la MC

Le SNE et le SNA régulent la quasi-totalité des fonctions digestives, notamment la motricité intestinale, les échanges hydroélectrolytiques, les sécrétions enzymatiques digestives, la production de cytokines et la perméabilité épithéliale. Or chacun de ces aspects de physiologie digestive sont perturbés dans la MC. Par ailleurs, nous avons souligné l'importance du SNA, et en particulier du SNAp, dans la régulation de l'inflammation digestive. Il n'est donc pas surprenant que de nombreux travaux attestent de l'existence d'anomalies structurelles du SNE et d'un dysfonctionnement du SNA chez les patients ayant une MC, y compris en rémission (Geboes and Collins, 1998; Mouzas et al., 2002; Pellissier et al., 2010; Sharma et al., 2009; Straub et al., 2008; Taylor and Keely, 2007).

Anomalies structurelles et fonctionnelles du SNE

Des anomalies morphologiques du SNE ont été mises en évidence dans la MC, concernant à la fois le nombre et la taille des corps cellulaires neuronaux et des fibres nerveuses entériques (Figures 24 et 25) ainsi qu'une altération des cellules gliales entériques (Geboes and Collins, 1998; Taylor and Keely, 2007). Ces atteintes sont résumées dans le Tableau 1. L'hyperplasie serait en lien avec une croissance et une prolifération neuronale réactionnelles à l'inflammation intestinale.

Les modifications du SNE surviennent aussi de façon plus subtile, impliquant des altérations dans les microcircuits entériques. Ce phénomène de neuroplasticité implique le remodelage de synapses neuronales et survient suite aux changements architecturaux muqueux liés à l'inflammation digestive (Lomax et al., 2006).

Des altérations dans la neurotransmission ont également été mises en évidence. Des modifications de taux d'ACh, de substance P, du vasoactive intestinal polypeptide (VIP) et d'oxyde nitrique ainsi que dans l'expression de leurs récepteurs sur les cellules cibles (Figure 26) ont été rapportées au niveau des régions inflammatoires et saines (Goode et al., 2000).

Fibres nerveuses

Hypertrophie irrégulière ("lésions neuromateuses")	Sous-muqueuse muqueuse	+++ ++	(Antonius et al., 1960)
Hyperplasie	Sous-muqueuse myentérique	++ +	(Strobach et al., 1990)
Hypoplasie (fibres du SNAs spécifiquement)	Muqueuse	+	(Straub et al., 2008)
Lésions axonales (axones gonflés, vides, vacuoles) Atteinte jusqu'à 80% des axones	Tous les plexus Diffuses, extensives En zone saine et lésionnelle	++	(Dvorak and Silen, 1985) (Steinhoff et al., 1988)

Corps cellulaires neuronaux

Hypertrophie		++	(Siemers and Dobbins, 1974)
Hyperplasie		++	(Antonius et al., 1960)
Lésions		++	(Oehmichen and Reifferscheid, 1977)

Cellules gliales

Hyperplasie		++	(Geboes and Collins, 1998)
-------------	--	----	-------------------------------

Tableau 1 : Anomalies structurales du SNE dans la MC en microscopie électronique.
D'après (Geboes and Collins, 1998)

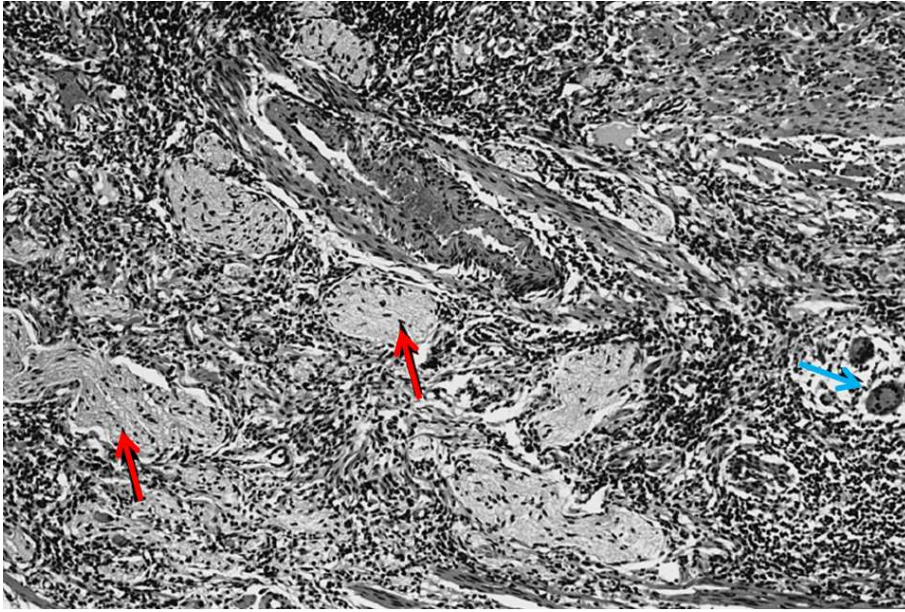


Figure 24 : Hypertrophie des fibres nerveuses sous-muqueuses dans la MC
Fibres nerveuses hypertrophiées (flèches rouges) associée un granulome (flèche bleue).
Microscopie optique grossissement x10. D'après (Geboes and Collins, 1998)

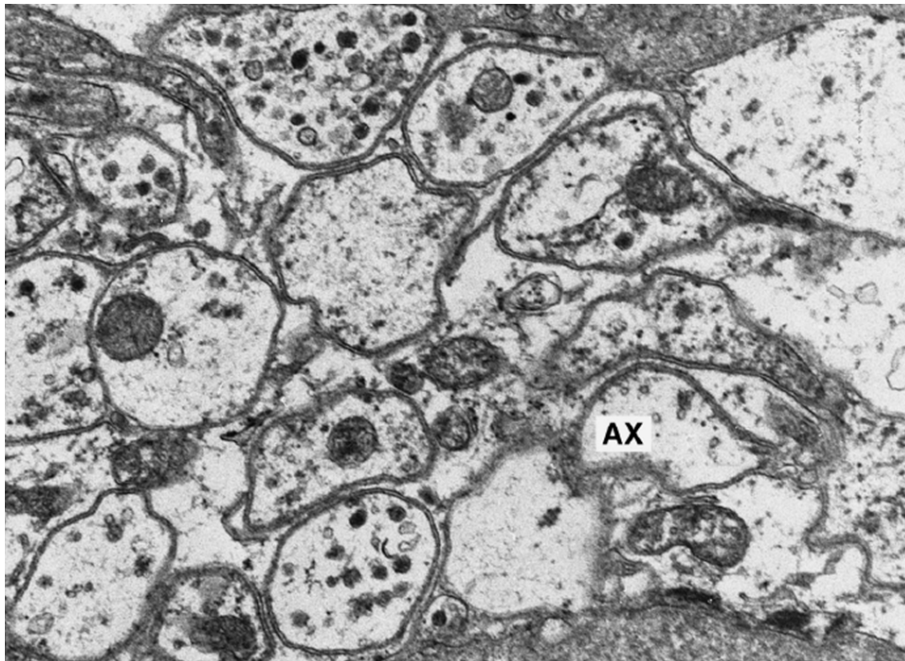


Figure 25 : Lésions axonales dans la MC.
Structures axonales gonflées, vides (AX : axone). Microscopie électronique grossissement x8000.
D'après (Geboes and Collins, 1998)

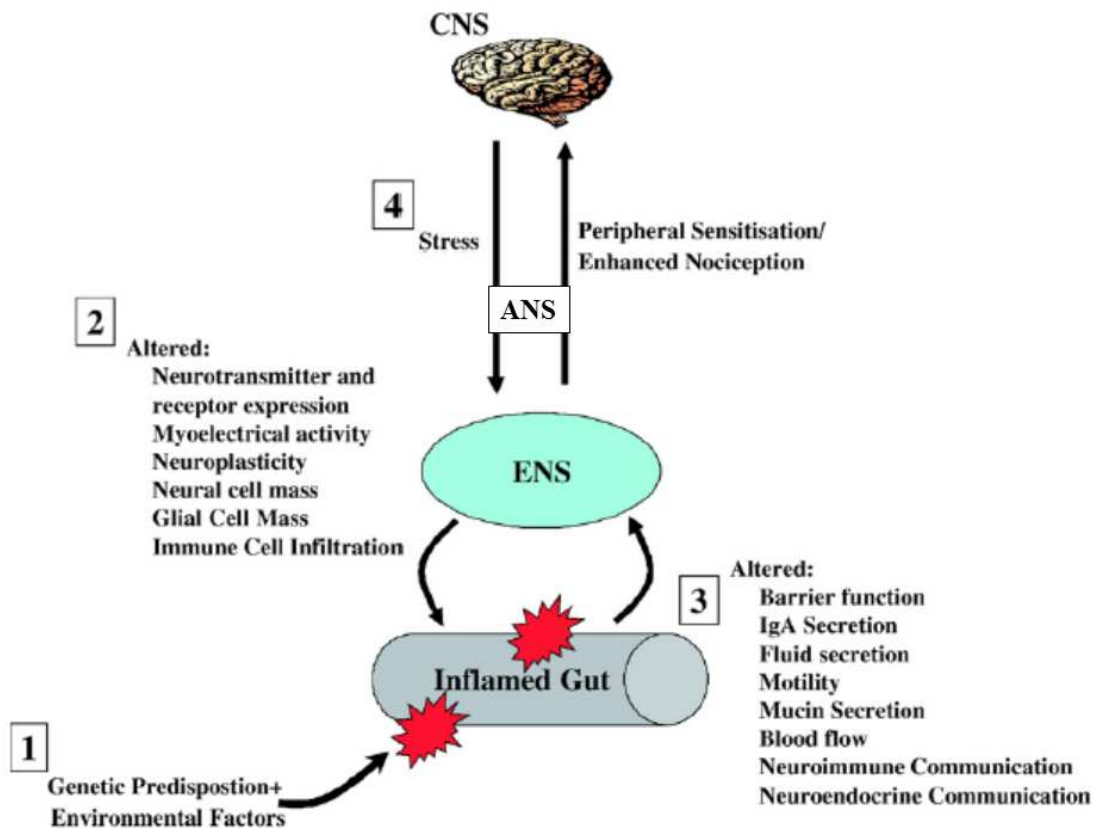


Figure 26 : Représentation schématique des altérations des SNE et SNA dans les MICI.

(1) : Chez les sujets prédisposés génétiquement, des facteurs environnementaux induisent l'apparition d'une réponse inflammatoire chronique. (2) : Sous l'influence de médiateurs pro-inflammatoires, le SNE subit un remodelage extensif qui provoque des altérations des fonctions intestinales. (3) : L'altération des fonctions intestinales, à son tour, contribue au remodelage du SNE, perpétuant ainsi un cercle vicieux pro-inflammatoire. (4) : Le SNC est lié au SNE via les branches sympathiques et parasympathiques du SNA. Le niveau de douleur perçue est amplifié par les mécanismes de sensibilisation périphérique. Le stress et l'anxiété liés à la maladie sont transmis au SNE et ont un impact négatif sur la progression de la maladie.

ENS: Enteric Nervous System (SNE); ANS: Autonomic Nervous System (SNA); CNS: Central Nervous System (SNC).

D'après (Taylor and Keely, 2007).

Dysautonomie dans la MC

Comme cela a été exposé précédemment, les informations viscérales en provenance du SNE modulent les régions efférentes prémotrices du SNA (Mayer et al., 2006), elles-mêmes sous le contrôle de régions cérébrales telles que l'amygdale, l'hippocampe et le PFC (Benarroch, 1993; Saper, 2002). Ces régions, qui peuvent moduler les fonctions intestinales, sont aussi impliquées dans la régulation de comportements émotionnels (humeur, anxiété, affects négatifs, douleur) et cognitifs (prise de décision, planification, recherche d'information) et donc dans le développement du comportement social, de la stratégie de coping et du bien-être (Seminowicz et al., 2004). De fait, de nombreuses données de la littérature suggèrent l'existence d'une dysautonomie chez les patients ayant une MC (Ohlsson et al., 2007; Taylor and Keely, 2007), quelle que soit la sévérité des symptômes, y compris en phase de rémission (Sharma et al., 2009).

Notre équipe a caractérisé les anomalies de la balance sympatho-vagale chez les patients avec MICI en rémission selon la pathologie (MC vs rectocolite hémorragique) et selon l'ajustement affectif (positif vs négatif) du patient (Pellissier et al., 2010). Nous avons montré que les patients de MC ayant un ajustement affectif positif (faibles scores d'anxiété, de symptomatologie dépressive, d'humeur négative et de stress perçu) mettaient en place des stratégies de coping positives (centrées sur le problème et non sur l'émotion) ; ces mêmes patients avaient un niveau d'activité sympathique plus élevé et un niveau d'activité parasympathique plus bas que ceux des sujets contrôles. De plus, notre équipe a récemment mis en évidence l'existence d'un découplage fonctionnel entre l'axe HPA et le tonus parasympathique vagal chez les patients atteints de MC en rémission reflet d'un possible découplage entre le cortex préfrontal et l'amygdale (Pellissier et al., 2013). Dans cette étude, il a été également montré que les taux plasmatiques de TNF-alpha sont inversement corrélés au tonus vagal.

En lien avec ces résultats, notre équipe a pu montrer l'intérêt d'utiliser les propriétés anti-inflammatoires du nerf vague, par neurostimulation vagale (NSV), dans un modèle de colite expérimentale au TNBS chez le rat (Meregnani et al., 2011). La NSV, effectuée 3h par jour pendant 5j sur des rats libres de leurs mouvements, conduisait à une diminution des marqueurs inflammatoires, une amélioration de l'index de colite et une réduction de la perte de poids corporelle. Ce travail a été poursuivi par une application de la NSV chez le

patient ayant une MC réfractaire aux autres thérapeutiques (Clarençon et al., 2013) (Figure 27). Cette étude pilote, a fait l'objet d'un Appel à Projet (AAP) Recherche Clinique Transitionnelle 2011 INSERM-DGOS et est toujours en cours (ClinicalTrials.gov id : NCT01569503). A ce jour, 4 patients ont été implantés, dont 2 sont en rémission profonde (clinique, biologique et endoscopique).

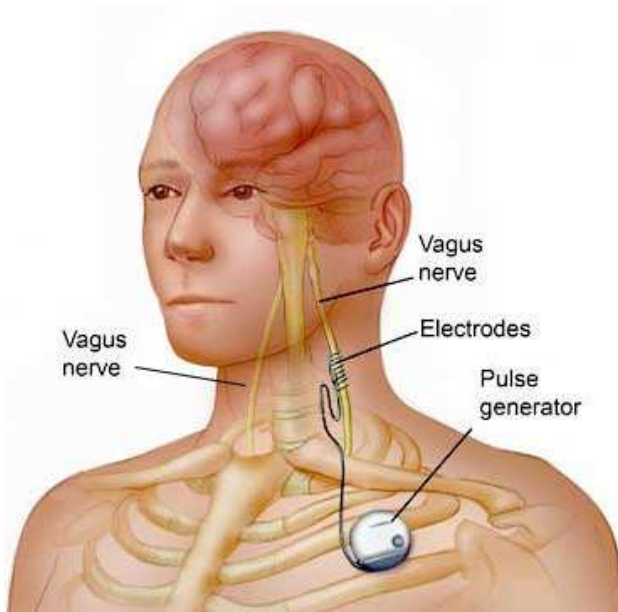


Figure 27 : Neurostimulation vagale.

Principes de l'IRM fonctionnelle

La technique d'IRM

L'IRM est une technique radiologique de diagnostic médical puissante qui fournit des images de grande précision anatomique. L'IRM est une technique non invasive et sans effets secondaires connus, basée sur le phénomène physique de résonance magnétique nucléaire. Il s'agit simplement d'observer la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons de l'eau contenus dans l'organisme, c'est à dire la réponse des noyaux d'hydrogène soumis à un champ magnétique extérieur et à une excitation électromagnétique. L'intensité recueillie pour un élément de volume (voxel) dépend de la concentration de l'eau et de paramètres de relaxation liés à l'environnement tissulaire à l'endroit considéré. Le contraste entre deux voxels peut être augmenté si les temps de relaxation des spins nucléaires (décrivant le retour à l'équilibre des noyaux après l'excitation) diffèrent dans les deux zones. Il est donc possible d'observer des altérations des tissus (telles que des tumeurs) grâce aux différences de densité et de relaxation de l'eau.

L'IRM fonctionnelle (IRMf)

L'IRMf est une application de la RMN permettant de visualiser, de manière indirecte, l'activité cérébrale. L'IRMf détecte des modifications du champ magnétique local dans les régions cérébrales actives. Les modifications de signal sont liées aux modifications de concentrations relatives en désoxyhémoglobine, molécule paramagnétique dont la présence provoque une hétérogénéité locale du champ magnétique. Lors d'une activation neuronale, il existe une augmentation du volume vasculaire et du débit sanguin cérébral local surcompensant la faible consommation d'oxygène par les neurones activés. Il en résulte une dilution de la désoxyhémoglobine et une diminution relative de la concentration en désoxyhémoglobine dans le lit capillaire et veineux à l'origine d'une augmentation locale du signal RMN ou contraste BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) (Ogawa et al., 1990). Entre une condition d'activation et de repos, on obtient

ainsi pour chaque voxel une variation du signal BOLD à chaque acquisition d'image. Les voxels présentant une variation du BOLD sont extraits par analyse statistique et forment ce qui est appelé une *carte paramétrique*. L'origine du signal est donc endogène et la technique ne nécessite pas d'injection de radiotraceur.

Pour améliorer la détection de ces modifications et la robustesse statistique, une succession d'alternance de périodes de repos et d'activité (paradigme) est réalisée. Ces acquisitions sont répétées sur plusieurs plans de coupe afin d'établir une cartographie des différentes zones fonctionnelles cérébrales. La technique présente une résolution spatiale de l'ordre de quelques millimètres. Grâce à la méthode d'imagerie rapide (« Echo-planar imaging »), on acquiert une image de contraste BOLD avec une résolution temporelle de l'ordre de 2 à 3s (Mansfield 1984). Comme les informations anatomiques sont acquises au cours du même examen, on accède à une identification anatomique précise des régions actives. Elle permet d'obtenir des résultats statistiquement significatifs sur des individus pris isolément, une corrélation aisée des données fonctionnelles et anatomiques et une acquisition volumique en des temps courts. Les images fonctionnelles sont ensuite traitées par un logiciel spécifique SPM8 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>). Le traitement repose sur l'analyse de la différence moyenne de signal entre période de repos et période de stimulation, au sein des différentes régions cérébrales (test de Student).

OBJECTIFS DE LA THESE

Les objectifs de ce travail de thèse étaient orientés sur trois axes :

- Rechercher les liens entre affects négatifs, tonus vagal et sensibilité viscérale dans la MC en rémission
- Etudier l'effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une douleur viscérale chez le sujet volontaire sain, et le rôle du SNA dans cette activité cérébrale
- Investiguer l'effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une douleur viscérale chez le patient ayant une MC en rémission, par rapport au sujet contrôle.

Lien entre affects négatifs, tonus vagal et sensibilité rectale dans la MC en rémission

Le but était d'étudier les liens entre les affects négatifs (dépression, anxiété, mauvaise estime de soi), le tonus vagal et la sensibilité viscérale au cours d'une distension rectale chez les patients ayant une MC en rémission, et sans symptômes de trouble fonctionnel intestinal.

Effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une douleur viscérale chez le sujet volontaire sain et rôle du SNA

Le but de cette analyse était d'explorer l'effet de l'incertitude dans l'anticipation et la perception d'une douleur viscérale par distension rectale chez des sujets volontaires sains, par une étude en IRMf cérébrale, 1) en identifiant les régions cérébrales activées et/ou désactivées au cours de l'anticipation incertaine versus certaine de la douleur ; 2) en examinant l'impact sur cette activité cérébrale de la HRV, des variables psychologiques individuelles et des cotations rétrospectives de l'anxiété perçue au cours de la période d'anticipation.

Effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une douleur viscérale chez le patient ayant une MC en rémission par rapport au sujet contrôle

Notre objectif principal était de rechercher en IRMf, chez des patients ayant une maladie de Crohn en rémission versus chez des sujets volontaires sains, des anomalies

modifications d'activation cérébrale au cours de l'anticipation certaine et incertaine d'une douleur viscérale induite par distension rectale, notamment au niveau des zones impliquées dans l'intégration et le traitement du message nociceptif et dans les processus de modulation cognitivo-affective de la douleur.

Nos objectifs secondaires étaient d'analyser :

- l'effet de la HRV au cours de cette anticipation
- l'impact de la vulnérabilité émotionnelle et psychologique sur l'activité cérébrale, chez les patients par rapport aux sujets témoins, en intégrant dans l'analyse les scores de symptomatologie dépressive, d'anxiété, de sensibilité à la douleur viscérale, de peur de la douleur, des stress de la petite enfance et des stratégies d'ajustement établis par auto-questionnaires.

METHODOLOGIE

Ce travail a été réalisé en collaboration avec les Professeurs Lukas Van Oudenhove et Jan Tack des équipes de Gastroentérologie, Psychiatrie et Physiopathologie du CHU de Louvain, Belgique, qui réalisaient en parallèle une étude sur l'effet de l'anticipation certaine et incertaine d'une douleur viscérale sur distension gastrique chez des sujets présentant une dyspepsie fonctionnelle ; projet de recherche qui a été accepté par le Comité d'Ethique du CHU de Louvain (ref. B32220109164, 13 août 2010).

Patients

Onze patients, âgés de 18 à 60 ans, d'origine caucasienne, présentant une MC iléale et/ou colique en rémission depuis au moins 6 mois, ont été recrutés au cours d'une consultation de suivi dans la Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie du CHU de Grenoble. Le diagnostic de MC avait été établi sur des critères cliniques, biologiques, endoscopiques, radiologiques et histologiques.

Les critères d'inclusion des patients étaient les suivants :

- Age entre 18 et 60 ans,
- Droitier,
- Patient présentant une MC iléale et/ou colique définie par des critères cliniques, biologiques, endoscopiques et anatomopathologiques,
- Absence d'atteinte rectale ou ano-périnéale passée ou présente,
- Rémission clinique (CDAI < 150) et biologique (CRP normale et calprotectine fécale < 50µg/g),
- Affiliation à la Sécurité Sociale.
- Traitement de la MC autorisé : 5-aminosalicylés depuis au moins 4 semaines avec une dose stable depuis au moins 2 semaines ; immunosuppresseurs (azathioprine, 6-mercaptopurine, methotrexate) depuis au moins 12 semaines avec une dose stable depuis au moins 4 semaines ; anti-TNF depuis au moins 3 mois avec une dose stable depuis au moins 1 mois ; absence de traitement par corticoïdes depuis au moins 15 jours,

- Patient capable de comprendre et de suivre les instructions nécessaires à la conduite de l'essai, et ayant donné son consentement par écrit pour l'étude,
- Affiliation à la Sécurité Sociale

Les critères de non-inclusion des patients étaient les suivants :

- Sujet de moins de 18 ans et de plus de 60 ans,
- Contre-indications de l'IRM: présence intra-corporelle de particules ferro-magnétiques (implants métalliques, pace-maker, éclats d'obus, plombs de chasse...), claustrophobie,
- Existence d'une affection sévère sur le plan général (cardiaque, respiratoire, hématologique, rénale, hépatique, cancéreuse),
- Existence d'affection organique digestive (gastrite, calculs biliaires, ulcère duodéal, mégacolon, colite inflammatoire en poussée),
- Existence ou antécédent d'affections malignes gastro-intestinales,
- Antécédent de chirurgie digestive abdominale en dehors de l'appendicectomie, de l'hystérectomie, de cure de hernie inguinale ou d'hémorroïdectomie,
- Pathologie recto-anale ou périnéale active (hémorroïde, fissure anale ...),
- Présence d'un fécalome rectal,
- Présence de signes fonctionnels digestifs ou de symptomatologie ano-rectale (douleur abdominale, ballonnement, constipation, diarrhée, dyspepsie, impériosités ou incontinence fécales) au cours des 6 derniers mois
- Patient inclus dans un autre essai clinique et/ou thérapeutique,
- Patient traité par un médicament susceptible de modifier la sensibilité (antalgiques) et/ou la motricité digestive (inhibiteur calcique, antispasmodique, opiacés,...),
- Patient prenant de façon régulière des psychotropes (anxiolytiques, sédatifs, antidépresseurs, neuroleptiques),
- Patient présentant une pathologie pouvant modifier la sensibilité viscérale tel que diabète, maladie neuro-dégénérative,
- Personnes visées aux articles L1121-5 à L1121-8 du CSP.

L'absence de lésions rectales était vérifiée au cours d'une rectoscopie au tube souple. L'absence de signes fonctionnels digestifs ou de symptomatologie ano-rectale était vérifiée par un interrogatoire standardisé (critères de Rome III) et un examen clinique.

Sujets volontaires sains

Quinze sujets volontaires sains, âgés de 18 à 60 ans, d'origine caucasienne, droitiers, ont été recrutés via le Centre d'Investigation Clinique du CHU de Grenoble.

Les critères d'inclusion pour les sujets volontaires sains étaient les suivants :

- sujets âgés de plus de 18 ans et de moins de 60 ans,
- droitiers,
- appariés avec les patients pour l'âge et le sexe,
- absence d'antécédent médical ou chirurgical digestif sauf appendicectomie, hystérectomie, cholécystectomie, cure de hernie inguinale et/ou crurale,
- absence de symptomatologie digestive recherchée lors d'un interrogatoire standardisé,
- examen clinique digestif normal,
- obligation d'affiliation à la Sécurité Sociale,
- obligation de l'inscription au niveau du fichier national des personnes se prêtant à des recherches biomédicales sans bénéfice individuel direct.

Les critères de non-inclusion pour les sujets volontaires sains étaient les suivants :

- sujet de moins de 18 ans et de plus de 60 ans,
- contre-indications de l'IRM
- existence d'une affection sévère sur le plan général
- existence d'affection organique digestive (gastrite, calculs biliaires, ulcère duodéal, mégacôlon, colite inflammatoire en poussée),
- existence ou antécédent d'affections malignes gastro-intestinales,

- antécédent de chirurgie digestive abdominale en dehors de l'appendicectomie, de l'hystérectomie, de cure de hernie inguinale ou d'hémorroïdectomie,
- pathologie recto-anale ou périnéale active (hémorroïde, fissure anale ...),
- présence d'un fécalome rectal,
- sujet traité par un médicament susceptible de modifier la sensibilité et/ou la motricité digestive (inhibiteur calcique, antispasmodique, opiacés,...),
- sujet prenant de façon régulière des psychotropes (anxiolytiques, sédatifs, antidépresseurs, neuroleptiques),
- sujet présentant une pathologie pouvant modifier la sensibilité viscérale tel que diabète, maladie neuro-dégénérative,
- Personnes visées aux articles L1121-5 à L1121-8 du CSP.

Un consentement éclairé a été obtenu pour tous les participants avant inclusion dans l'étude. Le protocole de l'étude a été approuvé par le Comité d'Éthique du CHU de Grenoble (enregistré sous le numéro 11-CHUG-19) en date du 5 octobre 2011 et par l'AFSSAPS (enregistré sous le numéro 2011-A00900-41) le 23 août 2011.

Protocole expérimental

Les inclusions se sont déroulées de janvier 2012 à juin 2013. Le protocole expérimental comprenait 3 visites : la visite d'inclusion, le 1^{er} et le 2^{ème} jour de l'étude (Figure 28).

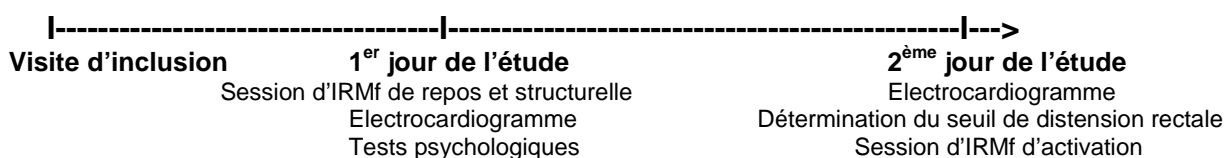


Figure 28 : Schéma des examens et des visites du protocole expérimental.

Session d'IRMf de repos et structurelle

L'acquisition des données IRM a été réalisée à la plateforme d'IRM "IRMaGe" de l'Université de Grenoble (<https://irmage.ujf-grenoble.fr/>). Toutes les images ont été acquises sur un scanner 3.0 Tesla (Philips Medical Systems, Best, Netherlands) avec une antenne tête 32 canaux. La session d'IRM structurelle et d'IRMf de repos, réalisée le 1^{er} jour de l'étude, était composée de 3 séquences : une séquence d'imagerie du tenseur de diffusion (ou « Diffusion Tensor Imaging », DTI), permettant d'étudier la substance blanche et de calculer les densités des grands faisceaux de fibres (Hagmann et al., 2006); une séquence anatomique en haute résolution (MPRAGE ; TR 25 ms; TE 3.9 ms; TI 800 ms; taille des voxel 0,89x0,89x1,2 mm³) ou séquence d'imagerie morphométrique pondérée en T1 de résolution isotrope à 1 mm afin de comparer la morphométrie des structures cérébrales entre les patients et les sujets témoins (Ashburner, 2009), et une séquence fonctionnelle à l'état de repos en imagerie pondérée T2* par Echo Planar Imaging (EPI) permettant d'analyser la connectivité fonctionnelle de base du sujet à partir de l'étude des fluctuations physiologiques cérébrales lentes (fréquences comprises entre 0,01 et 0,06 Hz) (Biswal et al., 2010).

Etude de la variabilité cardiaque (HRV)

L'analyse de la variabilité du rythme cardiaque (HRV) a été effectuée à partir d'un enregistrement électrocardiographique (ECG) le 1^{er} jour du protocole, et après la pose de la sonde rectale le 2^{ème} jour du protocole. Ces enregistrements ont été réalisés avec un module d'acquisition MP150 et amplificateur ECG BIOPAC (Cerom, France) en dehors de l'IRM le 1^{er} jour, puis à partir du signal photopléthysmographique (méthode de recueil de l'activité cardiaque compatible avec l'IRMf) sur toute la période couvrant la session d'IRMf du 2^{ème} jour. Hors IRM, l'enregistrement ECG a été effectué en situation de repos depuis au moins 5 minutes, sur une durée de 15 minutes. Les électrodes ont été placées sur la cage thoracique selon la dérivation DII sur des sujets en décubitus dorsal et en respiration spontanée. Dans cette position, les variables HRV sont essentiellement représentatives du tonus parasympathique (Appelhans and Luecken, 2008).

L'analyse de la HRV a été effectuée pour chaque sujet à l'aide du Logiciel Kubios HRV Analysis 2.0 pour Windows (The Biomedical Signal and Medical Imaging Analysis Group, Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finland) sur un échantillon de 10 minutes d'enregistrement ECG, selon les recommandations (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996b). Les mesures ainsi calculées étaient des mesures issues des analyses temporelles (RMSSD et NN50), fréquentielles (Total Power 0-0,4 Hz et composantes HF 0,15-0,4 Hz, LF 0,04-0,15 Hz et VLF 0,003-0,004 Hz de la HRV, exprimées en valeurs absolues ms² et en unités normalisées), et des non-linéaires (SD1 et SD2).

Tests psychologiques

Compte tenu de l'influence des facteurs psychologiques sur les résultats attendus, un ensemble de marqueurs psychologiques relatifs aux dimensions affectives et cognitives de la douleur a été testé à l'aide d'auto-questionnaires. Ils ont été remplis par les patients et les sujets témoins le 1^{er} jour de l'étude, après la passation de l'IRM et de l'ECG, sur une durée de 45 minutes environ. Les questionnaires utilisés étaient :

- le questionnaire de symptomatologie dépressive CES-D (Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale) (Weissman et al., 1977),

- l'inventaire d'anxiété (State-Trait Anxiety Inventory : STAI) (Spielberger, 1983), qui permet d'évaluer l'intensité de l'état anxieux du moment ainsi que la composante anxieuse profonde et durable de la personnalité,
- le questionnaire d'amplification de la douleur (Pain Catastrophizing Scale) (Sullivan et al., 1995),
- le questionnaire d'anxiété des symptômes douloureux (Pain Anxiety Symptoms Scale) (McCracken et al., 1992),
- le questionnaire sur la peur de la douleur (Fear of Pain Questionnaire) (McNeil and Rainwater, 1998),
- le questionnaire de sensibilité à la douleur viscérale (Visceral Sensitivity Index) (Labus et al., 2004),
- le questionnaire sur la conscience des perceptions corporelles (questionnaire de Mindfulness) (Trousselard et al., 2010),
- le questionnaire d'intolérance à l'incertitude (Freeston et al., 1994),
- le questionnaire d'inventaire des stress de la petite enfance centrés sur les abus sexuels (Childhood Trauma Questionnaire) (Bernstein et al., 2003),
- le questionnaire d'évaluation des stratégies d'ajustement ou « coping » WCC-R (Ways of Coping Checklist Revised) (Cousson-Gelie et al., 2010),
- le questionnaire d'évaluation des comportements de maladie (the Illness Attitude Scales) (Dammen et al., 1999).

Détermination du seuil de distension rectale

Le seuil individuel de distension rectale était déterminé au cours du 2^{ème} jour de l'étude en utilisant la méthode ascendante. Un ballonnet fixé à un cathéter à double lumière en PVC était inséré sur environ 10 cm dans le rectum du sujet, dont la vacuité avait été obtenue par un lavement rectal avant la procédure. Le sujet était allongé en décubitus dorsal. Après une période d'acclimatation de 15 minutes, le ballonnet était gonflé par un barostat (G&J Electronics Inc, Toronto, Canada) selon la méthode ascendante par paliers isobariques de 5 mm Hg avec une durée de 60 secondes chacun. Cette méthode a été validée pour la détermination de la sensibilité douloureuse rectale (Lembo et al., 1994;

Mertz et al., 1995). A chaque gonflement succédait une période de cotation de 30 secondes pour la douleur, l'inconfort et la sensation du besoin de déféquer, avec une échelle visuelle analogique (EVA) de 0 à 100 (0 = aucun(e) et 100 = douleur, inconfort et/ou sensation de besoin intolérables). La méthode ascendante était arrêtée lorsque le sujet rapportait un score d'inconfort de 70% (inconfort sévère) avec une cotation de douleur d'au moins 10% (sans que ceci soit explicitement exposé au sujet). Ce seuil d'inconfort était retenu afin d'être toléré par le sujet pour toute la durée de l'expérimentation dans l'IRM (Baciu et al., 1999) ; de plus, les résultats d'une étude pilote effectuée par l'équipe du Pr Van Oudenhove a montré que la survenue d'un inconfort ou d'un besoin de défécation sévères et/ou la pression limite de sécurité (55 mmHg) empêchait les séquences de distension rectale d'atteindre le seuil de douleur chez la majorité des sujets sains.

Le volume moyen du ballonnet intra-rectal au cours du dernier pallier de distension était celui qui était utilisé comme stimulus douloureux de distension rectale dans les sessions d'IRMf ultérieures. La reproductibilité de la cotation pour le volume précédemment identifié était vérifiée au cours d'une séquence de distensions volumétriques identique à celle utilisée au cours des essais dans l'IRM (distension volumétrique ultra-rapide jusqu'au seuil d'inconfort, déflation du ballonnet au bout de 18 secondes).

Afin de ne pas influencer les cotations subséquentes, aucune information n'était donnée au sujet sur le volume de distension retenu et sur sa constance au cours des séquences d'IRMf.

Réactivité électrodermale

L'activité du SNA a également été explorée par l'étude de la réactivité électrodermale (RED). La RED repose sur les variations de conductance cutanée, c'est-à-dire de l'activité des glandes sudoripares, reflétant l'activation du SNAs, qui peut être attribuée à une stimulation psychologique en présence d'un stimulus (Boucsein et al., 2012; Norris et al., 2007). La RED est très souvent mesurée dans les études émotionnelles en tant qu'indice de la présence d'une émotion. En effet, les variations d'activité électrodermale survenant 1 à 3 secondes après la survenue d'un stimulus sont considérées comme spécifiques

d'une activation du SNAs et d'une émotion (Dawson et al., 2007). L'enregistrement de la RED a été effectué avec les capteurs et système d'enregistrement BIOPAC module MP150 et amplificateur GSR 100C (Cerom, France). Deux électrodes (0.6 cm de diamètre) étaient placées sur les phalanges distales de l'index et du majeur de la main droite de chaque participant. Les mesures ont été enregistrées de façon continue au cours de la détermination du seuil de distension rectale. La première pression de distension induisant un pic significatif de RED dans les 3 secondes suivant le gonflement du ballonnet était notée manuellement pour chaque sujet.

Session d'IRMf d'activation

Le sujet, porteur de son ballonnet en position intra-rectale, était placé dans le scanner en décubitus dorsal. Le ballonnet était connecté au barostat localisé en dehors de la pièce d'IRM, via un long tube flexible en PVC. Chaque examen débutait par une séquence de repérage pour détecter le plan bi-commissural (commissure antérieure-commissure postérieure) afin de recaler parfaitement l'ensemble des données anatomo-fonctionnelles. La séquence des stimuli au cours de la session d'IRMf d'activation était pilotée par un logiciel dédié utilisant Presentation® (NeuroBehavioral Systems, San Francisco, California) installé sur un PC connecté à l'IRM, au barostat, au vidéoprojecteur et à un boîtier de boutons-réponse (Current Designs®, Philadelphia, Pennsylvania) (Figure 29). L'initiation du stimulus au cours de chaque série fonctionnelle était synchronisée avec les acquisitions du scanner via la détection d'un pulse TTL produit par le scanner indiquant le début de séquence.

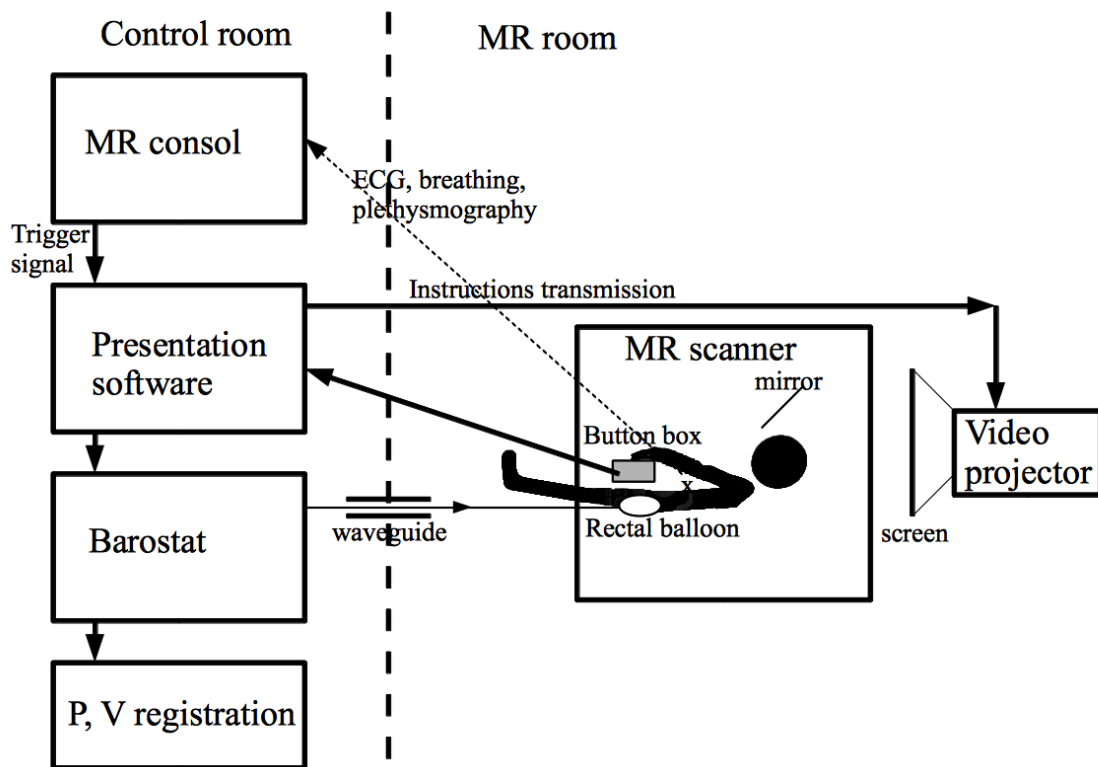


Figure 29 : Installation de l'IRMf d'activation

La session d'IRMf comportait 6 séries fonctionnelles constituées chacune de 12 essais d'une durée de 51 à 69 secondes chacun. Chaque essai comprenait une phase d'anticipation, suivie ou non d'une distension, et une période de cotation (Figure 30). Pendant la période d'anticipation, d'une durée aléatoire de 9 à 18 secondes, une indication lumineuse était projetée sur un écran visible par le sujet pendant 3 secondes : « 0 » : pas de distension, « ? » : distension incertaine, « ! » : distension certaine). La phase de distension rectale, déclenchée par le logiciel vers le barostat, comprenait soit une distension effective de 20 secondes (5 secondes pour l'inflation, 10 secondes au volume précédemment défini et 5 secondes pour la déflation), soit une absence de distension, sur une durée identique. Cette phase était immédiatement suivie de la cotation rétrospective, par le sujet, de l'importance de l'anxiété ressentie pendant la phase d'anticipation précédente et de l'intensité de l'inconfort perçu pendant la phase de

distension. La cotation était effectuée à l'aide d'un boîtier de boutons-réponse, par la mobilisation interactive d'un curseur sur une EVA 0-100 à partir d'une position aléatoire, projetée sur l'écran.

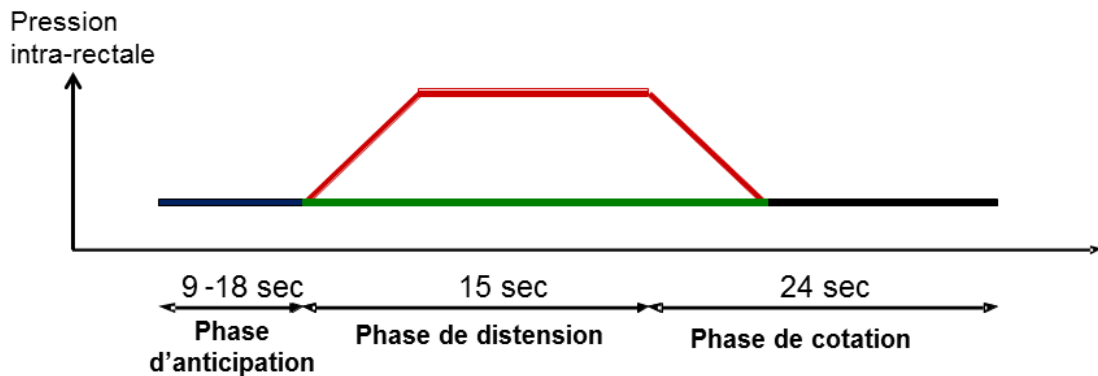


Figure 30 : Schéma d'un essai

Les conditions étaient randomisées à l'intérieur de chaque paradigme pour minimiser la prédictibilité, avec la contrainte que chaque condition (anticipation certaine « ! », anticipation incertaine « ? » et anticipation nulle « 0 ») soit présentée 4 fois dans chaque essai. Chaque anticipation incertaine avait une probabilité de 50% d'être suivie d'une distension. Cette probabilité était randomisée parmi les 6 séries fonctionnelles du protocole. Le sujet était explicitement informé de la signification des signaux lumineux, mais pas de la probabilité de distribution de la condition incertaine ; il leur était dit que l'indicateur « ? » signifiait « distension possible ». Ainsi, chaque condition d'anticipation survenait 24 fois au cours de la session d'IRM, et chaque sujet avait 36 distensions et 36 non-distensions. La durée de la période d'anticipation (9-18 sec) était également randomisée sur les paradigmes pour minimiser la prédictibilité, avec la contrainte que la durée moyenne soit égale dans les 3 conditions.

Pour chaque série fonctionnelle, le logiciel enregistrerait le signal de début d'acquisition de chaque volume fonctionnel envoyé par l'IRM, le type et la synchronisation de chaque test, ainsi que les cotations. Ces données étaient stockées dans un fichier log qui était ensuite

utilisé pour extraire de façon automatique la matrice liée à chaque série d'IRMf (voir la section « Analyse des données individuelles d'IRMf »).

Une courte période d'entraînement de 3 essais, sans acquisition d'images, était effectuée en début de protocole afin de s'assurer de la bonne compréhension des consignes par le sujet.

Les images d'IRMf ont ensuite été obtenues avec une séquence en écho de gradient EPI (TR 3s ; TE 30ms ; angle de basculement 80° ; 52 coupes de 3 mm d'épaisseur ; taille des voxel 2,75x2,75x3 mm³) couvrant la totalité du volume du cerveau, dont le cervelet. Deux cent quarante images ont été acquises par série fonctionnelle, pour une durée totale d'examen de 1h12.

Acquisition des données physiologiques

Les données électrocardiographiques ont été enregistrées tout au long de la session d'IRMf d'activation, avec 4 électrodes compatibles IRM (InVivo International, Best, the Netherlands), par le scanner à une fréquence d'échantillonnage de 500 Hz. Le logiciel du scanner effectuait une détection automatique des pics R-R, dont la survenue était enregistrée. De plus, la photopléthysmographie digitale, sensible au pouls digital, était acquise à une fréquence de 100 Hz. Le logiciel du scanner détectait automatiquement le maximum du signal pléthysmographique et en notait les survenues. Le signal respiratoire était enregistré à une fréquence de 100 Hz par un capteur de pression fixé autour du torse. Ces données physiologiques, les pics détectés par le logiciel et le marqueur des débuts et fins de l'acquisition d'IRMf ont été enregistrées dans un fichier « ScanPhysLog ».

Analyse de l'HRV mesurée au cours de l'IRMf d'activation

Les composants d'intérêt de la HRV ont été extraits par un logiciel fait-maison développé dans R (www.r-project.org). Les temps correspondant aux pics R de l'ECG ont été extraits du fichier « ScanPhysLog » et les intervalles RR ont été calculés. L'enregistrement ECG pouvant être corrompu par des gradients de commutation, des valeurs aberrantes de RR

pouvaient survenir. Les valeurs étaient inférieures ou supérieures à la moyenne des RR \pm 3 déviations standard de RR. Elles étaient alors remplacées par la valeur RR précédente. Quand le nombre total de valeurs aberrantes représentait plus de 3% de tous les intervalles RR, les données du photopléthysmographe étaient utilisées. Les temps correspondant aux pics de pléthysmographie étaient lus à partir du fichier « ScanPhysLog » et les intervalles pic-à-pic étaient calculés. Les signaux pléthysmographiques étant optiques, ils ne pouvaient pas être corrompus par des gradients de commutation. Des valeurs aberrantes pouvaient tout de même survenir si le capteur bougeait en cours d'acquisition. Ces valeurs, inférieures ou supérieures à la moyenne des valeurs pic-à-pic \pm 3 déviations standard, étaient remplacées par la valeur précédente. Lorsque les signaux RR et pléthysmographiques étaient tous deux corrompus, les données étaient rejetées. Du fait du délai possible entre le signal pic-à-pic pléthysmographique (mesuré au bout du doigt) et les intervalles RR (mesurées au niveau du torse), nous avons calculé les corrélations croisées entre les 2 signaux. Nous avons trouvé un délai moyen de 620 msec avec une corrélation supérieure à 99%. Quand les intervalles RR n'étaient pas utilisables, nous avons donc utilisé les intervalles pic-à-pic pléthysmographiques corrigés du décalage de 620 msec.

Nos données d'IRMf ayant été acquises avec un TR de 3 sec, leur bande de fréquence était contenue dans la plage -0,167 Hz à 0,167 Hz ($=1/2TR$). Les données ne pouvaient donc pas être corrélées à des régresseurs dont le spectre était au-delà de la bande de fréquence -0,167-0,167. Ainsi, la composante HF de la HRV, comprise entre 0,15 et 0,4 Hz, ne pouvait pas être insérée en tant que régresseur dans le modèle d'IRMf. Seule la composante LF de la HRV a donc pu être introduite dans l'analyse. Les intervalles RR ont été rééchantillonnés et filtrés par la transformation en ondelettes (<http://cran.r-project.org/web/packages/waveslim>) en 3 sous-bandes : la sous-bande LF_{high} -HRV comprise entre 0,08 et 0,16 Hz ; la sous-bande LF_{mid} -HRV comprise entre 0,04 et 0,08 Hz ; et la sous-bande LF_{low} -HRV comprise entre 0,02 et 0,04 Hz. Les effets de bord et le décalage temporel introduits par la transformation en ondelettes ont été corrigés. Les 3 signaux HRV ainsi définis ont ensuite été introduits comme régresseurs dans l'analyse IRMf.

Analyse individuelle des données IRMf

Nous avons traité et analysé les données d'IRMf avec le logiciel SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL; www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/) développé dans l'environnement Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA). Le traitement reposait sur l'analyse statistique individuelle de la différence moyenne de signal entre les différentes conditions de stimulation, au sein du cerveau pris dans son ensemble (test de Student).

Au niveau individuel, les analyses ont été effectuées dans le référentiel de chaque sujet. Le prétraitement comprenait la correction des bougés, le « slice-timing » (qui effectue la correction du décalage temporel d'acquisition entre les coupes, la coupe du milieu étant la référence temporelle), le réalignement des images fonctionnelles sur les images structurelles, et le lissage spatial avec une gaussienne de largeur à mi-hauteur de 3mm. Les paramètres de mouvement étaient enregistrés pour être inclus dans le modèle linéaire.

Les analyses statistiques ont été conduites en utilisant le modèle linéaire généralisé (Friston et al., 1994). Chaque condition était modélisée par une fonction en créneaux convoluée par la fonction de réponse hémodynamique canonique et intégrée dans un modèle linéaire généralisé. Pour supprimer les lentes dérives du signal, un filtrage passe haut (fréquence de coupure 1/128 sec) a été utilisé. Deux modèles analyses ont été conduits. Dans le premier, nous avons fait l'hypothèse de l'absence de contribution du SNA ; ce modèle était appelé le « modèle standard ». Dans le second, nous avons fait l'hypothèse de l'implication du SNA, dont l'activation serait induite par le caractère imprévisible de la survenue d'une distension. Ce second modèle était désigné par le terme « modèle LF-HRV ».

Dans chaque modèle, 7 régresseurs d'intérêt étaient inclus : l'anticipation certaine de la survenue d'une distension « ! » ; l'anticipation incertaine « ? », l'anticipation certaine de l'absence de distension « 0 », la distension attendue (précédée d'une anticipation certaine) « !D », la distension précédée d'une anticipation incertaine « ?D », l'absence de distension précédée d'une anticipation incertaine, « ?Ø », et l'absence de distension attendue « 0Ø » ; ainsi que 7 régresseurs de non-intérêt (la cotation et 6 paramètres de mouvements qui étaient inclus pour prendre en compte l'effet résiduel de mouvements potentiels entre les images). Le début et la durée de tous les régresseurs d'intérêt étaient

obtenus automatiquement à partir des fichiers log enregistrés par le logiciel Presentation®, via un programme dédié Matlab, et entrés dans la matrice de dessin. Pour le « modèle LF-HRV », les 3 régresseurs LF_{high} -HRV, LF_{mid} -HRV and LF_{low} -HRV étaient ajoutés au modèle standard.

Pour ces 2 modèles, des contrastes liés à la période d'anticipation ont été créés pour chaque sujet :

- un contraste lié à l'effet exclusif de l'incertitude : « ? - $\frac{1}{2} (! + 0)$ »
- un contraste lié à l'effet de l'anticipation incertaine : « ? - 0 »
- un contraste lié à l'effet de l'anticipation certaine : « ! - 0 »

Afin d'identifier le réseau cérébral lié aux distensions rectales, attendues ou non, nous avons également créé 2 contrastes distension :

- un contraste lié à l'effet de la distension : « (?D + !D) - (?Ø + 0Ø) »
- un contraste lié au caractère inattendu de la distension : « (?D - !D) - (?Ø - 0Ø) »

Evaluation de l'impact des caractéristiques psychologiques

L'impact de la composante anxieuse de la personnalité du sujet, de son anxiété par rapport à la douleur, et de son intolérance à l'incertitude, sur les régions cérébrales activées/désactivées au cours de l'anticipation certaine et incertaine, a également été étudié. Pour cela, les scores individuels des questionnaires respectifs ont été ajoutés en covariables dans l'analyse de groupe des données fonctionnelles. La cotation de l'anxiété ressentie par le sujet pendant la période d'anticipation précédente était également incluse en tant que covariable dans l'analyse.

Analyse statistique de groupe

Pour l'analyse de groupe, nous avons réaligné toutes les images de contraste individuelles dans une référentiel commun en utilisant la méthode de transformation DARTEL (Ashburner, 2009) qui permet de réaligner de façon précise les cerveaux des différents sujets. Pour cela, nous avons tout d'abord effectué une segmentation de chaque image structurelle en 6 composants tissulaires différents (en utilisant l'outil « New

Segment » de SPM8), dont l'image de la substance grise (SG). Etant donné la grande précision de l'atlas de SG obtenu dans une étude précédente en utilisant DARTEL (Pizzagalli et al., 2013), nous avons calculé les champs de déformation pour chaque sujet, ce qui a permis d'aligner les images individuelles de SG à cet atlas. Les images ont ensuite été normalisées dans l'espace Montreal Neurological Institute (MNI). Pour cela, nous avons calculé la transformation affine qui permettait d'aligner notre atlas de SG sur la carte de probabilité de la SG dans l'espace MNI. Ensuite, pour chaque sujet, nous avons appliqué la combinaison du champ de déformation et de la transformation affine à chaque image de contraste et à l'image anatomique. Pour améliorer la sensibilité de l'analyse aux petites régions, nous avons lissé les images de contraste en utilisant une gaussienne ayant un petit noyau de lissage (FWHM de 3 mm). Les analyses de groupe ont été conduites pour les contrastes dérivés du « modèle standard » et du « modèle LF-HRV ». Les images anatomiques réalignées de tous les sujets ont été moyennées pour y superposer les cartes d'activation.

Nous avons entré les images de contraste dérivées de chaque modèle dans une analyse à effet aléatoire, avec et sans les covariables correspondant aux données comportementales (scores des questionnaires d'intolérance à l'incertitude, d'anxiété par rapport à la douleur et de la composante anxieuse de la personnalité, et score de cotation de l'anxiété ressentie pendant l'anticipation). Les régions activées correspondant à chaque condition ont été évaluées par un test de Student à un échantillon, avec un seuil de probabilité non corrigé de 0,001 au niveau de chaque voxel et un seuil sur l'étendue spatiale tel que la probabilité de cette étendue p_k soit $< 0,05$. Seules les régions atteignant une probabilité $p < 0,05$ après correction pour comparaison multiple au niveau de la région étaient retenues pour former les images d'activation. Elles étaient ensuite superposées sur l'image anatomique moyenne des participants pour une localisation précise. Les régions cérébrales activées sont identifiées sur la base de l'atlas anatomique de Talairach (Andreasen et al., 1996).

Analyse par régions d'intérêt

Nous avons également rapporté les réponses cérébrales dans des régions considérées à *priori* comme régions d'intérêt (ROI) selon les données de la littérature. Les ROIs étaient construites avec la boîte à outils MarsBaR 0.43 comprise dans SPM8 (<http://marsbar.sourceforge.net/>), afin de définir des sphères de 8mm de diamètre, appliquées sur l'atlas asymétrique non-linéaire ICBM152 (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/ServicesAtlases/ICBM152Nlin2009>). Les coordonnées des ROIs étaient basées sur des études précédentes afin de ne pas introduire de biais. MarsBaR permet de calculer l'intensité moyenne et maximale par sujet et par contraste pour chaque ROI. Ensuite, un test de Student était effectué pour évaluer les différences entre les patients et les sujets contrôles.

Les ROIs spécifiées et leurs coordonnées sont résumées dans le Tableau 2 et les Figures 31 à 34.

ROI	Coordonnées à gauche	Coordonnées à droite	Référence
Insula antérieure	x=-36, y=18, z=-4	x=36, y=18, z=-4	(Lutz et al., 2013)
Insula moyenne	x=-36, y=-2, z=7	x=36, y=-2, z=7	(Wager et al., 2013)
Insula postérieure dorsale	x=-36, y=-16, z=12	x=36, y=-16, z=12	
Insula ventrale	x=-36, y=6, z=-8	x=36, y=6, z=-8	(Schmid et al., 2013)
ACC antérieur	x=0, y=38, z=4		(Fairhurst et al., 2007)
ACC dorsal	x=0, y=14, z=32		
ACC subgenuel	x=0, y=22, z=-6		
PCC-precuneus	x=0, y=-46, z=32		
Thalamus antérieur	x=-8, y=-6, z=10	x=8, y=-6, z=10	(Fairhurst et al., 2007)
Thalamus postérieur-pulvinar	x=-12, y=-24, z=-2	x=12, y=-24, z=-2	
Hypothalamus	x=-4, y=0, z=-10	x=4, y=0, z=-10	Anatomique
S2/operculum	x=-53, y=-22, z=22	x=53, y=-22, z=22	(Seifert et al., 2013)
Amygdale	x=-22, y=-4, z=-20	x=22, y=-4, z=20	(Wager et al., 2013)
PAG	x=-2, y=-28, z=-8	x=3, y=-28, z=-6	Anatomique

Tableau 2 : Coordonnées des ROIs

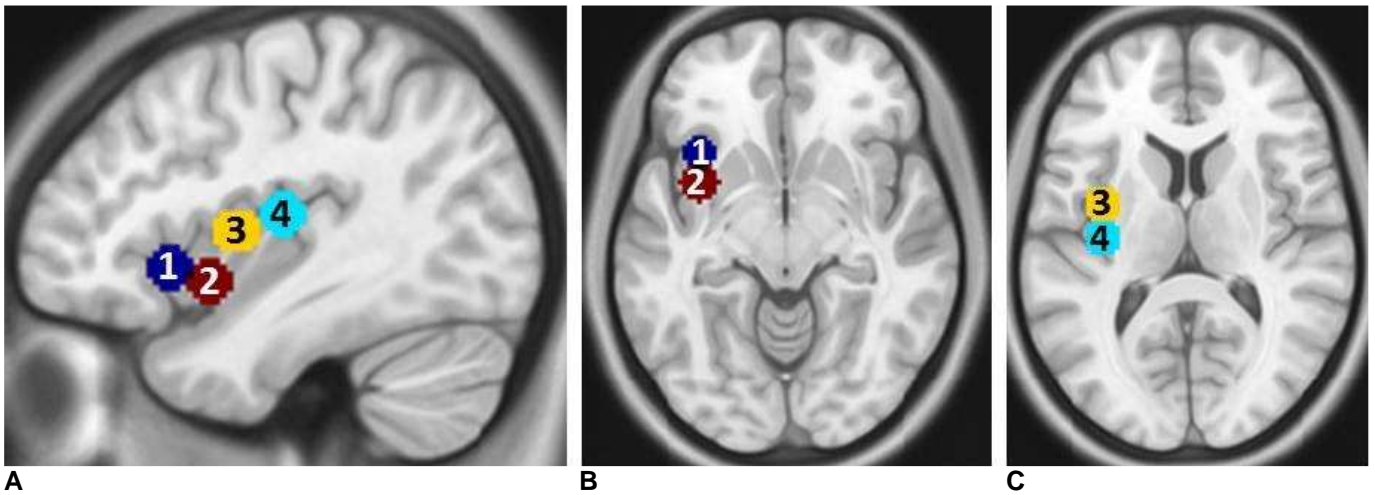


Figure 31 : ROI sur l'insula gauche

1. Insula antérieure (aINS) ; 2. Insula ventrale (vINS) ; 3. Insula médiane (mINS) ; 4. Insula dorso-postérieure (dpINS)

Coordonnées de la coupe : A : X=-36 ; B : Z=-9 ; C : Z=5 ; D : Z=16

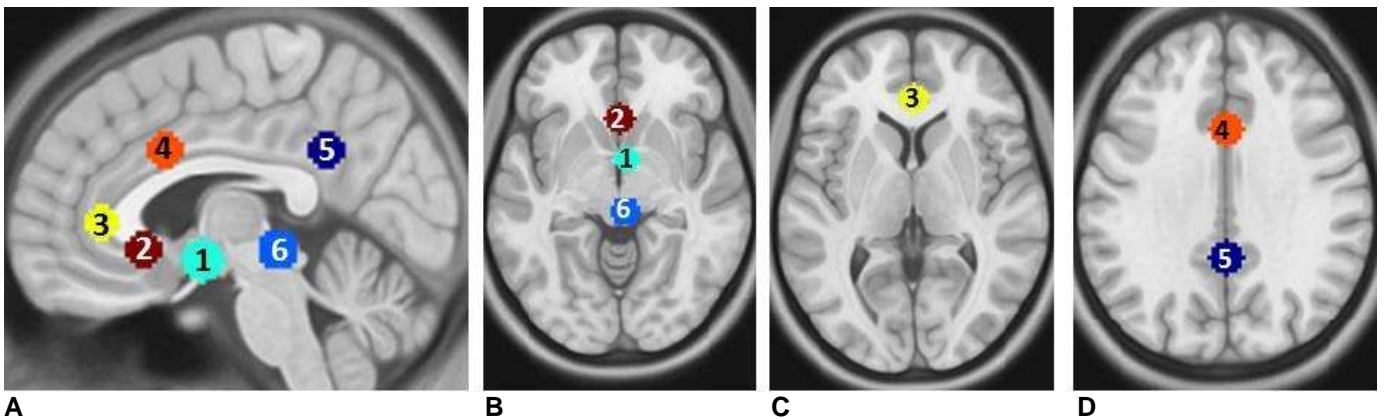


Figure 32 : ROI sur le cortex cingulaire, l'hypothalamus et la substance grise périaqueducale

1. Hypothalamus ; 2. Cortex cingulaire antérieur sub-génual (sgACC) ; 3. Partie antérieure du cortex cingulaire antérieur (aACC) ; 4. Partie dorsale du cortex cingulaire antérieur (dACC) ; 5. Cortex cingulaire postérieur (PCC)-précuneus ; 6. Substance grise périaqueducale (PAG)

Coordonnées de la coupe : A : X=-4 ; B : Z=-7 ; C : Z=5 ; D : Z=30

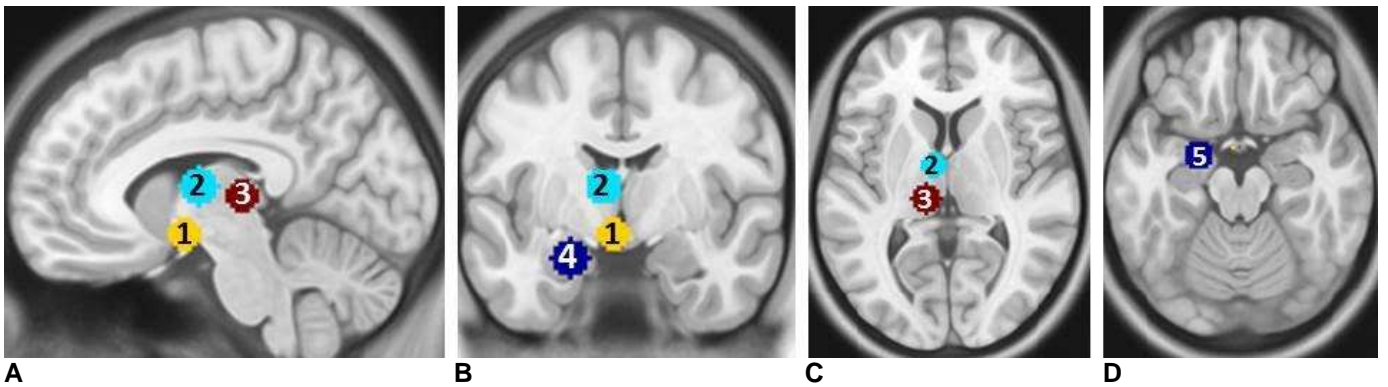


Figure 33 : ROI sur le thalamus, l'hypothalamus et l'amygdale gauches
 1. Hypothalamus ; 2. Thalamus antérieur (aThal) ; 3. Pulvinar ; 4. Amygdale
 Coordonnées de la coupe : A : X=-8 ; B : Y=-5 ; C : Z=5 ; D : Z=-22

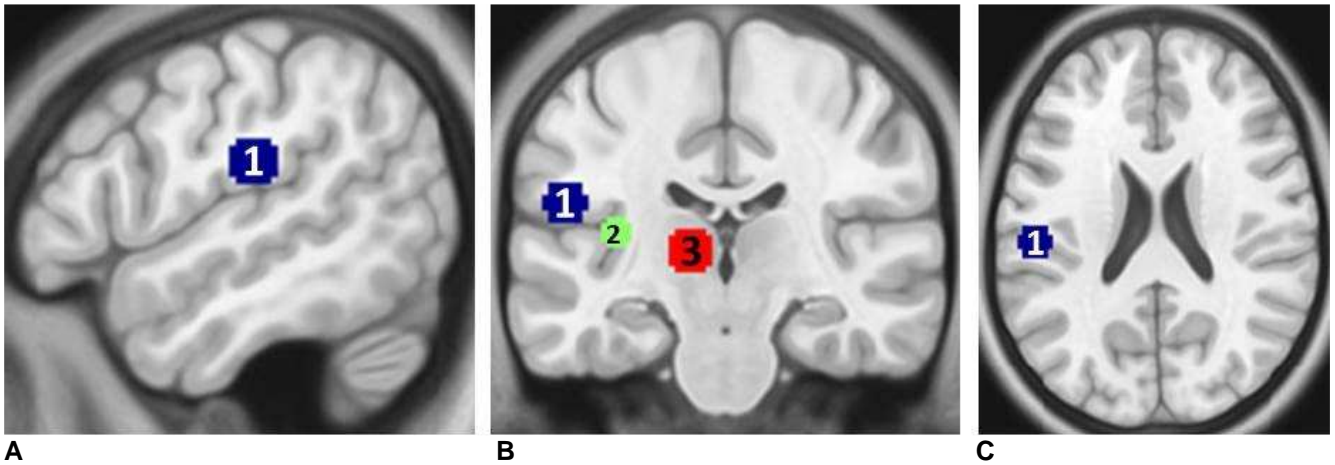


Figure 34 : ROI sur le S2/operculum, vINS et pulvinar gauches
 1. S2/operculum ; 2. vINS ; 3. Pulvinar.
 Coordonnées de la coupe : X=-52 ; Y=-22 ; Z=20

RESULTATS

***Lien entre affects négatifs, tonus vagal et
sensibilité rectale dans la MC en
rémission***

Introduction :

Comme dans la plupart des maladies chroniques, la prévalence de troubles de l'humeur et des pathologies anxieuses est plus importante dans la MC que dans la population générale, y compris en phase de rémission. Des dysautonomies, notamment une baisse du tonus vagal, ont également été rapportées dans la MC quiescente. Or les troubles de l'humeur et les dysfonctions du SNA modifient la sensibilité viscérale, généralement en abaissant le seuil douloureux. Des troubles de la sensibilité viscérale sont ainsi fréquemment décrits chez les patients, en général à type d'hypersensibilité du fait de la grande prévalence de TFI, mais aussi à type d'hyposensibilité.

Bien que le SNA et les facteurs psychologiques soient des déterminants majeurs de la sensibilité viscérale, le lien entre équilibre sympatho-vagal, affects et sensibilité viscérale n'a jamais été étudié chez des patients asymptomatiques.

De ce fait, le but de notre étude était d'analyser les liens entre tonus vagal, troubles de l'humeur et sensibilité viscérale chez des patients de MC en rémission et sans TFI.

Méthodologie:

Dix patients ayant une MC en rémission et 8 sujets volontaires sains appariés en âge ont été inclus. L'anxiété, la symptomatologie dépressive, les stratégies d'ajustement (« coping ») et la sensibilité viscérale ont été évaluées par auto-questionnaires. Le seuil de distension rectale provoquant un inconfort d'au moins 70% associé à l'apparition d'une douleur rectale a été déterminé chez chaque sujet par la méthode ascendante avec un barostat. La balance sympatho-vagale a été évaluée par l'étude de la HRV à partir d'un enregistrement électrocardiographique de 10 minutes en décubitus dorsal au calme, ainsi que par l'étude de la réactivité électrodermale au cours des distensions rectales.

Résultats :

Les patients avaient un score de symptomatologie dépressive significativement supérieur aux sujets contrôles ($p=0,038$), ainsi que des scores d'anxiété plus importants, et des stratégies d'ajustement qui étaient moins centrées sur le problème et la recherche de soutien social. Aucun lien n'a été mis en évidence entre ces scores et la durée de la MC.

La pression de distension rectale induisant un inconfort d'au moins 70% et l'apparition d'une douleur rectale était significativement plus élevée chez les patients ($43\pm 3\text{mmHg}$ versus $30\pm 2\text{mmHg}$, $p=0,002$). L'Index de Sensibilité Viscérale était significativement plus faible chez les patients ($p=0,048$), traduisant une plus grande tolérance viscérale. La réactivité électrodermale était également plus faible chez les patients ($p=0,019$).

Le tonus vagal était effondré chez les patients par rapport aux contrôles (puissance totale : 1668 ± 356 vs 7885 ± 2771 , $p=0,035$; RMSSD : 25 ± 3 vs 57 ± 16 , $p=0,021$; NN50 : 41 ± 14 vs 161 ± 46 , $p=0,027$; HF : 257 ± 84 vs 1607 ± 1032 , $p=0,043$; et LF : 455 ± 153 vs 1629 ± 585 , $p=0,047$). Une corrélation inverse significative a été mise en évidence entre la durée de la MC et le tonus vagal représentés par SD1 ($r=-0,803$, $p=0,007$) et NN50 ($r=-0,738$, $p=0,020$) et entre les valeurs des LF et l'Index de Sensibilité Viscérale ($r=-0,691$, $p=0,037$) chez les patients. Il y avait également une corrélation inverse entre la durée de la MC et la puissance totale ($r=-0,696$, $p=0,062$).

Discussion et conclusion :

Au total, nous avons mis en évidence une hyposensibilité viscérale, associée à un tonus vagal effondré et une réduction de la réactivité sympathique chez les patients ayant une MC en rémission, sans TFI.

Deux mécanismes pourraient expliquer cette hyposensibilité : 1) la théorie d'adaptation à la douleur, selon laquelle les patients exposés à des douleurs chroniques évaluent un stimulus douloureux additionnel comme relativement léger, et ainsi ont des seuils douloureux plus élevés ; 2) l'activation des CIDN par des afférences nociceptives en provenance de l'intestin irrité de façon chronique, conduisant à des seuils de perception sensoriels accrus, ici au niveau du rectum.

Par ailleurs, la dysautonomie que nous avons observée peut être liée aux lésions des terminaisons nerveuses du SNE et du SNA, à des modifications structurales cérébrales ou à la dysfonction de l'axe HHS avec dérégulation de l'équilibre entre le PFC et l'amygdale, qui ont été mis en évidence dans les MICI. Tout ceci peut conduire à une dérégulation sympatho-vagale et ainsi à une modification de la sensibilité viscérale.

En conclusion, nos données mettent en évidence le rôle des troubles de l'humeur et de la dysautonomie dans la modification de la perception viscérale chez les patients ayant une MC en rémission, et la présence d'une hyposensibilité viscérale en l'absence de TFI.

Article “The link between negative affect, vagal tone and visceral sensitivity in inactive Crohn’s disease”

Article publié dans Neurogastroenterology and Motility

HOT TOPIC

The link between negative affect, vagal tone, and visceral sensitivity in quiescent Crohn's disease

A. RUBIO,*,†,‡,§ S. PELLISSIER,*,†,§ A. PICOT,¶ C. DANTZER§ & B. BONAZ*,†,¶

*INSERM, U836, Grenoble, France

†Univ. Grenoble Alpes, GIN, Grenoble, France

‡CHU de Grenoble, Hôpital Couple Enfants, Grenoble, France

§Univ. Savoie, Chambéry, France

¶CHU de Grenoble, Hôpital Michallon, Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie, Grenoble, France

Key Messages

Herein, we demonstrate that patients with quiescent Crohn's disease (CD) and without concomitant features of IBS have a visceral hyposensitivity and that depressive symptomatology and autonomic dysfunction have a role in the modification of visceral perception in this population. We systematically evaluated the link between vagal tone (through heart rate variability and electrodermal reactivity), affect and visceral sensitivity (with rectal distensions to a discomfort threshold of 70% and the onset of pain) in nine asymptomatic CD patients and eight healthy controls. CD patients had (i) higher scores of depressive symptomatology and anxiety, (ii) reduced vagal tone, (iii) decreased sympathetic reactivity to visceral stimulation and (iv) a higher tolerance to rectal distension pressure with low sensitivity index scores.

Abstract

Autonomic dysfunction and mood disorders are frequently described in Crohn's disease (CD) and are known to influence visceral sensitivity. We addressed the link between vagal tone, negative affect, and visceral sensitivity in CD patients without concomitant features of irritable bowel syndrome (IBS). Rectal distensions to a discomfort threshold of 70% and onset of pain were performed in nine CD patients in remission and eight healthy controls. Autonomic parameters were evaluated with heart rate variability and electrodermal reactivity. We showed that CD patients had (i) higher scores of

depressive symptomatology (12 ± 3 in patients vs 4 ± 1 in controls on the Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale; $p = 0.038$), (ii) reduced vagal tone (HF $257 \pm 84 \text{ ms}^2$ vs $1607 \pm 1032 \text{ ms}^2$, $p = 0.043$; LF $455 \pm 153 \text{ ms}^2$ vs $1629 \pm 585 \text{ ms}^2$, $p = 0.047$), (iii) decreased sympathetic reactivity during an aversive stimulus, and (iv) higher tolerance to rectal distension pressures ($43 \pm 3 \text{ mmHg}$ vs $30 \pm 2 \text{ mmHg}$, $p = 0.002$) and low sensitivity index scores. In conclusion, our results provide preliminary evidence that patients with quiescent CD, in the absence of IBS, are hyposensate to experimental rectal distension. These data provide further evidence that anxiety and depressive symptomatology in addition to autonomic dysfunction modulate visceral pain perception in quiescent CD patients in the absence of IBS.

Keywords autonomic nervous system, Crohn's disease, depression, parasympathetic tone, vagal tone.

Address for Correspondence

Dr Amandine Rubio, Grenoble Institute of Neurosciences, University Joseph Fourier, BP 170 38706 La Tronche, France.

Tel: +334 76 76 87 06; fax: +334 76 76 87 71;

e-mail: arubio@chu-grenoble.fr

Received: 2 March 2014

Accepted for publication: 1 May 2014

INTRODUCTION

In comparison to the general population, higher rates of anxiety and depressive disorders have been reported in Crohn's disease (CD) patients.¹ Dysfunction of the autonomic nervous system (ANS) has been evidenced in quiescent CD.² Mood disorders and autonomic dysfunction modify visceral sensitivity, generally by lowering the pain threshold.³ Visceral hypersensitivity is classically described in CD patients in remission, based on the high prevalence of irritable bowel syndrome (IBS)-like symptoms (41%).^{1,4}

Although the ANS and psychological factors are crucial determinates of visceral sensitivity, the link between autonomic function, negative affect, and visceral sensitivity has yet to be explored in asymptomatic CD patients. Consequently, the aim of our study was to analyze the relationship between vagal tone, negative affect, and visceral sensitivity in patients with quiescent CD, in the absence of IBS.

PATIENTS AND METHODS

Nine patients with quiescent small bowel (six) or colonic (three) CD and eight age-matched healthy controls were included (see Data S1 for the demographical data). CD quiescence was established through questioning, clinical, biological (CD Activity Index <150, C-reactive protein <5 mg/mL, fecal calprotectin <50 µg/g), and endoscopic evaluation. The absence of any functional gastrointestinal disorder was verified using the Rome III diagnostic criteria and with a clinical exam.

An informed consent was obtained from all participants. The study protocol was approved by the local Ethics Committee (registration number 11-CHUG-19).

Psychological variables

Anxiety and depressive symptomatology were evaluated using the validated State-Trait Anxiety Inventory and the Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale respectively (see Data S1 for references and norms). Coping strategies were evaluated with the Ways of Coping Checklist questionnaire as previously described.²

Visceral sensitivity

Visceral sensitivity was assessed with the Labus Visceral Sensitivity Index.⁵ Rectal distensions were performed with a pressure-controlled barostat (G&J Electronics Inc, Toronto, ON, Canada). The volume eliciting a 70% discomfort and/or urge-to-defecate with a pain rating of at least 10% was recorded (see Data S1 for the distension protocol).

Autonomic balance

A continuous electrocardiogram (BIOPAC, Cerom, France) was recorded during 10 min in the standard supine limb lead II position. In this condition, heart rate variability (HRV) variables

essentially represent the parasympathetic tone. HRV was analyzed with the Kubios-HRV software in accordance with the European Task Force guidelines.⁶ Total power (0–0.4 Hz, ms²), high-frequency power spectrum (HF, 0.15–0.4 Hz, ms²), low-frequency power spectrum (LF, 0.04–0.15 Hz, ms²), root mean square of successive differences (RMSSD), number of successive R-R intervals that differ by more than 50 ms (NN50), standard deviation of the instantaneous beat-to-beat interbeat intervals (SD1), and standard deviation of continuous beat-to-beat interbeat intervals (SD2) values were calculated. Autonomic sympathetic activity was explored through electrodermal reactivity with the BIOPAC sensor and recording system (BIOPAC). Measurements were recorded continuously during rectal distensions. The first distension pressure eliciting a significant peak in electrodermal activity was manually noted in each subject.

Statistical analysis

Data are expressed as means ± standard error of the mean. As nearly all parameters were not normally distributed according to the Kolmogorov–Smirnov test, and considering the small sample sizes, CD and control groups were compared with Mann–Whitney *U*-tests for non-parametric variables. Spearman correlation coefficients were estimated for bivariate relationships. Statistical analyses were performed with Statistical10.0 for Windows (Stat-Soft Ltd, Bedford, UK). The alpha value was $p < 0.05$.

RESULTS

Crohn's disease patients had significantly greater depressive symptomatology scores than controls (12 ± 3 vs 4 ± 1 , $p = 0.038$). There was also a trend toward greater state anxiety scores (33 ± 3 vs 26 ± 2 , $p = 0.091$) and lower problem-focused and social support-focused coping strategies in patients. No significant correlation was found between these scores and disease duration.

The pressure eliciting a 70% discomfort and pain was significantly higher ($p = 0.002$) in CD patients (mean 43 ± 3 mmHg, range 35–55) than in controls (mean 30 ± 2 mmHg, range 25–35). The volumes corresponding to these pressures were also higher in patients, although this did not reach statistical significance (325 ± 27 vs 280 ± 25 , $p = 0.248$). The rectal compliance was similar between patients (10.3 ± 2.8 mL/mmHg) and control subjects (11.3 ± 3.6 mL/mmHg; $p = 0.834$). The Visceral Sensitivity Index score was significantly lower in CD patients (75 ± 3 vs 85 ± 2 , $p = 0.048$) indicating a higher visceral tolerance. The first pressure eliciting a peak in electrodermal response was also significantly higher in patients (35 ± 3 vs 20 ± 2 , $p = 0.019$). There was no significant correlation between visceral sensitivity variables (pressures, volumes, compliance, or index), disease duration, depressive symptomatology, and anxiety scores in patients.

Mean heart rate was 62 ± 13 in patients and 60 ± 9 in controls ($p = 0.630$). The parasympathetic tone was

decreased in CD patients compared to controls. In particular, total power (1668 ± 356 in patients vs 7885 ± 2771 in controls, $p = 0.035$), RMSSD (25 ± 3 vs 57 ± 16 , $p = 0.021$), NN50 (41 ± 14 vs 161 ± 46 , $p = 0.027$), HF (257 ± 80 vs 1607 ± 1032 , $p = 0.043$), and LF (455 ± 153 vs 1629 ± 585 , $p = 0.047$) values were significantly lower in CD patients.

A negative correlation was found between disease duration and vagal tone as referred by SD1 ($r = -0.803$, $p = 0.007$) and NN50 ($r = -0.738$, $p = 0.020$) and between LF values and the Visceral Sensitivity Index score ($r = -0.691$, $p = 0.037$) in CD patients (Fig. 1). There was a trend toward a negative correlation between disease duration and total power ($r = -0.696$, $p = 0.062$).

DISCUSSION

In this study, we show that quiescent CD is associated with (i) reduced vagal tone, (ii) decreased sympathetic reactivity, and (iii) higher tolerance of rectal distension pressures. Furthermore, we found that the impairment of cardiac vagal modulation increased with disease duration.

The autonomic dysfunction observed in our patients is in agreement with previously published data.² The type of imbalance (sympathetic and/or parasympathetic dysfunction) evidenced in CD is not homogeneous in the literature. Several mechanisms can be suggested: (i) studies have sometimes included patients with active disease,⁷ (ii) the experimental conditions and ANS function tests differed,^{7,8} and (iii) the CD population itself is not homogeneous in terms of affective state, stress, and coping strategies, which impacts on the sympatho-vagal balance.²

It might be argued that as the vagus nerve is commonly thought not to innervate the descending colon and the rectum, our HRV measures might not reflect the vagal tone of the entire gastrointestinal tract. However, for some anatomists (Delmas, Jayle, and Laux), the vagus nerve innervates the entire colon in humans; furthermore, our group showed that vagal

nerve stimulation improved colitis involving the distal colon, in a rat model of colitis⁹ and in a pilot human study in CD patients (data not yet published), indicating a global action of the vagus nerve on the colon.

The vagal reflex pathway, i.e., the cholinergic anti-inflammatory pathway,¹⁰ has a prominent role in the modulation of inflammatory response. Thus a reduction in parasympathetic tone in CD might account, at least in part, for the perpetuation of bowel inflammation.

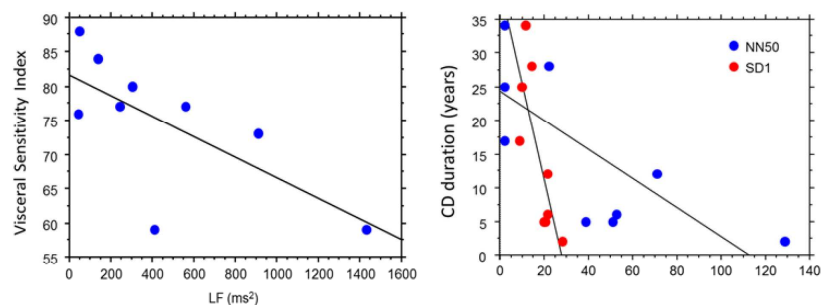
As previously reported,¹¹ we observed a heightened discomfort threshold in CD patients devoid of IBS, without significant difference in rectal compliance, arguing for visceral hyposensitivity in CD. This could not be explained by coping strategies of stressor pain regulation, but perhaps by the adaptation level theory¹² where patients with chronic pain judge additional painful stimuli as relatively mild and have higher discomfort thresholds.

Focal destruction of ANS axons in inflamed and non-inflamed bowel tissue¹³ and modifications in cortical, neocortical, and limbic brain volumes¹⁴ evidenced in CD patients may in part account for the autonomic dysfunctions and reduction in visceral sensitivity. The central nervous system communicates bidirectionally with the intestine through the brain-gut axis.¹⁰ Chronic inflammation, as an inflammatory/immunological stressor, can lead to a dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and a dysregulation of the balance between amygdala and prefrontal cortex, as observed in IBD.¹⁵ This, in turn, can account for the autonomic imbalance that we evidenced.

We acknowledge several study limitations: the small number of participants and the effect of potential HRV confounding factors (menstrual cycle, CD therapy) which could not be controlled. Our results therefore warrant further systematic evaluation.

In conclusion, our data reveal a visceral hyposensitivity in CD patients devoid of IBS-like symptoms and argue for a role of negative mood and autonomic dysfunction in the modification of visceral perception in CD patients in remission.

Figure 1 Correlation between disease duration and SD1 ($r = -0.803$, $p = 0.007$) and NN50 ($r = -0.738$, $p = 0.020$) and between LF values and the Visceral Sensitivity Index score ($r = -0.691$, $p = 0.037$) in CD patients.



FUNDING

We would like to thank the Direction de la Recherche Clinique of the Grenoble University Hospital and the pharmaceutical firms Cephalon and Ferring for funding support through grants, as well as Pr Lukas Van Oudenhove, Pr Jan Tack, Dr Giao Huynh Li and the University of Leuven for providing us with the barostat that was used in this study and the technical help regarding its utilization.

AUTHOR CONTRIBUTION

BB designed the research study; AR wrote the protocol; SP and CD proof-read the protocol; AR and BB recruited the patients; AR and SP undertook the experiments (inclusion of patients and volunteers, rectal distensions, ECG and electrodermal activity recording, questionnaires); AR, SP, CD and AP analyzed the data and AR wrote the paper; All authors contributed to and have approved the final manuscript.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no competing interests.

REFERENCES

- 1 Simren M, Axelsson J, Gillberg R, Abrahamsson H, Svedlund J, Bjorntson ES. Quality of life in inflammatory bowel disease in remission: the impact of IBS-like symptoms and associated psychological factors. *Am J Gastroenterol* 2002; **97**: 389–96.
- 2 Pellissier S, Dantzer C, Canini F, Mathieu N, Bonaz B. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2010; **35**: 653–62.
- 3 Jermdal P, Ringstrom G, Agerforz P, Karrefors M, Akkermans LM, Bayati A, Simren M. Gastrointestinal-specific anxiety: an important factor for severity of GI symptoms and quality of life in IBS. *Neurogastroenterol Motil* 2010; **22**: 646–e179.
- 4 Halpin SJ, Ford AC. Prevalence of symptoms meeting criteria for irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; **107**: 1474–82.
- 5 Labus JS, Bolus R, Chang L, Wiklund I, Naesdal J, Mayer EA, Naliboff BD. The Visceral Sensitivity Index: development and validation of a gastrointestinal symptom-specific anxiety scale. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; **20**: 89–97.
- 6 Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; **5**: 1043–65.
- 7 Straub RH, Antoniou E, Zeuner M, Gross V, Scholmerich J, Andus T. Association of autonomic nervous hyperreflexia and systemic inflammation in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Neuroimmunol* 1997; **80**: 149–57.
- 8 Ohlsson B, Sundkvist G, Lindgren S. Subclinical sympathetic neuropathy appears early in the course of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2007; **7**: 33.
- 9 Merognani J, Clarcncon D, Vivier M, Peinnequin A, Mouret C, Sinniger V, Picq C, Job A *et al.* Anti-inflammatory effect of vagus nerve stimulation in a rat model of inflammatory bowel disease. *Auton Neurosci* 2011; **160**: 82–9.
- 10 Bonaz BL, Bernstein CN. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2013; **144**: 36–49.
- 11 Bernstein CN, Niazi N, Robert M, Mertz H, Kodner A, Munakata J, Naliboff B, Mayer EA. Rectal afferent function in patients with inflammatory and functional intestinal disorders. *Pain* 1996; **66**: 151–61.
- 12 Helson H. *Adaptation-Level Theory: An Experimental and Systematic Approach to Behavior*. New York: Harper and Row, 1964.
- 13 Dvorak AM, Silen W. Differentiation between Crohn's disease and other inflammatory conditions by electron microscopy. *Ann Surg* 1985; **201**: 53–63.
- 14 Agostini A, Benuzzi F, Filippini N, Bertani A, Scarcelli A, Farinelli V, Marchetta C, Calabrese C *et al.* New insights into the brain involvement in patients with Crohn's disease: a voxel-based morphometry study. *Neurogastroenterol Motil* 2013; **25**: 147–e182.
- 15 Straub RH, Herfarth H, Falk W, Andus T, Scholmerich J. Uncoupling of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in inflammatory bowel disease? *J Neuroimmunol* 2002; **126**: 116–25.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Data S1. Patients and methods.

SUPPLEMENTARY DATA

Patients and Methods:

Patients were recruited from the outpatient consultation of the gastroenterology clinic of the Grenoble University Hospital; healthy control subjects were recruited by advertising through the local Clinical Investigation Center. Patients were 43 ± 4 years old (range 25-58) with a male/female ratio of 1/1. Control subjects were 37 ± 3 years old (range 24-58) with a male/female ratio of 1.0/2.3. The age difference between patients and controls was not significant ($p=0.112$). Mean CD duration was 15 ± 3 years (range 2-34). There was no significant association between the patients' age and disease duration. Patients had a mean Body Mass Index (BMI) of 23 ± 1 kg/m^2 while control subjects had a mean BMI of 25 ± 2 kg/m^2 . The difference was not significant ($p=0.630$).

CD treatments consisted in oral sulfasalazine ($n=1$), azathioprine ($n=2$), anti-Tumor Necrosis Factor (TNF) ($n=4$) or a combination therapy (anti-TNF+azathioprine, $n=2$). None of the patients received steroids.

No study participant was on analgesic, anxiolytic, antidepressant or cardiologic treatment.

Psychological variables

Anxiety and depressive symptomatology were evaluated using the validated State-Trait Anxiety Inventory (STAI) (Spielberger et al., 1983) and the Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale (CES-D) (Weissman et al., 1977) respectively. Both had been translated and validated in French (Bruchon-Schweitzer and Paulhan, 1993; Fuhrer and Rouillon, 1989). The STAI questionnaire comprises 20 items for trait-anxiety and 20 items for state-anxiety, each rated from 1 to 4. The total score therefore varies from 20 to 80 for each type of anxiety. The CES-D questionnaire is composed of 20 items, each rated from 0 to 3, reflecting the number of depressive symptoms experienced by the subject and their frequency; the total score therefore ranges between 0 and 60.

Visceral sensitivity

The rectal distensions threshold was determined with a pressure-controlled barostat (G&J Electronics Inc, Toronto, Canada) using staircase distensions every 60 seconds with pressure increments of 5 mmHg. After each step, there was a rating period for pain, discomfort and urge-to-defecate with a verbal numerical rating scale from 0 to 100. The

distension threshold that was retained was the volume eliciting a 70% discomfort and/or urge-to-defecate with a pain rating of at least 10%. Its reproducibility was subsequently verified in a volumetric sequence. All participants were naïve to the study protocol.

Autonomic balance

The ECG recordings were all done in the morning, between 9 and 11 am. All patients were lying on their backs, with spontaneous breathing (mean breathing frequency not significantly different between controls and patients, $p > 0.05$), and had a 10 min rest before the beginning of the recording. In this condition, heart-rate variability (HRV) variables essentially represent the parasympathetic tone (Appelhans and Luecken, 2008; Reyes Del Paso et al., 2013). Three participants (1 control subject and 2 patients) were smokers. However, since the ECG was recorded 1h15 to 1h30 after their arrival, the impact of nicotine on brain activity was considered to be nearly null (Porchet et al., 1987; Schmitterlöw et al., 1967).

References of the supplementary data

1. Spielberger CD, Gorsuch R, Lushene R. The State-Trait Personality Inventory (STAI, Form Y). Palo Alto, C., Consulting Psychologists Press 1983.
2. Weissman MM, Sholomskas D, Pottenger M, Prusoff BA, Locke BZ. Assessing depressive symptoms in five psychiatric populations: a validation study. *American journal of epidemiology* 1977; **106**: 203-214.
3. Bruchon-Schweitzer M, Paulhan I, eds. *Inventaire d'Anxiété Etat-Trait Forme Y (STAI-Y)*. Paris 1993.
4. Fuhrer R, Rouillon F. La version française de l'échelle CES-D (Center for epidemiologic studies - depression scale). Description et traduction de l'échelle d'auto-évaluation. *Psychiatr Psychobiol* 1989; **4**: 163-166.
5. Reyes Del Paso GA, Langewitz W, Mulder LJ, van Roon A, Duschek S. The utility of low frequency heart rate variability as an index of sympathetic cardiac tone: A review with emphasis on a reanalysis of previous studies. *Psychophysiology* 2013; **50**: 477-487.
6. Appelhans BM, Luecken LJ. Heart rate variability and pain: associations of two interrelated homeostatic processes. *Biological psychology* 2008; **77**: 174-182.
7. Schmitterlöw CG, Hansson E, Andersson G. Distribution of nicotine in central nervous system. *Ann NY Acad Sci* 1967; **142**.
8. Porchet HC, Benowitz NL, Sheiner LB, Copeland JR. Apparent tolerance to the acute effect of nicotine results in part from distribution kinetics. *The Journal of clinical investigation* 1987; **80**: 1466-1471.

Modulation par le système nerveux autonome de l'effet de l'incertitude dans l'anticipation d'une distension rectale chez le sujet sain

Introduction :

Le cerveau répond à la fois avant (par anticipation) et pendant l'application d'un stimulus aversif. Cette phase d'anticipation permet à l'organisme de réguler son système nociceptif pour mieux gérer le stimulus à venir. Le contexte dans lequel survient un stimulus inconfortable ou douloureux influence également le processus de traitement neurologique. L'incertitude concernant la survenue, le timing et l'intensité d'un événement aversif induit une appréhension et une anxiété anticipatrice pouvant majorer la perception sensorielle. Dans les maladies chroniques caractérisées par des survenues imprévisibles d'inconfort ou de douleurs digestives, telles que les TFI et les MICI, le caractère imprévisible des symptômes provoque une détresse psychologique importante, y compris au cours des périodes asymptomatiques.

Le SNA fait le lien entre le cerveau et le TD. Les MICI et les TFI sont associés à des altérations majeures de l'activité du SNA, avec une dérégulation de la balance sympatho-vagale, en particulier une chute du tonus vagal. L'anxiété chronique et le stress sont associés à une réduction de la HRV, liée à une dérégulation des interactions cerveau-périphérie.

Le but de notre étude était donc d'explorer l'effet de l'incertitude dans l'anticipation et la perception d'une distension rectale hautement inconfortable chez des sujets sains, par une étude d'IRMf, en : 1) identifiant les régions cérébrales activées et/ou désactivées pendant l'anticipation incertaine versus certaine de la distension ; 2) en examinant l'impact de la HRV, des variables psychologiques et de l'anxiété anticipatrice sur l'activité cérébrale au cours de l'anticipation de la distension.

Méthodologie :

Quinze sujets volontaires sains, droitiers, d'origine caucasienne (sexe ratio 6H/9F; âge médian 24 ans, extrêmes 21-43) ont été inclus. Des distensions rectales provoquant un inconfort de 70% minimum sur une échelle visuelle analogique et l'apparition d'une douleur rectale, précédées d'une période d'anticipation certaine ou incertaine (induites par la projection d'un voyant lumineux), ont été effectuées. Les images d'IRMf ont été acquises sur un scanner 3.0 Tesla avec des séquences EPI de TR 3 sec. L'ECG était enregistré de façon concomitante. La composante LF de la HRV a été extraite et insérée en tant que régresseur dans le modèle d'IRMf (le TR de 3s ne permettant pas l'extraction de la composante HF). L'impact de l'activité du SNA a été analysé en comparant le signal IRMf dans les modèles « standard » et « LF-HRV » sur les différentes conditions d'anticipation et de perception de la distension. Les scores des questionnaires

d'évaluation psychologique et l'auto-cotation rétrospective de l'anxiété anticipatrice ressentie ont été inclus comme covariables dans l'analyse des données.

Résultats :

La situation d'incertitude induisait une activation unique au niveau du sgACC ($p=0,006$); cette activation était corrélée positivement à l'anxiété du sujet vis-à-vis de la douleur (score du questionnaire d'anxiété des symptômes douloureux; $r=0,879$, $p<0,001$). L'anticipation incertaine d'une distension induisait l'activation du sgACC et du mPFC et la désactivation de l'amygdale, de l'insula, du thalamus, de S2, de la SMA et du cervelet. Par ailleurs, la prise en compte de l'activité du SNA par l'inclusion de la LF-HRV dans l'analyse des données d'IRMf induisait la disparition de la quasi-totalité des régions trouvées comme activées/désactivées dans le « modèle standard » au cours de l'anticipation des distensions rectales, mais pas au cours des distensions elles-mêmes.

Discussion et conclusion :

Le sgACC a un rôle démontré dans les comportements douloureux et la modulation de l'expectative d'un stimulus aversif. Lors d'un stimulus peu menaçant, son activation est associée au contrôle attentionnel de cette menace, via la mise en jeu inconsciente d'un comportement d'évitement attentionnel. L'activation du mPFC « émotionnel », associée à la désactivation de l'amygdale au cours de l'anticipation incertaine d'une distension rectale, illustrent le rôle du mPFC comme inhibiteur des réactions de peur et de « lutte ou de fuite » induites par l'amygdale, lorsque le contexte ne comporte pas de menace importante.

La disparition, dans le « modèle LF-HRV », de la quasi-totalité du signal IRMf mis en évidence au cours de l'anticipation de la distension rectale dans le « modèle standard », implique que la majeure partie de l'activité cérébrale anticipatoire est imputable à l'activité du SNA. Les régions en cause (insula, amygdale, PFC, thalamus, S2, PAG et cervelet) font effectivement partie du CAN. Une fois ce signal supprimé, il ne restait plus que le signal réellement représentatif de l'activité cérébrale au cours de l'anticipation, impliquant l'activation du sgACC et la désactivation de la SMA, toutes deux corrélées positivement avec l'anxiété du sujet.

Il serait intéressant d'appliquer ensuite cette approche à l'étude de l'impact du SNA sur l'activité cérébrale anticipatrice chez des sujets exposés à l'anticipation de stimulus viscéraux inconfortables ou douloureux viscéraux comportant une menace réelle, tels que les patients atteints de MICI.

Article “Uncertainty in anticipation of uncomfortable rectal distension is modulated by the autonomic nervous system – a fMRI study in healthy volunteers”

Article en cours de révision favorable dans Neuroimage

Uncertainty in anticipation of rectal distension is modulated by the autonomic nervous system – a fMRI study in healthy volunteers

Amandine Rubio^{abc}, Lukas Van Oudenhove^{de}, Sonia Pellissier^{abf}, Huynh Giao Ly^e, Patrick Dupont^{dgh}, Jan Tack^e, Dantzer Cécile^f, Chantal Delon-Martin^{ab}, Bruno Bonaz^{abi}

C.Delon-Martin and B.Bonaz participated equally in their role as last author and are co-last authors.

a. INSERM, U836, F-38000 Grenoble, France

b. Univ. Grenoble Alpes, GIN, F-38000 Grenoble, France

c. CHU de Grenoble, Clinique Universitaire de Pédiatrie, F-38000 Grenoble, France

d. University Psychiatric Centre, Liaison Psychiatry, University Hospital Gasthuisberg, B-3000 Leuven, Belgium

e. Department of Clinical and Experimental Medicine, Translational Research Center for Gastrointestinal Diseases, University of Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

f. Univ. Savoie, F-73000 Chambéry, France

g. Laboratory for Cognitive Neurology, KU Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

h. Medical Imaging Research Centre, KU Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

i. CHU de Grenoble, Hôpital Michallon, Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie, F-38000 Grenoble, France

***Corresponding author:**

Dr Amandine RUBIO

Grenoble Institute of Neurosciences (INSERM U836)

Joseph Fourier University

BP 170, 38706 La Tronche, France

arubio@chu-grenoble.fr

Tel: +334 76 76 87 06

Fax: +334 76 76 87 71

ABSTRACT

The human brain responds both before and during the application of aversive stimuli. Anticipation allows the organism to prepare its nociceptive system to respond adequately to the subsequent stimulus. The context in which an uncomfortable stimulus is experienced may also influence neural processing. Uncertainty of occurrence, timing and intensity of an aversive event may lead to increased anticipatory anxiety, fear, physiological arousal and sensory perception.

We aimed to identify, in healthy volunteers, the effects of uncertainty in the anticipation of uncomfortable rectal distension, and the impact of the autonomic nervous system (ANS) activity and anxiety-related psychological variables on neural mechanisms of anticipation of rectal distension using fMRI.

Barostat-controlled uncomfortable rectal distensions were preceded by cued uncertain or certain anticipation in 15 healthy volunteers in a fMRI protocol at 3T. Electrocardiographic data were concurrently registered by MR scanner. The low frequency (LF)-component of the heart rate variability (HRV) time-series was extracted and inserted as a regressor in the fMRI model (*'LF-HRV model'*). The impact of ANS activity was analyzed by comparing the fMRI signal in the *'standard model'* and in the *'LF-HRV model'* across the different anticipation and distension conditions. The scores of the psychological questionnaires and the rating of perceived anticipatory anxiety were included as covariates in the fMRI data analysis.

Our experiments led to the following key findings: 1) the subgenual anterior cingulate cortex (sgACC) is the only activation site that relates to uncertainty in healthy volunteers and is directly correlated to individual questionnaire score for pain-related anxiety; 2) uncertain anticipation of rectal distension involved several relevant brain regions, namely activation of sgACC and medial prefrontal cortex and deactivation of amygdala, insula, thalamus, secondary somatosensory cortex, supplementary motor area and cerebellum; 3) most of the brain activity during anticipation, but not distension, is associated with activity of the central autonomic network.

This approach could be applied to study the ANS impact on brain activity in various pathological conditions, namely in patients with chronic digestive conditions characterized by visceral discomfort and ANS imbalance such as irritable bowel syndrome or inflammatory bowel diseases.

HIGHLIGHTS

sgACC is the only activation site that relates to uncertainty, in healthy subjects.

sgACC activation during uncertainty is correlated to individual pain-related anxiety.

Uncertain anticipation involves activation of sgACC-MPFC and amygdala deactivation.

Brain activity during anticipation reflects central autonomic network activity.

KEYWORDS

Anterior cingulate cortex – Anticipation – Anxiety – Autonomic nervous system – Discomfort – HRV – IRMf – Rectal distension

ABBREVIATIONS

ACC	Anterior Cingulate Cortex
ANS	Autonomic Nervous System
CAN	Central Autonomic Network
HF-HRV	High-frequency band of Heart Rate Variability
HRV	Heart Rate Variability
INS	Insula
LF-HRV	Low-frequency band of Heart Rate Variability
PAG	PeriAqueductal Gray
sgACC	subgenual Anterior Cingulate Cortex
S2	Secondary somatosensory cortex
SMA	Supplementary Motor Area
vmPFC	Ventral region of medial PreFrontal Cortex

INTRODUCTION

Evidence from neuroimaging studies in humans has shown that the brain responds both before and during the application of aversive stimuli (Fairhurst et al., 2007; Ploghaus et al., 1999; Porro et al., 2002; Seifert et al., 2013). Anticipation allows the organism to prepare its nociceptive system to better cope with the upcoming stimulus (Hsieh et al., 1999; Weisenberg et al., 1996). This anticipatory coping involves either the up- or downregulation of sensory signal-processing brain areas, namely the anterior cingulate cortex (ACC), insula (INS), thalamus, and prefrontal cortex (PFC) (Berman et al., 2008; Sawamoto et al., 2000; Schmid et al., 2013; Song et al., 2006; Wager et al., 2004), thereby resulting in decreased or increased perception (Wager et al., 2013). The neural mechanisms involved in the processing and modulation of visceral sensory signals were outlined by Mayer et al. as three distinct yet highly intertwined networks: the homeostatic-afferent, emotional-arousal, and cortical-modulatory network (Mayer, 2011; Mayer et al., 2006). This visceral sensory-signal processing is similar to somatic pain processing (Dunckley et al., 2005b; Strigo et al., 2003). However, the distinction between discomfort and pain appears to be less clear for visceral than somatic pain, as visceral distension may elicit other discomfort and unpleasant symptoms that precede or co-occur with pain (Dunckley et al., 2005a).

In the literature on visceral pain, rectal distension protocols greatly vary in terms of distension pressures, volumes and/or elicited discomfort/pain ratings (Berman et al., 2008; Craggs et al., 2014; Elsenbruch et al., 2012; Morgan et al., 2005; Schmid et al., 2014; Wilder-Smith et al., 2004). Rectal sensations are indeed a continuum between discomfort and pain, and there can sometimes be an ambiguity as to when discomfort ends and when pain starts (Elsenbruch et al., 2012; Kotsis et al., 2012; Wilder-Smith et al., 2004). However, in all of these studies, regardless of the retained distension threshold, rectal distension generally activated the same regions of the “pain neuro-matrix” (Casey, 2000; Coen et al., 2007), namely the somatosensory cortex, thalamus, ACC and INS. Furthermore, brain activity during visceral distension was shown to be proportional to the intensity of the distension, with a continuum between sensory and pain thresholds, for both esophageal (Coen et al., 2007) and rectal distension (Bittorf et al., 2006).

The context in which pain is experienced is known to influence neural processing. There is evidence, from both animal and human experimentation, that uncertainty of occurrence, timing and intensity of a painful event leads to increased anticipatory anxiety, fear, and physiological arousal, which may in turn influence pain perception (Oka et al., 2010; Yoshida et al., 2013). In chronic diseases characterized by unpredictable episodes of uncomfortable and/or painful symptoms, such as irritable bowel syndrome (IBS) or inflammatory bowel diseases (IBD), the unpredictable character of symptoms induces severe psychological distress, even during the period without actual symptoms (Lix et al., 2008; Piche et al., 2010; Schirbel et al., 2010). Yoshida et al. (Yoshida et al., 2013) recently showed in a fMRI study that in healthy volunteers, uncertainty regarding the intensity of cued somatic pain correlated with increased anticipatory activity in the ipsilateral anterior INS, and led to hyperalgesia. Furthermore, the authors evidenced that the individual susceptibility to hyperalgesia correlated with brain responses to uncertainty, at the time of pain receipt, in the periaqueductal gray (PAG). However, in their study, the uncertainty involved the intensity of cutaneous pain, not the occurrence of pain itself. The differential effect of uncertain versus certain anticipation of pain occurrence has thus never been explored. Further, the influence of uncertainty on brain responses during anticipation and perception of uncomfortable visceral sensations has not been explored.

« The state of the brain reacts through the pneumo-gastric (vagus) nerve on the heart » (Darwin, 1872). The autonomic nervous system (ANS) is also the link between the brain and the gut (Bonaz and Bernstein, 2013). Chronic digestive diseases involving prolonged discomfort, stress, uncertainty and/or anxiety, such as IBS and IBD, are associated with profound alterations of ANS activity (Pellissier et al., 2010; Thayer and Lane, 2009). These alterations usually involve a reduction in the parasympathetic tone and an increase in the sympathetic activity (i.e. an imbalance of the ANS). Spectral analysis of heart rate variability (HRV) is a reliable noninvasive technique enabling a quantitative assessment of the sympatho-vagal balance (Lombardi et al., 1996). The HRV task force (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996a) divided the global HRV spectrum into three main components: the high frequency power spectrum (HF, from 0.15 to 0.4 Hz) that reflects parasympathetic tone and fluctuations caused by respiratory

sinus arrhythmia; the low frequency power spectrum (LF, from 0.04 to 0.15 Hz) that reflects both sympathetic and parasympathetic tone due to the influence of the baroreflex regulation; and the very low frequency power spectrum (VLF, from 0.0033 to 0.04 Hz) attributed to thermoregulatory processes, peripheral vasomotor activity and the renin-angiotensin system, considered to be a sympathetic indicator (Akselrod et al., 1981) of worries. Thayer et al. (Thayer et al., 2012) showed that chronic anxiety and threat perception are associated with lower HRV due to a dysregulated brain-peripheral integration. However the link between HRV and brain activity during anticipation and perception of rectal distension has, to our knowledge, never been studied.

Our aim was therefore to explore the effect of uncertainty in the anticipation and delivery of uncomfortable rectal distension in healthy volunteers in a functional neuroimaging study and to 1) identify brain regions activated and/or deactivated during uncertain versus certain anticipation; 2) examine the impact of HRV, individual psychological traits reflecting anxiety and cognitions towards uncomfortable visceral and somatic sensations (including pain) and anxiety ratings during the anticipation period on the activations/deactivations during the (un)certain anticipation of uncomfortable rectal distension.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Fifteen healthy right-handed Caucasian volunteers (sex ratio: 6M/9F; median age 24 years, range 21-43) were recruited through local advertising by the Grenoble Clinical Investigation Center. Exclusion criteria were: age < 18 years or > 65 years, any concurrent medical condition including neurological, psychiatric, cardiovascular and endocrine conditions, any organic gastrointestinal, anal, hepatic or other systemic disease, bowel resections (except appendectomy) or abdominal operations, any history of recurrent abdominal pain, bowel transit disorders, bloating or discomfort during the last 12 months, MRI-specific exclusion criteria (ferromagnetic implantations, phobic anxiety, claustrophobia), pregnancy and breast-feeding, and ongoing treatment with any drug other than oral contraceptives. The study protocol was approved by the local Ethics Committee (Comité de Protection des Personnes Sud Est V, France) on October 5th, 2011 and registered under the protocol number 11-CHUG-19. The inclusion period was January 2012 to May 2013. All participants gave written informed consent and received a compensation for their participation.

Experimental setup

Preliminary to fMRI, individual rectal discomfort threshold was defined. For this purpose, a tailor-made lubricated rectal balloon attached to the top of a flexible catheter was inserted approximately 5 cm into the rectum. The subject was positioned on a bed in a quiet preparation room in a comfortable supine position. After a 10-min acclimatization period, the balloon was inflated with a pressure-controlled barostat (G&J Electronics Inc, Toronto, Canada) using staircase distensions with pressure increments of 5 mmHg. After each step, there was a rating period of 30 seconds for pain, discomfort and urge-to-defecate with a verbal numerical rating scale from 0 to 100 (0 = “none” and 100 = “intolerable discomfort, pain or urge to defecate”). The discomfort threshold that was retained was the volume eliciting 70% discomfort (severe discomfort) with a pain rating of at least 10%. This threshold was retained in order to be tolerated by the subject for the duration of the epochs of the fMRI examination (Baciu et al., 1999); furthermore, results from a pilot study showed that the occurrence of severe discomfort or urge and/or the safety limit (50 mmHg) prevents the distension

sequence from being continued until pain threshold in the majority of healthy volunteers. The reproducibility of the rating for the identified volume was subsequently verified in a volumetric distension sequence identical to the distension sequence used during the trials in the fMRI experiment (ultra-rapid volumetric distension to discomfort threshold using a custom-made function on the barostat, deflation after 18 seconds). Volumetric distensions were chosen based on our pilot study showing better reproducibility of ratings during volumetric distensions (confirming earlier findings with gastric distension by Ladabaum et al (Ladabaum et al., 2007), as well as technical issues (faster inflation, increasing residual volume during deflation periods upon repeated rapid isobaric in- and deflations). So as not to influence the subsequent ratings, no information was given to the subjects regarding the distension volume and its consistency throughout the fMRI experiment.

The sequence of stimuli during the fMRI experiment was controlled by the dedicated software package Presentation® (NeuroBehavioral Systems, San Francisco, California) installed on a PC computer connected to the MRI scanner, the barostat, the video-projector and the 2-buttons response box (Current Designs®, Philadelphia, Pennsylvania) (Figure 1.A). The initiation of the stimulus in each functional run was synchronized with the scanner via detection of the TTL pulse produced by the triggering signal from the scanner. The experiment consisted in 6 functional runs, of 12 tests each. Each test comprised an anticipation phase followed by a distension (or no distension) and a rating period (Figure 1.B). During the anticipation phase, a visual cue was presented for 3 seconds on the screen observed by the subject, in the form of an exclamation point (“!”) before certain distensions, question mark (“?”) for the uncertain distension condition, and a zero (“0”) for the certain absence of distension. This cue was followed by an anticipation period of random duration between 9 and 18 seconds in total (including cue duration) before distension to minimize predictability. Subsequently, the distension phase, triggered by the software to the barostat, contained either a real distension during 18 seconds (approximately 5 seconds for inflation to the subject-specific predefined threshold depending on the height of the threshold, approximately 13 seconds at the threshold, followed by deflation) or no distension during the same duration. Immediately after each deflation, subjects retrospectively rated the anxiety felt during the anticipation period and the discomfort experienced during the distension period by moving the location of a cursor on a 0-100 visual

analogue scale on the screen. The cursor was moved interactively left or right by two keys on a 2-buttons response box, from a randomized starting position. This was followed by a 3-second resting period. During each functional run, there were 4 trials with certain anticipations (“!”), 4 with uncertain anticipation (“?”) and 4 with safe anticipation (“0”), presented in a random order. Each uncertain anticipation cue had a 50% probability of being followed by distension. This probability was randomized among the 6 functional runs of the experiment and unknown to the subject. Thus each anticipation condition had 24 occurrences during the fMRI experiment and each subject had 36 distensions and 36 no-distensions. For each functional run, the software registered the MRI trigger corresponding to the beginning of each volume acquisition, the type and timing of each test, and the ratings. All these data were filed in a log file that was used to automatically extract the design matrix related to each fMRI run (see MRI data analysis).

Subjects were placed in the scanner in a supine position with the rectal balloon inserted but deflated. The balloon was then connected to the barostat located outside the magnet room via a long flexible plastic tube that runs through the waveguide. Subjects were asked to pay attention to the visual instructions presented on the screen. A short training sequence was run with minimum one trial of each type without image acquisitions to insure full comprehension of the protocol and avoid novelty effects.

MRI data acquisition

The experiments were carried out at the “IRMaGe” platform of Grenoble University, France (<https://irmage.ujf-grenoble.fr/>). All MR images were acquired on a 3.0 Tesla MRI scanner (Philips Medical Systems, Best, Netherlands) with a 32 channel head coil. During the first session a high resolution T1-weighted whole-brain structural image using MP-RAGE sequence (TR 25 ms; TE 3.9 ms; TI 800 ms; voxel size 0.89x0.89x1.2 mm³) was acquired. This short session allowed the subject to become familiar with the MR environment, so that it should not induce any additional stress during the second session. Further, during this session, the set of psychological questionnaires was filled in. The second MRI session, carried out 24 hours to several days after the first, was dedicated to the 6 fMRI runs as described above. Functional images were obtained with a gradient echo planar imaging sequence (TR 3s; TE 30 ms; flip angle 80°; 52 slices of 3 mm thick; voxel size 2.75x2.75x3 mm³) covering the whole brain including the

cerebellum. A total of 240 images were acquired per functional run for a total examination duration of 1h12'.

Physiological data acquisition

Concurrently, electrocardiographic recordings were performed using 4 MR compatible ECG electrodes (InVivo International, Best, The Netherlands) and registered by the MR scanner at a sampling frequency of 500 Hz. The scanner software includes an automatic detection of the R-peaks whose occurrences are also registered. Additionally, the finger photoplethysmography (pulse plethysmography unit of the scanner), sensitive to the hemodynamic pulse at fingertip, was recorded simultaneously at 100 Hz. The scanner software also automatically detects the maximum of the plethysmographic signal and registered its occurrence. Using a pressure sensor positioned around the chest, the respiration signal was acquired at a sampling frequency of 100 Hz. These physiologic data, the peaks detected by the scanner software, and the marker of beginning and end of the fMRI acquisitions, were registered in the so-called ScanPhysLog file.

Heart rate variability analysis

HRV components of interest were extracted using a home-made program developed in **R** (www.r-project.org) in the following way. The times corresponding to R markers were read from the ScanPhysLog file and the RR intervals were computed. Since ECG recordings can be corrupted by gradients commutations, outliers in RR can occur. The values of such outliers were higher than the mean RR value ± 3 standard deviations of RR, a detection criterion that presents the probability to exclude by chance 1/1,000 of RR values and which is used in other studies (Kemper et al., 2007; Persson et al., 2005). These outliers were replaced by the previous RR value. When the total number of outliers represented more than 3% of the total RR intervals, the data from plethysmography were used. The times corresponding to plethysmographic peaks were read from the ScanPhysLog file and the peak-to-peak intervals were computed. Since plethysmographic signals were optical, they could not be corrupted by gradient commutations but outliers could still occur if, for instance, the sensor moved during the acquisition. The values of such outliers were detected when they were higher than the mean peak-to-peak value ± 3 standard deviations. These outliers were then replaced by the previous value. Data were rejected if both RR signals and beat-to-beat signals were

corrupted. Due to the possible delay between beat-to-beat plethysmographic signal (measured at fingertip) and RR intervals (measured on the chest), we computed the cross-correlation between both signals. We found a mean delay of 620 msec for the beat-to-beat interval with a correlation > 0.99 . When RR intervals were not usable, we thus used the beat-to-beat intervals derived from plethysmography corrected for this 620 msec time-shift.

Since our fMRI data were acquired with a TR of 3s, their frequency band ranged from -0.167 Hz to 0.167 Hz ($=1/(2TR)$). The fMRI data cannot be correlated to regressors whose frequency spectrum is beyond the frequency range of the functional data. Thus, the high frequency (HF)-HRV band that ranges between 0.15 Hz and 0.4 Hz could not be inserted as a regressor in the fMRI model. Only the very low frequency (VLF) and low frequency (LF)-HRV band as defined by the task force in its Guidelines (Task Force of the European Society of Cardiology, 1996) could be introduced in the analysis. The RR intervals were then resampled and filtered using wavelet-transform in 3 sub-bands using the 'waveslim' package that contains the wavelet transforms tools (<http://cran.r-project.org/web/packages/waveslim>): the LF_{high}-HRV band from 0.08 to 0.16 Hz; the LF_{mid}-HRV band from 0.04 Hz to 0.08 Hz and the LF_{low}-HRV band from 0.02 to 0.04 Hz. The border effects and the time-shift introduced by the wavelet filtering were further corrected for. The 3 so-defined HRV signals were further introduced in the fMRI analysis.

Behavioral data analysis

Anxiety and discomfort ratings repeatedly obtained after each trial during scanning were analysed using linear mixed models in SAS 9.3 software (SAS Institute, Cary, NC, USA). In the model with anxiety ratings as the dependent variable, "repetition" was entered as a continuous independent variable (to test the effect of repeated administration of the anticipation conditions over time expressed as a linear slope), whereas "condition" (safe, certain, uncertain) was entered as a categorical variable; the model also included the repetition-by-condition interaction effect (testing the difference in repetition slope between conditions). Random intercepts and slopes for repetition (per subject as well as per condition within subject) were used to model the variance-covariance structure of the data as this model was shown to fit the data best based on Akaike's Information Criterion (AIC). The model with discomfort ratings as the

dependent variable was similar, but the condition factor had four levels here (safe, certain, uncertain distension and uncertain no distension). Both models also included discomfort threshold as a continuous covariate to control for and test the effect of discomfort threshold on both outcomes.

Individual MRI data analysis

We processed and analysed the fMRI data using SPM8 software (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL; www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/) and custom-written software in Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA).

Individual analyses were performed in the referential of each subject. Pre-processing included motion correction, slice-timing, coregistration of the functional images on the structural image and spatial smoothing with a $3 \times 3 \times 3 \text{mm}^3$ full width at half maximum Gaussian 3D-kernel. Statistical analyses were conducted within a block design using the generalized linear model (Friston et al., 1994). Each condition was modelled as a box-car stimulus function convolved with the canonical hemodynamic response function and entered into a standard generalized linear model that includes a high-pass filtering with a cut-off frequency of $1/128 \text{ s}$ to remove low-frequency drifts in the signals. Two different kinds of analysis were conducted. In the first one, no contribution of the ANS was hypothesized. This model is further referred to as the '*standard model*'. In the second one, since the unpredictable character of distension occurrence could trigger anticipatory arousal, we assumed that the ANS could be involved. This second model is further referred to as the '*LF-HRV model*'.

In both models, there were 7 regressors of interest (certain anticipation of distension (!), uncertain anticipation (?), certain anticipation of no-distension (0), expected distension (!D), unexpected distension (?D), unexpected no-distension (?Ø) and expected no-distension (0Ø) and 7 regressors of no interest (rating block and 6 motion parameters that were included to account for residual effects of scan-to-scan motion). The onset and duration of all regressors of interest were derived automatically from the log files registered by the stimulus presentation, using a home-made Matlab program and were entered in the design matrix.

For the '*LF-HRV model*', the three regressors $\text{LF}_{\text{high}}\text{-HRV}$, $\text{LF}_{\text{mid}}\text{-HRV}$ and $\text{LF}_{\text{low}}\text{-HRV}$ were added to the '*standard model*'.

For both models, contrasts related to the anticipatory period were then computed for each individual: a contrast relating to “pure uncertainty” (cancelling out the effect of anticipation as such): “ $-\frac{1}{2}(!+0)$ ”; a contrast relating to the uncertain anticipation as compared to the safety condition: “ $?-0$ ”; and a contrast relating to the certain anticipation period as compared to the safety condition: “ $!-0$ ”. In order to take into account the anxiety level reported by each individual, we computed the contrasts relating to anticipation by a linear combination of the contrast at each run weighted by the mean anxiety rating in the run. To find the network related to rectal distension, we also contrasted all distension conditions versus no-distension conditions: “ $(!D+?D)-(?Ø+0Ø)$ ”. Finally, to explore the effect of unexpectedness on the perception of distension, we contrasted unexpected distension versus expected distension: “ $(?D-!D)-(?Ø-0Ø)$ ”.

Assessment of psychological variables

Psychological assessments were performed during a separate session, a few days prior to the rectal distensions and fMRI experiments, in resting conditions. General anxiety was assessed for each subject using the trait version of the State-Trait Anxiety Inventory [STAI (Spielberger, 1983)]. It differentiates the more general and long-standing quality of “trait anxiety” from the temporary condition of “state anxiety”. The Pain Anxiety Symptoms Scale measures aspects of specific pain-related anxiety and avoidance (McCracken et al., 1992). The Intolerance of Uncertainty Scale questionnaire (Freeston et al., 1994) was also included.

Group level MRI data analysis

For group analysis, we realigned all individual contrast images to a common referential using the DARTEL transformation method (Ashburner, 2009) that allows accurate inter-individual brains realignment. For this purpose, we first performed segmentation of each structural image into 6 different brain tissues components (using 'New Segment' in SPM8) including grey matter (GM) image. Given the high accurate DARTEL GM template obtained from a previous study (Pizzagalli et al., 2013), we computed the deformation field for each subject that permits to align the individual GM image to the template. To spatially normalise the contrast images to the standard Montreal Neurological Institute (MNI) space, we calculated the affine registration that realigned

our GM template with the GM tissue probability map in the MNI space. Then, for each subject, we applied the combination of the deformation field and affine registration to all contrasts images and to the structural image of each individual. To improve the sensitivity of the analysis to small differences, we smoothed the contrasts images using a small spatial $3 \times 3 \times 3 \text{mm}^3$ full width at half maximum Gaussian 3D-kernel. Group analyses were conducted for contrasts derived from the '*standard model*' and from the '*LF-HRV model*'. The realigned structural images of all subjects were further averaged for display purpose.

We then entered the individual contrasts images derived from each model in a random effect analysis.

The individual brain activity during anticipation of a rectal distension has been shown to be potentially influenced by the subject's psychological and affective state (Elsenbruch et al., 2010; Guthrie et al., 2004). The effect of anxiety-trait and anxiety regarding uncertainty and pain occurrence on brain activity during the anticipation period was therefore investigated. To achieve this, the individual scores for the questionnaires on trait-anxiety, intolerance to uncertainty and anxiety regarding pain occurrence were added as covariates of interest in the group level fMRI analysis.

Activated regions corresponding to each condition were evaluated by one-sample Student's t-test thresholded at an uncorrected voxelwise p-value of 0.001 with a threshold on spatial extent such that the probability on the extent was $p_k < 0.05$. Only regions achieving a probability corrected for multiple comparison at cluster level < 0.05 were retained to form the final activation images. They were then overlaid onto the average anatomical images across participants for accurate localization purposes.

To specifically study the involvement of regions known to be potentially related to anticipation and anxiety, namely the sgACC (Berman et al., 2008) and PAG (Yoshida et al., 2013), we conducted a region-of-interest (ROI) analysis on these two regions. MarsBar 0.43 toolbox (<http://marsbar.sourceforge.net/>) was used to define anatomical spherical ROIs of 5-mm radius based on the ICBM152 non-linear asymmetric template (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/ServicesAtlases/ICBM152Nlin2009>). Their coordinates were based on previous studies. We specified the sgACC ($x=0, y=22, z=-6$) (Fairhurst et al., 2007) and PAG (left: $x=-2, y=-28, z=-8$; right: $x=3, y=-28, z=-6$) (Yoshida et al., 2013). In each ROI, the peak value per subject and per contrast was obtained with a

homemade matlab program. In order to compare peak values in each ROI between conditions, these values were entered in a paired Student's t-test.

RESULTS

A. Behavioral data

The mean balloon pressure to reach 70% discomfort was 30 mmHg (standard error of the mean (SEM) 1 mm Hg; range 25-45); the corresponding volume was 285 ml (SEM 19 ml; range 225-412). The mean pain rating at this threshold was 16% (SEM 3%; range 0-35).

The anticipatory anxiety and discomfort ratings for each condition are shown in Table 1. In the model with anticipatory anxiety VAS ratings as the dependent variable, a significant main effect of condition was found [$F(2,28)=10.82$, $p = 0.0003$]. Post-hoc t-tests of the three pairwise differences with Tukey correction for multiple testing demonstrated that this was due to significant differences between the certain (18.7 ± 0.3) and safe (3.3 ± 0.1) condition ($p=0.0012$) as well as the uncertain (19.8 ± 0.5) and the safe condition ($p=0.0005$), but not between the certain and uncertain conditions ($p=0.95$). The main effect of repetition ($\beta=-0.018 \pm 0.016$, $p=0.29$) and discomfort threshold ($\beta=0.007 \pm 0.004$, $p=0.11$), nor the repetition*condition interaction effect [$F(2,28)=0.62$, $p = 0.55$] were significant.

In the model with discomfort ratings as the dependent variable, a significant main effect of condition was found [$F(3,42)=557.11$, $p < 0.0001$]. Post-hoc t-tests of all the pairwise differences with Tukey correction for multiple testing demonstrated that this was due to significant differences between the certain (69.5 ± 1.8) and uncertain distension conditions (68.6 ± 1.9) on the one hand and the safe (4.1 ± 1.8) and uncertain distension conditions (4.4 ± 1.8) on the other (all $p<0.0001$), but not between the certain and uncertain distension conditions ($p=0.98$), nor between the uncertain no distension and safe conditions ($p=1.0$). Neither the main effect of repetition ($\beta=0.0001 \pm 0.001$, $p=0.93$) and discomfort threshold ($\beta=0.002 \pm 0.002$, $p=0.42$), nor the repetition*condition interaction effect [$F(3,42)=0.15$, $p = 0.93$] were significant. These data show that the target levels of discomfort obtained during the thresholding procedure were also obtained during scanning, and that they were stable upon repeated stimulation.

B. fMRI data

1. Effect of uncertain and certain anticipation of rectal distension in the '*standard model*'

Uncertainty in the anticipation of rectal distension activates the subgenual anterior cingulate cortex (sgACC)

The effect of pure uncertainty revealed a cluster of activation in the sgACC, corresponding to the Brodman area (BA) 25. Activation in the sgACC was significantly higher in the uncertain (“?”) than in the certain (“!” and “0”) anticipation conditions ($p=0.006$ for the difference at cluster level in the ROI analysis) (Figure 2.A and Table 2.A).

The effect of uncertain anticipation was also assessed by comparing neural activation across the uncertain *vs* safe anticipation condition. As for the uncertainty effect, significant activation was evidenced in the sgACC, along with activation in the ventral region of medial PFC (vmPFC) and deactivations in the left amygdala, bilateral secondary somatosensory cortex (S2), bilateral SMA, right mid-temporal gyrus, right frontal cortex, bilateral pulvinar, right cerebellum, right ventral (v) INS, and PAG (Figure 3.A and Table 2.A).

Certain anticipation of rectal distension deactivates the “pain signature network”

Certain anticipation of rectal distension led to the deactivation of brain regions (vINS and dpINS, S1/S2, SMA, thalamus, PAG, occipital lobe, cerebellum) (Figure 4.A and Table 4.A, which form the “pain signature network” outlined by Wager et al (Wager et al., 2013).

2. Association between HRV and brain activity during uncertain and certain anticipation of rectal distension

Effect of uncertainty in the '*LF-HRV model*'

When LF-HRV was incorporated as a regressor in the fMRI analysis, uncertainty also produced significant activation in the sgACC, with a higher cluster T-value than was evidenced in the '*standard model*'. The activation was also significantly higher in the uncertain (“?”) than in the certain (“!” and “0”) anticipation conditions ($p=0.002$ for the difference at cluster level in the ROI analysis) (Figure 2.B and Table 2.B).

Effect of uncertain anticipation in the '*LF-HRV model*'

As was the case in the '*standard model*', the uncertain *vs* safe anticipation condition in the '*LF-HRV model*' also yielded significant activation in the sgACC and deactivation in the left SMA (Figure 3.B and Table 3.B). However, all other deactivations evidenced in the '*standard model*' were no longer found.

Effect of certain anticipation in the '*LF-HRV model*'

In the '*LF-HRV model*', the deactivations that were shown in the '*standard model*' in S1/S2, PAG, amygdala, thalamus, cerebellum and occipital lobe were no longer observed. Only the deactivations in the left SMA and right dpINS were still found (Figure 4.B and Table 4.B).

3. Modulation of neural activation during uncertain and certain anticipation by psychological variables and anticipatory anxiety in the '*LF-HRV model*'

In the contrast reflecting pure uncertainty [$?-1/2(!+0)$], a significant correlation was found between the individual level of sgACC activation and the Pain Anxiety Symptoms Scale score ($r=-0.551$, $p=0.032$). No other significant association was found between other psychological variables or perceived anticipatory anxiety and the brain activity in the pure uncertainty contrast.

In the contrast reflecting uncertain anticipation ($?-0$), when taking into account the psychological variables, the deactivation in the left SMA was strengthened (cluster T-value increasing from 5.92 to 7.81). This was also the case for the contrast reflecting certain anticipation ($!-0$) (cluster T-value increasing from 7.60 to 9.71 for the left SMA and from 5.72 to 8.25 for the right SMA).

Taking into account the psychological variables and anticipatory anxiety did not have any significant impact on brain activity during rectal distension.

4. Association between HRV and the visceral pain network

In the '*standard model*', rectal distension activated the right mid-INS, the bilateral inferior parietal lobule and the right operculum (Figure 5.A and Table 4.A). In the '*LF-HRV model*', rectal distension activated the same areas, along with the head of the left caudate nucleus (Figure 5.B and Table 5.B).

5. Modulation of the visceral pain network by uncertainty

In the '*standard model*', analysis of the influence of uncertain anticipation on the perception of rectal distension (?D-!D)-(?Ø-0Ø) showed bilateral S2, left SMA, occipital cortex, left vINS and dpINS, right cerebellum, bilateral pulvinar and right lentiform nucleus activation (Figure 6.A and Table 6.A).

In the '*LF-HRV model*', this analysis demonstrated frontal cortex (post-central gyrus), cerebellum, SMA and amygdala activation (Figure 6.B and Table 6.B).

DISCUSSION

In this fMRI study we sought to identify the effects of uncertainty in the anticipation of uncomfortable rectal distension and the relationship between neural correlates of anticipation, ANS activity and psychological variables. Our experiments led to the following key findings: 1) sgACC activation is the only activation site that relates to uncertainty in healthy volunteers, and it is positively correlated to individual pain-related anxiety; 2) uncertain anticipation involved several relevant brain regions, namely activation of sgACC and MPFC and deactivation of amygdala, insula, thalamus, S2, SMA and cerebellum; 3) most of the brain responses during anticipation of uncomfortable rectal distension, but not during distension itself, is associated with ANS activity.

High rectal discomfort stimulates the pain matrix

Despite the fact that the chosen distension threshold provoked, in our study, high discomfort without true pain, our results indicate that the pain matrix was implicated. This is in agreement with previous studies suggesting a continuum, in terms of neural activity, between visceral discomfort and pain (Bittorf et al., 2006; Coen et al., 2007). It is also noteworthy that there were great similarities between our study and other acknowledged rectal pain studies for the rectal distension pressures (Elsenbruch et al., 2014; Leung et al., 2013), distension volumes (Wilder-Smith et al., 2004) and the elicited discomfort ratings (Kotsis et al., 2012; Wilder-Smith et al., 2004).

Uncertainty leads to sgACC activation in healthy volunteers

Our results are in agreement with previous findings regarding the role of sgACC in the modulation of aversion expectancy. The activation of the ventral (subgenual and pregenual) ACC during anticipation of upcoming aversive stimuli was reported in several studies (Nitschke et al., 2006; Ploghaus et al., 2003; Straube et al., 2009a). Activation of the sgACC during expectation of a moderately threatening stimulus was shown to be associated with attentional control of threat, through the increase of a default processing state and attentional avoidance behavior (Bishop et al., 2004; Mogg and Bradley, 1998). Straube et al. (Straube et al., 2009a) found a positive correlation

between anxiety and brain activation in the ACC during moderate threat in healthy volunteers.

Uncertainty about potential negative events is known to induce stress and to increase anticipatory anxiety (Brown et al., 2008; Carlsson et al., 2006; Mineka and Hendersen, 1985). Uncertainty has also been shown to recruit the ACC (Critchley et al., 2001; Nitschke et al., 2006; Sarinopoulos et al., 2010; Sawamoto et al., 2000). As our experiment held a moderate threat, the finding of enhanced sgACC activation in the uncertain anticipation paradigm, in comparison with the “certain” and “null” anticipation conditions, is therefore in agreement with previous data. The fact that our subjects did not rate the uncertain condition as more anxiety-provoking than the certain one is in line with the findings of Lane et al. (Lane et al., 2013) as to the fact that sgACC activity appears to execute its functions in the absence of conscious emotional experience.

“Emotional” mPFC activation and amygdala deactivation during uncertain anticipation of rectal distension

We showed that in healthy volunteers, uncertain anticipation regarding the occurrence of rectal distension led to activation of vmPFC in addition to sgACC. Both areas are part of the “emotional” functional division of the mPFC proposed by Amodio and Frith (Amodio and Frith, 2006). The vmPFC plays a critical role in the regulation of both behavioral and physiological responses, including emotional appraisal (Wager et al., 2008), context-dependent reduction of fear behavior and regulation of negative emotion (Delgado et al., 2008; Wager et al., 2008). Its role is centered on the construction of context, including autobiographical memory retrieval (McDermott et al., 2009) and expectations about future outcomes (Summerfield et al., 2006). Maier and colleagues demonstrated that vmPFC activity is necessary and sufficient for the protective effects of behavioral control on stress responses (Maier et al., 2006). They noted that the vmPFC may inhibit threat circuits that are by default ‘on’ in a manner that depends on integrating the external context (environmental threat) with the internal one (perceptions of control over the threat). This idea is consistent with other studies that show that the vmPFC plays a protective role when cognitive appraisals are specifically engaged to regulate emotion (Eippert et al., 2007; Wager et al., 2008). Milad et al. (Milad et al., 2005) found that cortical thickness in the ventral aspect of vmPFC was associated with

enhanced fear extinction. In our study, sgACC and vmPFC activation was paralleled by left amygdala deactivation during uncertain anticipation of rectal distension. This result is consistent with the knowledge that the amygdala serves as a rapid detector of potential threats, and a mediator of adaptive “fear” responses (Nader et al., 2000) with a bias toward negative information (Wager et al., 2008). It was proposed that the “default” response to uncertainty and threat is the sympatho-excitatory preparation for action commonly known as the “fight or flight response” (Thayer and Lane, 2009). However, in a relatively safe context, fear or threat representations in the amygdala appear to be inhibited (Berman et al., 2008; Petrovic et al., 2004) through amygdala deactivation by the PFC and the vmPFC in particular (Thayer and Siegle, 2002). Left lateralization of amygdala function, as noted in our results, has been shown in the context of emotion processing (Wager et al., 2003), especially when subjects were aware of the presented stimuli.

Central autonomic network activity accounts for most of the fMRI signal evidenced during anticipation of rectal distension

In this study, we also aimed at highlighting the relationship between ANS activity and fMRI responses during anticipation of rectal distension. The LF-component of the HRV band was thus incorporated in the fMRI analysis as a regressor, to identify the fMRI signal that was associated with ANS activity. It is noteworthy that in this ‘*LF-HRV model*’, nearly all of the signal that was evidenced in the ‘*standard model*’ during certain and uncertain anticipation of rectal distension disappeared. This implies that most of the brain activity during anticipation is associated with ANS activity. The regions involved were: INS, amygdala, PFC, thalamus, S2, PAG and cerebellum, which have all been described as part of the central autonomic network (CAN) (Beissner et al., 2013). Since the early 2000s, many groups have attempted to relate estimates of efferent autonomic activity using electrodermal reactivity (Critchley et al., 2005; Urry et al., 2009; Williams et al., 2001) or HF-HRV power with concurrent brain response using fMRI (Critchley et al., 2003; Napadow et al., 2005) or Positron Emission Tomography (Lane et al. 2001; Gianaros et al. 2004) during behavioral tasks that are thought to modulate the ANS. Correlating fMRI task response with out-of-scanner baseline HRV (O'Connor et al., 2007) has also been performed. The results were not always consensual, as experimental conditions greatly differed between studies, namely in

terms of metrics (in-scanner or out-of-scanner HF-HRV, electrodermal activity, pupil diameter, cardiac acceleration), stimuli (affective, cognitive or somatosensory-motor) or method for integrating the autonomic outflow in conjunction with neuroimaging data. Incorporating the HRV signal in the fMRI analysis as a regressor was done earlier by Napadow et al. (Napadow et al., 2008). However, in their study, the HF-component of the HRV band was used for isolating the parasympathetic component of the autonomic outflow. This was not possible in our experiment as the HF power was beyond the frequency range of our functional data due to the 3s-TR. The LF-HRV bands which we integrated regroup a mixture of sympathetic and parasympathetic autonomic influences. However, in the resting supine position, the LF component of the HRV was shown to be mainly of parasympathetic influence (Appelhans and Luecken, 2008; Reyes Del Paso et al., 2013).

Once the fMRI signal linked to autonomic control of LF cardiovascular activity was removed, the only remaining signal of brain activity during uncertain anticipation included sgACC activation and SMA deactivation. Furthermore, it is noteworthy that both positively correlated with anxiety (pain-related anxiety for sgACC and anticipatory anxiety for SMA).

The SMA contributes to the control of movement. It has also been shown to be part of the extended system for perception of emotional information and of a neural interface linking sensory areas with brain regions implicated in generation of behavioral responses (Ethofer et al., 2013). Several studies indicated that SMA contributed to promoting protective motor reactions in emotionally-significant contexts of negative valence (Pawliczek et al., 2013; Sagaspe et al., 2011). Finally, Oliveri et al. (Oliveri et al., 2003) evidenced the implication of SMA in the control of movements triggered by visual stimuli with emotional content and suggested that SMA could interface the limbic and the motor systems in the transformation of emotional experiences into motor actions.

Limitations

Several limitations to the current study must be acknowledged. *First*, the 3s-TR implied that we had a partial view of the parasympathetic CAN activity, through the analysis of the HRV-LF power range only. However, our aim was not to have an exhaustive view

of the parasympathetic CAN but to distinguish the extent of fMRI signal that was attributable to ANS activity in our conditions of anticipation. Furthermore, the 3s-TR was chosen as it enables a better resolution of fMRI images. *Secondly*, the study sample size was quite small and the results need to be confirmed in larger cohorts, with perhaps differential analyses according to gender, as it has recently been shown to influence brain activity during anticipated and experienced visceral pain (Kano et al., 2013), particularly with respect to cognitive-emotional (Benson et al., 2012) and attentional (Straube et al., 2009b) pain modulation. *Thirdly*, the lack of true rectal pain led to low anticipatory anxiety. As the degree of sgACC activity depends on the level of perceived threat for the individual (Bishop et al., 2004; Mogg and Bradley, 1998), it would be of interest to carry out similar experiments in subjects for whom visceral discomfort is highly anxiety-provoking, such as IBS or IBD patients. Moreover, these patients are known to have abnormal brain pain processing (Bonaz et al., 2002; Song et al., 2006; Tillisch et al., 2005; Wilder-Smith et al., 2004), an ANS imbalance (Pellissier et al., 2010) and cerebral structural modifications (Agostini et al., 2013; Chen et al., 2011; Chen et al., 2012). Furthermore, the impact of ANS activity during anticipation could be a lead to explain the efficacy of HRV-modifying therapies (mindfulness, hypnosis) on digestive symptoms in these pathologies.

In conclusion, this study is the first to report the effect of pure uncertainty (sgACC activation) and uncertain anticipation (sgACC activation and SMA deactivation) on brain responses to uncomfortable visceral (i.e. rectal) distension in healthy volunteers. Furthermore, our combined LF-HRV-fMRI approach allowed us to highlight a significant CAN implication in conditions of anticipation. This approach could be optimized and applied to study the ANS impact on brain activity in patients exposed to chronic uncomfortable or painful visceral symptoms.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Direction de la Recherche Clinique of the Grenoble University Hospital and the pharmaceutical firms Cephalon and Ferring for funding support, as well as the University of Leuven for providing us with the barostat used in this study and the “IRMaGe” platform of the Grenoble University, that benefit from funding from 'France Life Imaging', part of the French program 'Investissement d'Avenir', for their help with the fMRI acquisitions. We also thank Hugo Lafaye de Michaut for the software tool that extracted the HRV regressors.

Legend of Figures and Tables

Figure 1: Experimental setup

A: fMRI setup. Presentation software receives trigger inputs from the MR scanner, drives the barostat that produces a distension or not depending on the type of trial, transmits visual instructions to the subject via video-projector and registers the ratings given by the subject after each trial. Physiological data are recorded simultaneously by a dedicated device included in the MR system.

B: Diagram of a trial, consisting in 3 periods: a period of an anticipation, a period of distension (or not) and a rating period.

Figure 2: Brain regions activated by uncertainty

A: Brain regions activated by uncertainty [$["?" - \frac{1}{2}("!" + "0")$] in the '*standard model*'.

Differential analysis of neural activation during cued uncertain *vs* (certain+safe) anticipation of rectal distension in all subjects ($p=0.006$). Activation of the sgACC (BA 25) and effect size depending on the type of anticipation. $p<0.001$ at voxel-level, $k>200$ ($p_k < 0.05$)

B: Brain regions activated by uncertainty [$["?" - \frac{1}{2}("!" + "0")$] in the '*LF-HRV model*'.

Incorporation of the LF-component of the HRV as a regressor in the fMRI analysis.

Differential analysis of neural activation during cued uncertain *vs* (certain+safe) anticipation of rectal distension in all subjects ($p=0.002$). Activation of the sgACC (BA 25) and effect size depending on the type of anticipation. $p<0.001$ at voxel-level, $k>200$ ($p_k < 0.05$)

Figure 3: Brain regions activated by uncertain anticipation of rectal distension

A: Brain regions activated by uncertain anticipation ($["?" - "0"]$) in the '*standard model*' and

B: in the '*HRV model*'. $p<0.001$ at voxel-level (for display purpose, p threshold was lowered at $p<0.005$), $k>200$ ($p_k < 0.05$).

Figure 4: Brain regions activated by certain anticipation of rectal distension

A: Brain regions activated by certain anticipation ($["!" - "0"]$) in the '*standard model*' and B:

in the '*LF-HRV model*'. $p<0.001$ at voxel-level, $k>250$ ($p_k < 0.05$). For display purpose, p threshold was lowered at $p<0.005$, $k>500$ ($p_k < 0.05$).

Figure 5: Brain regions activated during rectal distension

A: Brain regions activated during distension in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 175$ ($p_k < 0.05$). For display purpose, p threshold was lowered at $p < 0.002$, $k > 500$ ($p_k < 0.05$).

Figure 6: Brain regions activated during rectal distension preceded by uncertain versus certain anticipation

A: Brain regions activated during distension in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 300$ ($p_k < 0.05$)

Table 1: Anticipatory anxiety and discomfort ratings

Table 2: Brain regions activated by uncertainty

A: Brain regions activated by uncertainty [$“?” - \frac{1}{2}(“!” + “0”)$] in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'

Table 3: Brain regions activated by uncertain anticipation of rectal distension (“?”-“0”)

A: Brain regions activated by uncertain anticipation in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'

Table 4: Brain regions activated by certain anticipation of rectal distension (“!”-“0”)

A: Brain regions activated by uncertain anticipation in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'

Table 5: Brain regions activated by rectal distension

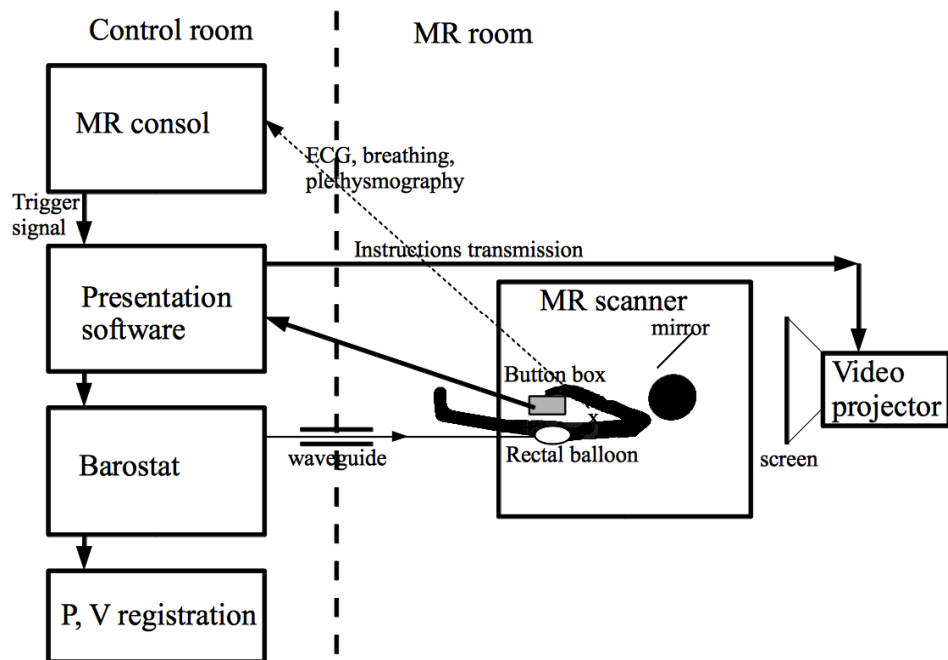
A: Brain regions activated by rectal distension in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'

Table 6: Brain regions activated during rectal distension preceded by uncertain versus certain anticipation

A: Brain regions activated by rectal distension preceded by uncertain versus certain anticipation in the '*standard model*' and B: in the '*LF-HRV model*'

Figure 1

A



B

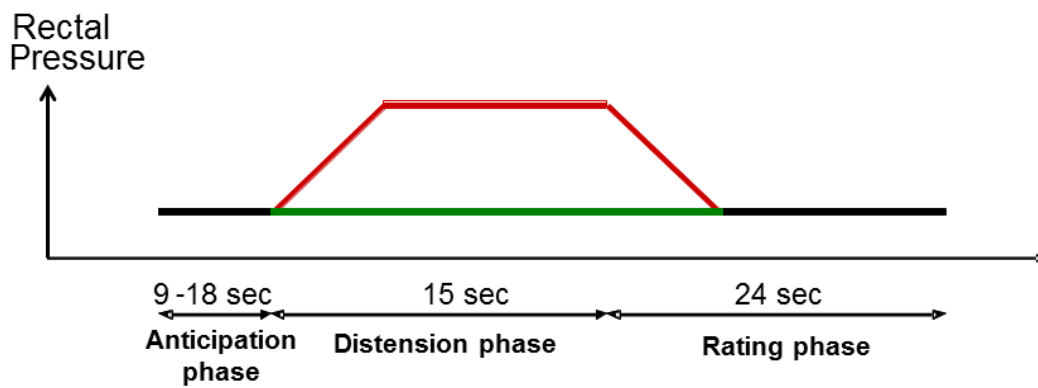
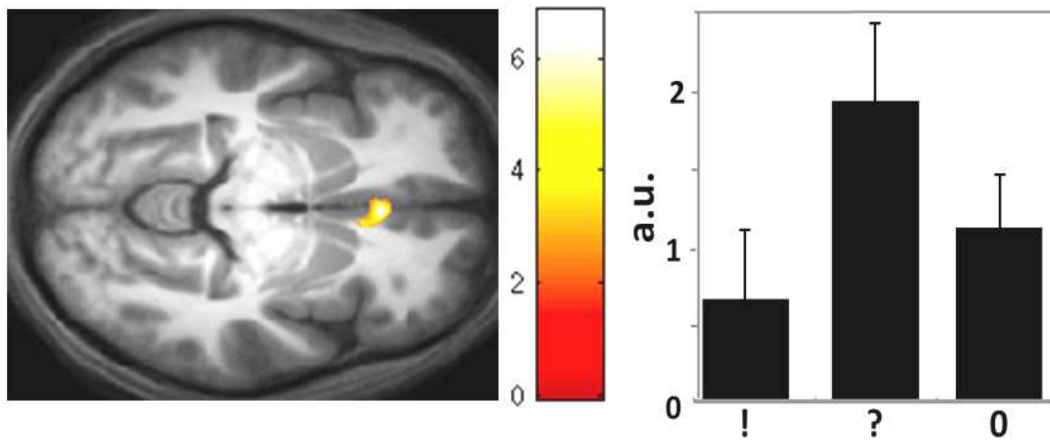


Figure 2

A



B

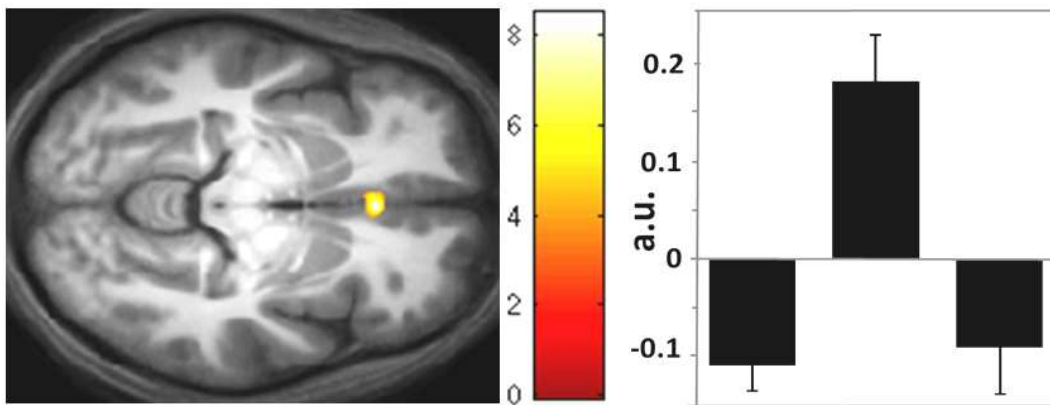


Figure 3

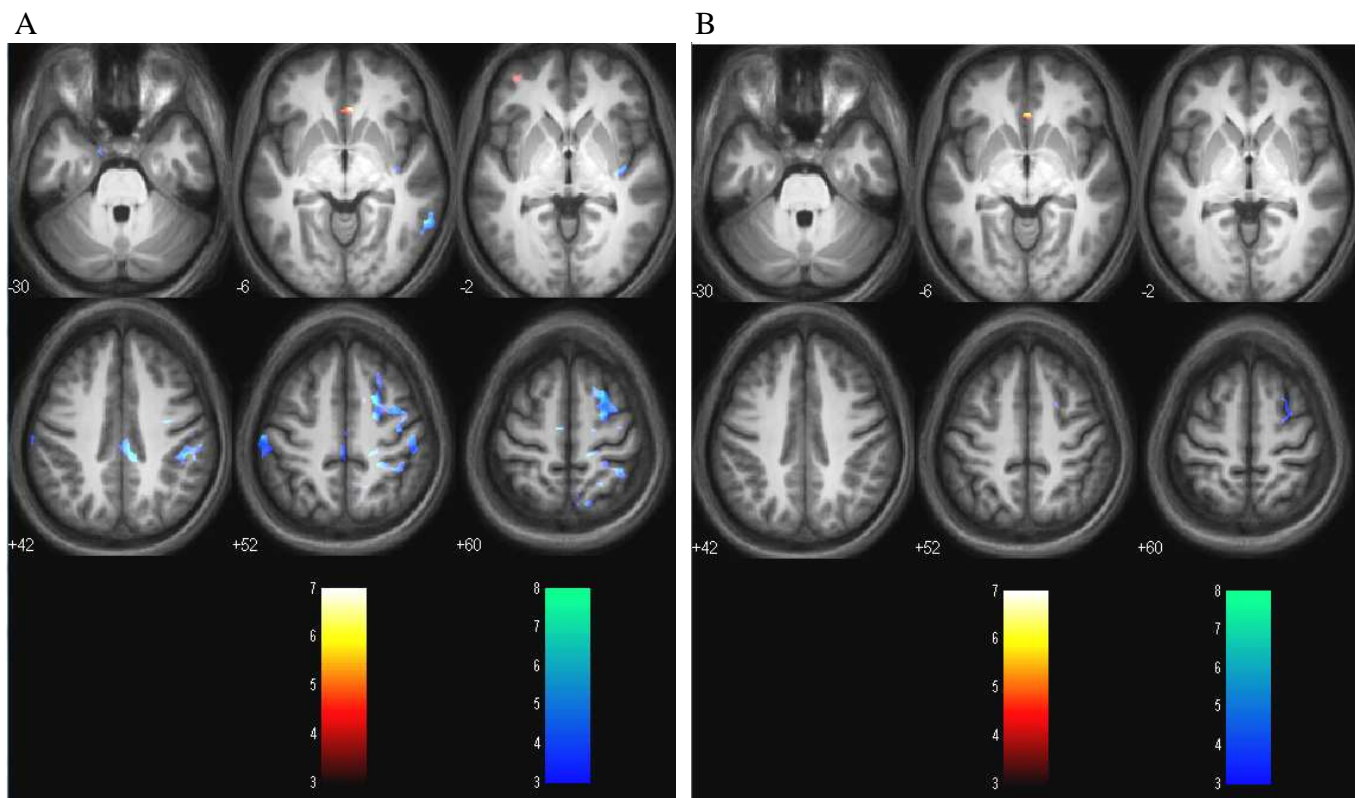


Figure 4

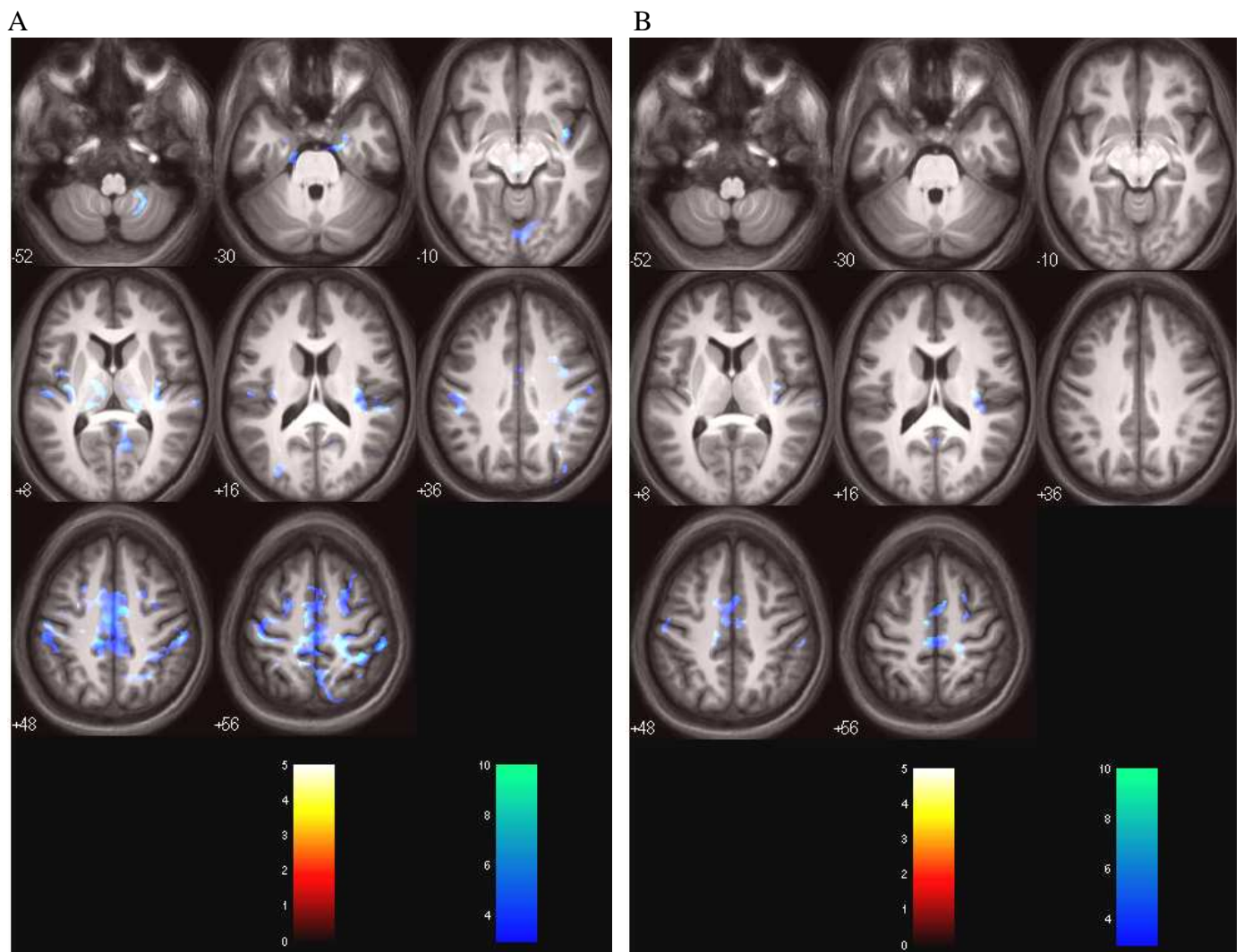


Figure 5

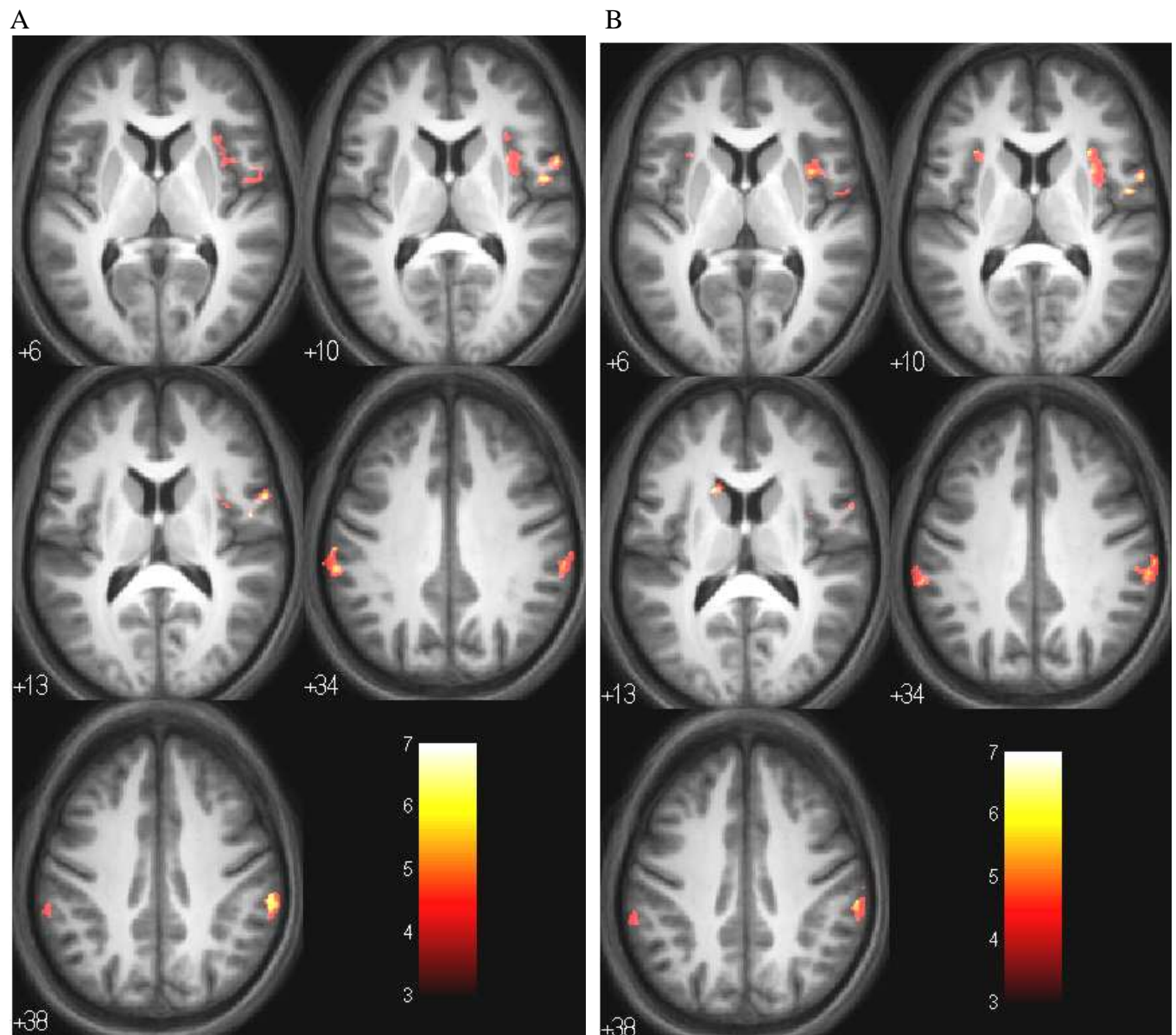


Figure 6

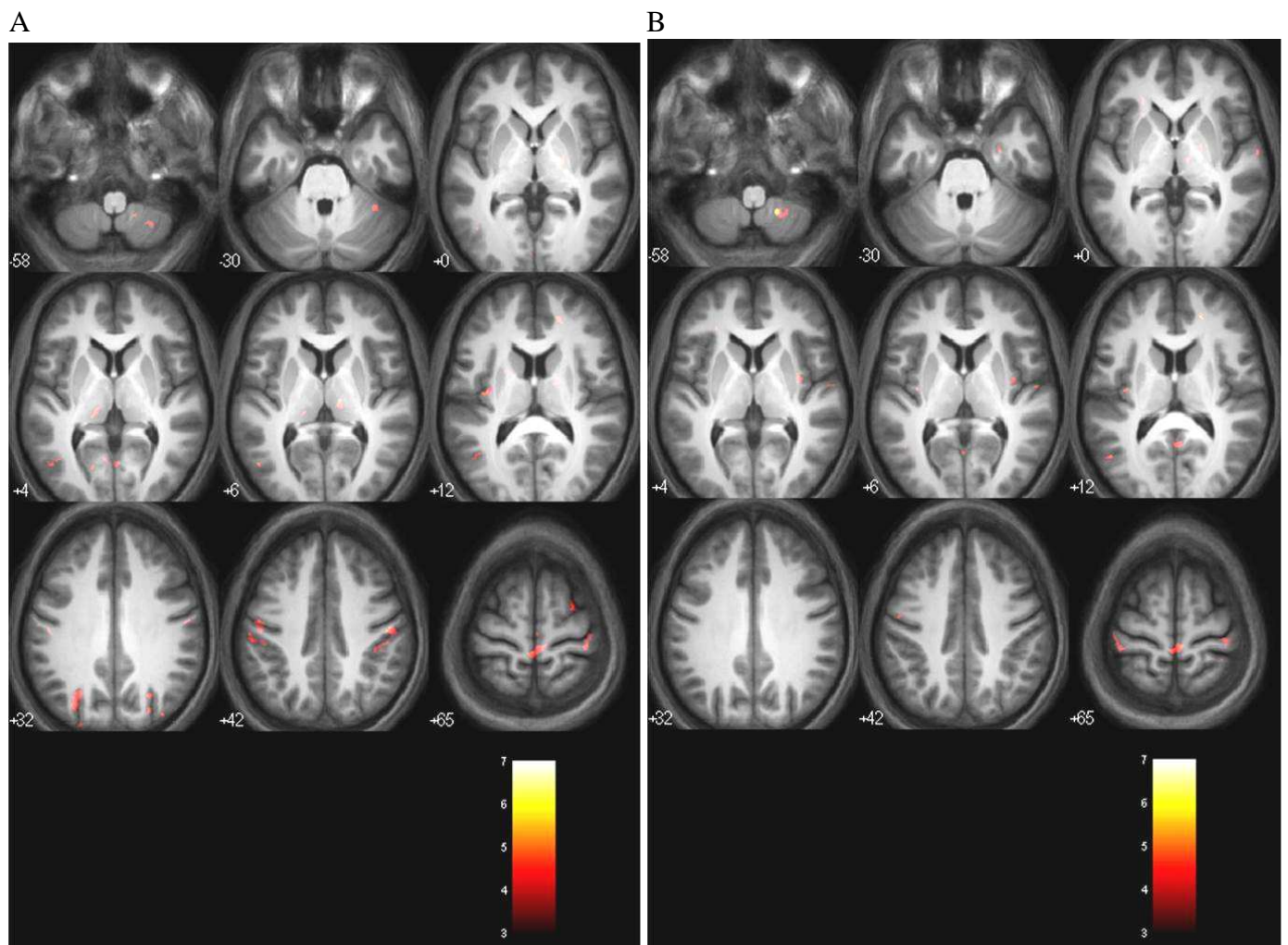


Table 1

Condition	Rating
Anticipatory anxiety	
0	3.3 ± 0.1
?	19.8 ± 0.5
!	18.7 ± 0.3
Discomfort	
0∅	4.1 ± 1.8
?∅	4.9 ± 1.8
?D	68.6 ± 1.9
!D	69.5 ± 1.8

Table 2

Table 2A

Uncertain - (certain+safe) anticipation in the '<i>standard model</i>'	Coordinates				Statistics	
	Side	X	Y	Z	k	T
Activation sg ACC	R	1	31	-7	221	6.85

Table 2B

Uncertain - (certain+safe) anticipation in the '<i>LF-HRV model</i>'	Coordinates				Statistics	
	Side	X	Y	Z	k	T
Activation sg ACC	R	1	31	-8	197	8.49

Table 3

Table 3A

Uncertain-safe anticipation in the ‘standard model’	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
Activation						
sgACC	R	4	30	-6	249	6.44
vmPFC	L	-33	55	6	640	5.27
Deactivation						
Mid-temporal gyrus, BA21	R	59	-50	-7	856	8.20
S2	R	43	-36	32	2,044	6.44
	L	-59	-20	50	492	6.22
SMA	R	16	-32	56	1,827	6.49
	L	-11	-31	52	1,368	5.66
Frontal cortex, BA6	R	23	9	56	3,991	6.75
Thalamus: pulvinar	R	14	-25	-2	1,022	6.71
	L	-16	-22	-1	1,022	5.18
Amygdala	L	-14	0	-28	639	5.41
Cerebellum	R	38	-43	-42	258	6.07
PAG	L	-4	-27	-7	133	4.98
vINS	R	34	-19	2	304	5.81

Table 3B

Uncertain-safe anticipation in the ‘LF-HRV model’	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
Activation						
sg ACC	R	0	30	-6	170	5.43
Deactivation						
SMA	L	-7	-15	62	216	5.92

Table 4

Table 4A

Certain-safe anticipation in the ‘standard model’	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
Deactivation						
S1/S2	R	53	-33	55	1,717	9.81
	L	-53	-17	45	414	6.10
PAG	R	-2	-24	-8	340	8.60
dpINS	R	35	-17	14	1,382	6.92
	L	-33	-16	5	587	5.22
vINS	R	38	0	-10	386	6.91
SMA	R	8	-4	49	3,877	6.89
	L	-10	-28	59	10,284	7.56
Amygdala	R	21	-9	-30	340	7.04
Thalamus, VLN	R	-13	-11	11	263	6.76
Thalamus, pulvinar	R	11	-25	-1	712	6.04
	L	-8	-21	5	384	5.13
Cerebellum	R	25	-55	-52	466	6.27
Occipital lobe	R	10	-71	-6	318	5.46

Table 4B

Certain-safe anticipation in the ‘LF-HRV model’	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
Deactivation						
SMA	L	-7	-11	55	1,997	7.60

Table 5

Table 5A

Visceral pain (distension – no distension) in the ‘standard model’	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
Activation						
Inferior parietal lobule	R	63	-32	41	1,779	7.08
	L	-54	-41	48	1,129	5.80
mINS	R	42	10	8	921	6.21
Operculum	R	52	-2	11	320	6.05

Table 5B

Visceral pain (distension – no distension) in the ‘LF-HRV model’	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
Activation						
Inferior parietal lobule	R	63	-31	43	1745	5.97
	L	-53	-41	49	966	5.22
mINS	R	37	9	6	1036	5.60
Operculum	R	52	-2	11	182	5.62
Caudate head	L	-18	17	13	190	5.05

Table 6

Table 6A

Effect of uncertainty on visceral Pain perception (?D-!D)-(?Ø-0Ø) in the 'standard model'						
	Side	Coordinates			Statistics	
		X	Y	Z	k	T
Activation						
S2	L	-50	-19	35	371	6.00
	R	54	-19	45	300	5.96
SMA		1	-33	67	307	5.49
Occipital cortex	L	-31	-76	34	375	6.05
vINS	L	-36	-4	15	107	5.15
dpINS	L	-36	-11	13	105	4.86
Cerebellum	R	26	-62	-54	174	4.96
Pulvinar	R	-17	-30	2	104	4.89
	L	12	-18	6	98	4.47
Lentiform nucleus	R	17	-8	-1	153	4.59

Table 6B

Effect of uncertainty on visceral pain perception (?D-!D)-(?Ø-0Ø) in the 'LF-HRV model'						
	Side	Coordinates			Statistics	
		X	Y	Z	k	T
Activation						
Precentral gyrus	R	31	-27	69	245	6.17
Cerebellum	R	18	-50	-59	279	5.27
SMA	R	7	-31	63	184	5.68
Amygdala	R	27	-6	25	154	4.37

References

- Agostini, A., Benuzzi, F., Filippini, N., Bertani, A., Scarcelli, A., Farinelli, V., Marchetta, C., Calabrese, C., Rizzello, F., Gionchetti, P., Ercolani, M., Campieri, M., Nichelli, P., 2013. New insights into the brain involvement in patients with Crohn's disease: a voxel-based morphometry study. *Neurogastroenterol Motil* 25, 147-e182.
- Akselrod, S., Gordon, D., Ubel, F.A., Shannon, D.C., Berger, A.C., Cohen, R.J., 1981. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213, 220-222.
- Amodio, D.M., Frith, C.D., 2006. Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nat Rev Neurosci* 7, 268-277.
- Appelhans, B.M., Luecken, L.J., 2008. Heart rate variability and pain: associations of two interrelated homeostatic processes. *Biol Psychol* 77, 174-182.
- Ashburner, J., 2009. Computational anatomy with the SPM software. *Magn Reson Imaging* 27, 1163-1174.
- Baciu, M.V., Bonaz, B.L., Papillon, E., Bost, R.A., Le Bas, J.F., Fournet, J., Segebarth, C.M., 1999. Central processing of rectal pain: a functional MR imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol* 20, 1920-1924.
- Beissner, F., Meissner, K., Bar, K.J., Napadow, V., 2013. The autonomic brain: an activation likelihood estimation meta-analysis for central processing of autonomic function. *J Neurosci* 33, 10503-10511.
- Benson, S., Kotsis, V., Rosenberger, C., Bingel, U., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S., 2012. Behavioural and neural correlates of visceral pain sensitivity in healthy men and women: does sex matter? *Eur J Pain* 16, 349-358.
- Berman, S.M., Naliboff, B.D., Suyenobu, B., Labus, J.S., Stains, J., Ohning, G., Kilpatrick, L., Bueller, J.A., Ruby, K., Jarcho, J., Mayer, E.A., 2008. Reduced brainstem inhibition during anticipated pelvic visceral pain correlates with enhanced brain response to the visceral stimulus in women with irritable bowel syndrome. *J Neurosci* 28, 349-359.
- Bishop, S., Duncan, J., Brett, M., Lawrence, A.D., 2004. Prefrontal cortical function and anxiety: controlling attention to threat-related stimuli. *Nat Neurosci* 7, 184-188.
- Bittorf, B., Ringler, R., Forster, C., Hohenberger, W., Matzel, K.E., 2006. Cerebral representation of the anorectum using functional magnetic resonance imaging. *Br J Surg* 93, 1251-1257.
- Bonaz, B., Baciu, M., Papillon, E., Bost, R., Gueddah, N., Le Bas, J.F., Fournet, J., Segebarth, C., 2002. Central processing of rectal pain in patients with irritable bowel syndrome: an fMRI study. *Am J Gastroenterol* 97, 654-661.
- Bonaz, B.L., Bernstein, C.N., 2013. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 144, 36-49.
- Brown, C.A., Seymour, B., Boyle, Y., El-Deredy, W., Jones, A.K., 2008. Modulation of pain ratings by expectation and uncertainty: Behavioral characteristics and anticipatory neural correlates. *Pain* 135, 240-250.
- Carlsson, K., Andersson, J., Petrovic, P., Petersson, K.M., Ohman, A., Ingvar, M., 2006. Predictability modulates the affective and sensory-discriminative neural processing of pain. *Neuroimage* 32, 1804-1814.
- Casey, K.L., 2000. Concepts of pain mechanisms: the contribution of functional imaging of the human brain. *Prog Brain Res* 129, 277-287.
- Chen, J.Y., Blankstein, U., Diamant, N.E., Davis, K.D., 2011. White matter abnormalities in irritable bowel syndrome and relation to individual factors. *Brain Res* 1392, 121-131.

- Chen, M., Lee, G., Kwong, L.N., Lamont, S., Chaves, C., 2012. Cerebral white matter lesions in patients with Crohn's disease. *J Neuroimaging* 22, 38-41.
- Coen, S.J., Gregory, L.J., Yaguez, L., Amaro, E., Jr., Brammer, M., Williams, S.C., Aziz, Q., 2007. Reproducibility of human brain activity evoked by esophageal stimulation using functional magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293, G188-197.
- Craggs, J.G., Price, D.D., Robinson, M.E., 2014. Enhancing the placebo response: functional magnetic resonance imaging evidence of memory and semantic processing in placebo analgesia. *J Pain* 15, 435-446.
- Critchley, H.D., Mathias, C.J., Dolan, R.J., 2001. Neural activity in the human brain relating to uncertainty and arousal during anticipation. *Neuron* 29, 537-545.
- Critchley, H.D., Mathias, C.J., Josephs, O., O'Doherty, J., Zanini, S., Dewar, B.K., Cipolotti, L., Shallice, T., Dolan, R.J., 2003. Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence. *Brain* 126, 2139-2152.
- Critchley, H.D., Tang, J., Glaser, D., Butterworth, B., Dolan, R.J., 2005. Anterior cingulate activity during error and autonomic response. *Neuroimage* 27, 885-895.
- Darwin, C., 1872. *The Expression of the Emotions in Man and Animals*. Harper Collins, London.
- Delgado, M.R., Nearing, K.I., Ledoux, J.E., Phelps, E.A., 2008. Neural circuitry underlying the regulation of conditioned fear and its relation to extinction. *Neuron* 59, 829-838.
- Dunckley, P., Wise, R.G., Aziz, Q., Painter, D., Brooks, J., Tracey, I., Chang, L., 2005a. Cortical processing of visceral and somatic stimulation: differentiating pain intensity from unpleasantness. *Neuroscience* 133, 533-542.
- Dunckley, P., Wise, R.G., Fairhurst, M., Hobden, P., Aziz, Q., Chang, L., Tracey, I., 2005b. A comparison of visceral and somatic pain processing in the human brainstem using functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 25, 7333-7341.
- Eippert, F., Veit, R., Weiskopf, N., Erb, M., Birbaumer, N., Anders, S., 2007. Regulation of emotional responses elicited by threat-related stimuli. *Hum Brain Mapp* 28, 409-423.
- Elsenbruch, S., Kotsis, V., Benson, S., Rosenberger, C., Reidick, D., Schedlowski, M., Bingel, U., Theysohn, N., Forsting, M., Gizewski, E.R., 2012. Neural mechanisms mediating the effects of expectation in visceral placebo analgesia: an fMRI study in healthy placebo responders and nonresponders. *Pain* 153, 382-390.
- Elsenbruch, S., Rosenberger, C., Enck, P., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., 2010. Affective disturbances modulate the neural processing of visceral pain stimuli in irritable bowel syndrome: an fMRI study. *Gut* 59, 489-495.
- Elsenbruch, S., Schmid, J., Kullmann, J.S., Kattoor, J., Theysohn, N., Forsting, M., Kotsis, V., 2014. Visceral sensitivity correlates with decreased regional gray matter volume in healthy volunteers: a voxel-based morphometry study. *Pain* 155, 244-249.
- Ethofer, T., Breitscher, J., Wiethoff, S., Bisch, J., Schlipf, S., Wildgruber, D., Kreifelts, B., 2013. Functional responses and structural connections of cortical areas for processing faces and voices in the superior temporal sulcus. *Neuroimage* 76, 45-56.
- Fairhurst, M., Wiech, K., Dunckley, P., Tracey, I., 2007. Anticipatory brainstem activity predicts neural processing of pain in humans. *Pain* 128, 101-110.
- Freeston, M.H., Ladouceur, R., Rheume, J., Letarte, H., Gagnon, F., Thibodeau, N., 1994. Self-report of obsessions and worry. *Behav Res Ther* 32, 29-36.
- Friston, K.J., Holmes, A.P., Worsley, K.J., Poline, J.B., Frith, C.D., Frackowiak, R.S., 1994. Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum Brain Mapp* 2, 189-210.

- Guthrie, E., Barlow, J., Fernandes, L., Ratcliffe, J., Read, N., Thompson, D.G., Tomenson, B., Creed, F., 2004. Changes in tolerance to rectal distension correlate with changes in psychological state in patients with severe irritable bowel syndrome. *Psychosom Med* 66, 578-582.
- Hsieh, J.C., Stone-Elander, S., Ingvar, M., 1999. Anticipatory coping of pain expressed in the human anterior cingulate cortex: a positron emission tomography study. *Neurosci Lett* 262, 61-64.
- Kano, M., Farmer, A.D., Aziz, Q., Giampietro, V.P., Brammer, M.J., Williams, S.C., Fukudo, S., Coen, S.J., 2013. Sex differences in brain response to anticipated and experienced visceral pain in healthy subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304, G687-699.
- Kemper, K.J., Hamilton, C., Atkinson, M., 2007. Heart rate variability: impact of differences in outlier identification and management strategies on common measures in three clinical populations. *Pediatr Res* 62, 337-342.
- Kotsis, V., Benson, S., Bingel, U., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S., 2012. Perceived treatment group affects behavioral and neural responses to visceral pain in a deceptive placebo study. *Neurogastroenterol Motil* 24, 935-e462.
- Ladabaum, U., Roberts, T.P., McGonigle, D.J., 2007. Gastric fundic distension activates fronto-limbic structures but not primary somatosensory cortex: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroimage* 34, 724-732.
- Lane, R.D., Weidenbacher, H., Smith, R., Fort, C., Thayer, J.F., Allen, J.J., 2013. Subgenual anterior cingulate cortex activity covariation with cardiac vagal control is altered in depression. *J Affect Disord* 150, 565-570.
- Leung, W.W., Jones, A.Y., Ng, S.S., Wong, C.Y., Lee, J.F., 2013. Acupuncture transcutaneous electrical nerve stimulation reduces discomfort associated with barostat-induced rectal distension: a randomized-controlled study. *World J Gastroenterol* 19, 381-388.
- Lix, L.M., Graff, L.A., Walker, J.R., Clara, I., Rawsthorne, P., Rogala, L., Miller, N., Ediger, J., Pretorius, T., Bernstein, C.N., 2008. Longitudinal study of quality of life and psychological functioning for active, fluctuating, and inactive disease patterns in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 14, 1575-1584.
- Lombardi, F., Malliani, A., Pagani, M., Cerutti, S., 1996. Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. *Cardiovasc Res* 32, 208-216.
- Maier, S.F., Amat, J., Baratta, M.V., Paul, E., Watkins, L.R., 2006. Behavioral control, the medial prefrontal cortex, and resilience. *Dialogues Clin Neurosci* 8, 397-406.
- Mayer, E.A., 2011. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat Rev Neurosci* 12, 453-466.
- Mayer, E.A., Naliboff, B.D., Craig, A.D., 2006. Neuroimaging of the brain-gut axis: from basic understanding to treatment of functional GI disorders. *Gastroenterology* 131, 1925-1942.
- McCracken, L.M., Zayfert, C., Gross, R.T., 1992. The Pain Anxiety Symptoms Scale: development and validation of a scale to measure fear of pain. *Pain* 50, 67-73.
- McDermott, K.B., Szpunar, K.K., Christ, S.E., 2009. Laboratory-based and autobiographical retrieval tasks differ substantially in their neural substrates. *Neuropsychologia* 47, 2290-2298.
- Milad, M.R., Quinn, B.T., Pitman, R.K., Orr, S.P., Fischl, B., Rauch, S.L., 2005. Thickness of ventromedial prefrontal cortex in humans is correlated with extinction memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 10706-10711.
- Mineka, S., Hendersen, R.W., 1985. Controllability and predictability in acquired motivation. *Annu Rev Psychol* 36, 495-529.

- Mogg, K., Bradley, B.P., 1998. A cognitive-motivational analysis of anxiety. *Behav Res Ther* 36, 809-848.
- Morgan, V., Pickens, D., Gautam, S., Kessler, R., Mertz, H., 2005. Amitriptyline reduces rectal pain related activation of the anterior cingulate cortex in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 54, 601-607.
- Nader, K., Schafe, G.E., Le Doux, J.E., 2000. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406, 722-726.
- Napadow, V., Dhond, R., Conti, G., Makris, N., Brown, E.N., Barbieri, R., 2008. Brain correlates of autonomic modulation: combining heart rate variability with fMRI. *Neuroimage* 42, 169-177.
- Napadow, V., Dhond, R.P., Purdon, P., Kettner, N., Makris, N., Kwong, K.K., Hui, K.K., 2005. Correlating acupuncture fMRI in the human brainstem with heart rate variability. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 5, 4496-4499.
- Nitschke, J.B., Sarinopoulos, I., Mackiewicz, K.L., Schaefer, H.S., Davidson, R.J., 2006. Functional neuroanatomy of aversion and its anticipation. *Neuroimage* 29, 106-116.
- O'Connor, M.F., Gundel, H., McRae, K., Lane, R.D., 2007. Baseline vagal tone predicts BOLD response during elicitation of grief. *Neuropsychopharmacology* 32, 2184-2189.
- Oka, S., Chapman, C.R., Kim, B., Shimizu, O., Noma, N., Takeichi, O., Imamura, Y., Oi, Y., 2010. Predictability of painful stimulation modulates subjective and physiological responses. *J Pain* 11, 239-246.
- Oliveri, M., Babiloni, C., Filippi, M.M., Caltagirone, C., Babiloni, F., Cicinelli, P., Traversa, R., Palmieri, M.G., Rossini, P.M., 2003. Influence of the supplementary motor area on primary motor cortex excitability during movements triggered by neutral or emotionally unpleasant visual cues. *Exp Brain Res* 149, 214-221.
- Pawliczek, C.M., Derntl, B., Kellermann, T., Kohn, N., Gur, R.C., Habel, U., 2013. Inhibitory control and trait aggression: neural and behavioral insights using the emotional stop signal task. *Neuroimage* 79, 264-274.
- Pellissier, S., Dantzer, C., Canini, F., Mathieu, N., Bonaz, B., 2010. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 35, 653-662.
- Persson, H., Kumlien, E., Ericson, M., Tomson, T., 2005. Preoperative heart rate variability in relation to surgery outcome in refractory epilepsy. *Neurology* 65, 1021-1025.
- Petrovic, P., Carlsson, K., Petersson, K.M., Hansson, P., Ingvar, M., 2004. Context-dependent deactivation of the amygdala during pain. *J Cogn Neurosci* 16, 1289-1301.
- Piche, T., Ducrotte, P., Sabate, J.M., Coffin, B., Zerbib, F., Dapoigny, M., Hua, M., Marine-Barjoan, E., Dainese, R., Hebuterne, X., 2010. Impact of functional bowel symptoms on quality of life and fatigue in quiescent Crohn disease and irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 22, 626-e174.
- Pizzagalli, F., Auzias, G., Delon-Martin, C., Dojat, M., 2013. Local landmark alignment for high-resolution fMRI group studies: toward a fine cortical investigation of hand movements in human. *J Neurosci Methods* 218, 83-95.
- Ploghaus, A., Becerra, L., Borras, C., Borsook, D., 2003. Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. *Trends Cogn Sci* 7, 197-200.
- Ploghaus, A., Tracey, I., Gati, J.S., Clare, S., Menon, R.S., Matthews, P.M., Rawlins, J.N., 1999. Dissociating pain from its anticipation in the human brain. *Science* 284, 1979-1981.
- Porro, C.A., Baraldi, P., Pagnoni, G., Serafini, M., Facchin, P., Maieron, M., Nichelli, P., 2002. Does anticipation of pain affect cortical nociceptive systems? *J Neurosci* 22, 3206-3214.

- Reyes Del Paso, G.A., Langewitz, W., Mulder, L.J., van Roon, A., Duschek, S., 2013. The utility of low frequency heart rate variability as an index of sympathetic cardiac tone: A review with emphasis on a reanalysis of previous studies. *Psychophysiology* 50, 477-487.
- Sagaspe, P., Schwartz, S., Vuilleumier, P., 2011. Fear and stop: a role for the amygdala in motor inhibition by emotional signals. *Neuroimage* 55, 1825-1835.
- Sarinopoulos, I., Grupe, D.W., Mackiewicz, K.L., Herrington, J.D., Lor, M., Steege, E.E., Nitschke, J.B., 2010. Uncertainty during anticipation modulates neural responses to aversion in human insula and amygdala. *Cereb Cortex* 20, 929-940.
- Sawamoto, N., Honda, M., Okada, T., Hanakawa, T., Kanda, M., Fukuyama, H., Konishi, J., Shibasaki, H., 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. *J Neurosci* 20, 7438-7445.
- Schirbel, A., Reichert, A., Roll, S., Baumgart, D.C., Buning, C., Wittig, B., Wiedenmann, B., Dignass, A., Sturm, A., 2010. Impact of pain on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 16, 3168-3177.
- Schmid, J., Langhorst, J., Gass, F., Theysohn, N., Benson, S., Engler, H., Gizewski, E.R., Forsting, M., Elsenbruch, S., 2014. Placebo analgesia in patients with functional and organic abdominal pain: a fMRI study in IBS, UC and healthy volunteers. *Gut*.
- Schmid, J., Theysohn, N., Gass, F., Benson, S., Gramsch, C., Forsting, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S., 2013. Neural mechanisms mediating positive and negative treatment expectations in visceral pain: A functional magnetic resonance imaging study on placebo and nocebo effects in healthy volunteers. *Pain* 154, 2372-2380.
- Seifert, F., Schuberth, N., De Col, R., Peltz, E., Nickel, F.T., Maihofner, C., 2013. Brain activity during sympathetic response in anticipation and experience of pain. *Hum Brain Mapp* 34, 1768-1782.
- Song, G.H., Venkatraman, V., Ho, K.Y., Chee, M.W., Yeoh, K.G., Wilder-Smith, C.H., 2006. Cortical effects of anticipation and endogenous modulation of visceral pain assessed by functional brain MRI in irritable bowel syndrome patients and healthy controls. *Pain* 126, 79-90.
- Spielberger, C.D., Gorsuch, R., Lushene, R., 1983. The State-Trait Personality Inventory (STAI, Form Y). In: Palo Alto, C., Consulting Psychologists Press. (Ed.).
- Straube, T., Schmidt, S., Weiss, T., Mentzel, H.J., Miltner, W.H., 2009a. Dynamic activation of the anterior cingulate cortex during anticipatory anxiety. *Neuroimage* 44, 975-981.
- Straube, T., Schmidt, S., Weiss, T., Mentzel, H.J., Miltner, W.H., 2009b. Sex differences in brain activation to anticipated and experienced pain in the medial prefrontal cortex. *Hum Brain Mapp* 30, 689-698.
- Strigo, I.A., Duncan, G.H., Boivin, M., Bushnell, M.C., 2003. Differentiation of visceral and cutaneous pain in the human brain. *J Neurophysiol* 89, 3294-3303.
- Summerfield, C., Egner, T., Greene, M., Koechlin, E., Mangels, J., Hirsch, J., 2006. Predictive codes for forthcoming perception in the frontal cortex. *Science* 314, 1311-1314.
- Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 5, 1043-1065.
- Thayer, J.F., Ahs, F., Fredrikson, M., Sollers, J.J., 3rd, Wager, T.D., 2012. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 747-756.
- Thayer, J.F., Lane, R.D., 2009. Claude Bernard and the heart-brain connection: further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev* 33, 81-88.

- Thayer, J.F., Siegle, G.J., 2002. Neurovisceral integration in cardiac and emotional regulation. *IEEE Eng Med Biol Mag* 21, 24-29.
- Tillisch, K., Mayer, E.A., Labus, J.S., Stains, J., Chang, L., Naliboff, B.D., 2005. Sex specific alterations in autonomic function among patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 54, 1396-1401.
- Urry, H.L., van Reekum, C.M., Johnstone, T., Davidson, R.J., 2009. Individual differences in some (but not all) medial prefrontal regions reflect cognitive demand while regulating unpleasant emotion. *Neuroimage* 47, 852-863.
- Wager, T.D., Atlas, L.Y., Lindquist, M.A., Roy, M., Woo, C.W., Kross, E., 2013. An fMRI-based neurologic signature of physical pain. *N Engl J Med* 368, 1388-1397.
- Wager, T.D., Davidson, M.L., Hughes, B.L., Lindquist, M.A., Ochsner, K.N., 2008. Prefrontal-subcortical pathways mediating successful emotion regulation. *Neuron* 59, 1037-1050.
- Wager, T.D., Phan, K.L., Liberzon, I., Taylor, S.F., 2003. Valence, gender, and lateralization of functional brain anatomy in emotion: a meta-analysis of findings from neuroimaging. *Neuroimage* 19, 513-531.
- Wager, T.D., Rilling, J.K., Smith, E.E., Sokolik, A., Casey, K.L., Davidson, R.J., Kosslyn, S.M., Rose, R.M., Cohen, J.D., 2004. Placebo-induced changes in FMRI in the anticipation and experience of pain. *Science* 303, 1162-1167.
- Weisenberg, M., Schwarzwald, J., Tepper, I., 1996. The influence of warning signal timing and cognitive preparation on the aversiveness of cold-pressor pain. *Pain* 64, 379-385.
- Wilder-Smith, C.H., Schindler, D., Lovblad, K., Redmond, S.M., Nirkko, A., 2004. Brain functional magnetic resonance imaging of rectal pain and activation of endogenous inhibitory mechanisms in irritable bowel syndrome patient subgroups and healthy controls. *Gut* 53, 1595-1601.
- Williams, L.M., Phillips, M.L., Brammer, M.J., Skerrett, D., Lagopoulos, J., Rennie, C., Bahramali, H., Olivieri, G., David, A.S., Peduto, A., Gordon, E., 2001. Arousal dissociates amygdala and hippocampal fear responses: evidence from simultaneous fMRI and skin conductance recording. *Neuroimage* 14, 1070-1079.
- Yoshida, W., Seymour, B., Koltzenburg, M., Dolan, R.J., 2013. Uncertainty increases pain: evidence for a novel mechanism of pain modulation involving the periaqueductal gray. *J Neurosci* 33, 5638-5646.

***Effet de l'incertitude dans l'anticipation
d'une douleur viscérale chez le patient
ayant une MC en rémission par rapport
au sujet sain***

Introduction :

Les patients ayant une MC en rémission sont exposés à un stress cognitivo-émotionnel chronique, lié au risque constant de survenue d'une poussée de leur maladie. Cette situation d'anticipation incertaine permanente est à l'origine d'une anxiété majeure.

L'effet de l'anticipation d'une douleur viscérale n'a jamais été étudié chez les patients ayant une MC en rémission, de même que l'impact des états psychologiques et du système nerveux autonome (SNA) au cours de l'anticipation incertaine de la survenue d'une douleur viscérale.

Objectifs : Nous avons recherché si des patients ayant une MC en rémission, par rapport à des sujets volontaires sains, présentaient des différences d'activité cérébrale au cours de l'anticipation certaine et incertaine d'une douleur viscérale induite par distension d'un ballonnet intra-rectal. Enfin nous avons cherché des corrélations entre l'activité de ces régions cérébrales et la sensibilité viscérale, la durée de la maladie ainsi que les variables psychologiques.

Méthodologie :

Onze patients avec MC en rémission (sexe ratio 1H/1,2F; âge moyen 43 ans, extrêmes 25-58) et quinze sujets volontaires sains (sexe ratio 1H/1,5F; âge moyen 27 ans, extrêmes 21-43) ont été inclus. Des distensions rectales provoquant un inconfort de 70% minimum sur une échelle visuelle analogique, précédées d'une période d'anticipation certaine ou incertaine (induites par la projection d'un voyant lumineux), ont été effectuées. Les images d'IRMf ont été acquises sur un scanner 3.0 Tesla avec des séquences EPI de TR 3 sec. L'ECG était enregistré de façon concomitante. La composante LF de la HRV a été extraite et insérée en tant que régresseur dans le modèle d'IRMf. L'impact de la MC a été analysé en comparant le signal IRMf chez les patients et les contrôles sur les différentes conditions d'anticipation et de perception de la distension dans des régions d'intérêt.

Résultats : Chez les patients, nous avons mis en évidence : 1) une activation de la région antérieure de l'ACC (aACC), inversement corrélée au volume de distension rectale, et une activation du cortex cingulaire postérieur (PCC) inversement corrélée à l'index de sensibilité viscérale au cours de l'incertitude pure ; par ailleurs, dans cette condition, les patients présentaient une activation significativement plus importante que les contrôles au niveau de l'aACC, du PCC, de l'insula antérieure et ventrale, du thalamus et de l'amygdale, et une activation significativement moins importante au niveau du sgACC ; 2) une désactivation, au cours de l'anticipation incertaine d'une distension, de l'operculum et

de l'aACC, proportionnelle à l'ancienneté de la maladie, avec une activation significativement plus importante que les contrôles au niveau du thalamus et significativement moins importante au niveau du sgACC ; 3) l'absence d'activation/désactivation significative au niveau du groupe au cours de l'anticipation certaine d'une distension. L'analyse différentielle de l'effet de l'incertitude sur la perception de la distension a montré une activation significativement plus importante au niveau de l'insula, du thalamus et du PCC chez les patients que chez les contrôles.

Discussion et conclusion : La MC est associée à une modification de l'activité cérébrale, à type d'hyperactivation, dans le contexte d'anticipation incertaine de la survenue d'une douleur viscérale. Ces hyperactivations, qui sont pour partie corrélées à l'ancienneté de la maladie chez les patients, concernent en particulier des régions impliquées dans la gestion sensorielle, cognitive et émotionnelle de la douleur et dans l'analyse de situations de danger potentiel (cortex cingulaire, préfrontal et insulaire, thalamus et amygdale notamment). Elles font également partie du réseau autonome central régulant l'activité du SNA qui est très perturbée chez les patients.

L'ensemble de ces modifications pourrait ainsi expliquer la vulnérabilité des patients de MC face aux effets du stress sur leurs symptômes et sur le cours de leur maladie. De plus, nos résultats peuvent contribuer à expliquer l'efficacité des thérapies cognitivo-comportementales dans la MC, qui agissent par le biais de la modification de l'activité des structures limbiques et participent à rétablir l'équilibre de la balance sympatho-vagale.

Article “Uncertain anticipation of visceral pain in quiescent Crohn’s disease – a fMRI study”

Article en cours de rédaction pour soumission à
Gut

Uncertain anticipation of visceral pain in quiescent Crohn's disease – a fMRI study

Short title: Pain anticipation in Crohn's disease

Amandine Rubio^{abc}, Chantal Delon-Martin^{ab}, Sonia Pellissier^{abd}, Huynh Giao Ly^c, Patrick Dupont^{fgh}, Jan Tack^e, Dantzer Cécile^d, Lukas Van Oudenhove^{ch}, Bruno Bonaz^{abi}

a. INSERM, U836, F-38000 Grenoble, France

b. Univ. Grenoble Alpes, GIN, F-38000 Grenoble, France

c. CHU de Grenoble, Clinique Universitaire de Pédiatrie, F-38000 Grenoble, France

d. Univ. Savoie, F-73000 Chambéry, France

e. Department of Clinical and Experimental Medicine, Translational Research Center for Gastrointestinal Diseases, University of Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

f. Laboratory for Cognitive Neurology, KU Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

g. Medical Imaging Research Centre, KU Leuven, B-3000 Leuven, Belgium

h. University Psychiatric Centre, Liaison Psychiatry, University Hospital Gasthuisberg, B-3000 Leuven, Belgium

i. CHU de Grenoble, Hôpital Michallon, Clinique Universitaire d'Hépatogastroenterologie, F-38000 Grenoble, France

***Corresponding author:**

Dr Amandine RUBIO

Grenoble Institute of Neurosciences (INSERM U836)

Joseph Fourier University

BP 170, 38706 La Tronche, France

arubio@chu-grenoble.fr

Tel: +334 76 76 87 06 - Fax: +334 76 76 87 71

SUMMARY

Background and aims: Patients with Crohn's disease (CD) in remission are exposed to chronic cognitive and emotional stress, linked to the constant risk of relapse. This permanent situation of anticipation and uncertainty leads to major anxiety. We proposed to explore the effect, in terms of cerebral activity, of certainty and uncertainty in the anticipation and experimentation of visceral pain in quiescent CD patients in an fMRI study.

Methods: Barostat-controlled rectal painful distensions were preceded by cued uncertain or certain anticipation in 11 CD patients and 15 healthy volunteers in a fMRI protocol at 3T. The impact of CD was analyzed by comparing the fMRI signal in patients and controls across the different anticipation and distension conditions.

Results: In the condition of uncertainty, CD patients had significantly greater activations than controls in the anterior and posterior cingulate cortex, insula, thalamus and amygdala. Significantly greater activation was evidenced in the thalamus in the condition of certain anticipation of distension. Analysis of the effect of uncertain anticipation on rectal distension showed significantly greater activation in the posterior cingulate cortex, insula and thalamus in patients. Most of these hyperactivations were correlated with the Visceral Index Sensitivity.

Conclusion: In the context of uncertain anticipation of visceral pain, CD is associated with excessive reactivity in brain regions known to be involved in the sensory, cognitive and emotional aspects of pain processing. These regions are also part of the central autonomic network that regulates autonomic balance, which is impaired in CD. Altogether, our findings might explain the patients' vulnerability towards the effect of stress on their symptoms and the course of their disease.

KEYWORDS

Anticipation – Crohn's disease – fMRI – Pain

BACKGROUND AND AIMS

Crohn's disease (CD) is a chronic inflammatory bowel disease (IBD) characterized by periods of remission and of disease exacerbation. The main symptom reported by CD patients during acute flares is severe abdominal pain; a substantial portion of patients continue to complain about pain symptoms during quiescent phases. The occurrence of flares, as well as their severity, is unpredictable. This unpredictability leads to great anticipatory anxiety, stress, physiological arousal and psychological distress, even during periods of remission (Piche et al., 2010; Schirbel et al., 2010). This psychological context can in turn increase pain perception (Carlsson et al., 2006; Rhudy and Meagher, 2000), often associated with pain catastrophizing (Lix et al., 2008).

Emerging evidence suggests that chronic pain can alter brain function. In a review paper, Saab et al (Saab, 2012) summarized the long-term, chronic pain-related changes in the brain, such as overactivation of neuronal assemblies, network malfunction and variations in gray matter (GM) density. Morphological abnormalities are generally found in the pain matrix in these patients. Different brain regions (i.e. thalamus, insula, and brain stem) are involved for each pain syndrome but overlap in the frontal lobe and in the cingulate cortex (CC) (Porro et al., 2004), a limbic structure that has a fundamental role in the pain matrix. At the cellular level, pain sensitization (increased neuronal spontaneous firing, decreased firing threshold and enhanced firing evoked by repetitive stimulation) has been documented in the anterior cingulate cortex (ACC) (Zhuo, 2008), primary somatosensory (S1) cortex (Quiton et al., 2010), amygdala and thalamus (Rodriguez-Raecke et al., 2013). Agostini et al (Agostini et al., 2013) showed brain morphological changes in cortical and subcortical structures involved in nociception, emotional, and cognitive processes. Patients exhibited decreased GM volumes in portions of the frontal and anterior midcingulate cortex. Disease duration was negatively correlated with GM volumes of several brain regions including neocortical and limbic areas. According to the authors, this GM loss might be due to atrophy and neuronal death linked to excite-toxicity and apoptosis in the context chronic exposure to inflammatory mediators as well as to the experience of chronic pain. Asymptomatic white matter lesions have also been reported in CD (Chen et al., 2011; Geissler et al., 1995).

Furthermore, CD, like all chronic diseases involving prolonged pain, stress, anxiety and/or uncertainty are associated with profound alterations of the autonomous nervous system

(ANS) activity (Cohen and Benjamin, 2006; Pellissier et al., 2010; Porges, 1995; Thayer et al., 1996; Thayer and Lane, 2009). These alterations usually involve a reduction in the parasympathetic and/or in the sympathetic tone (Mouzas et al., 2002). Spectral analysis of heart rate variability (HRV) is a reliable noninvasive technique enabling a quantitative assessment of the sympatho-vagal balance (Lombardi et al., 1996). It is now commonly used in gastrointestinal physiology to assess autonomic imbalances related to digestive autonomic regulation (Chen et al., 2006; Jarrett et al., 2012; Ng et al., 2007). Thayer et al showed that chronic anxiety and threat perception are associated with lower HRV due to dysregulated brain-peripheral integration (Thayer et al., 2012). However the link between HRV and pain anticipation through fMRI has never, to our knowledge, been studied.

We therefore proposed to explore the effect of uncertainty in the anticipation and experimentation of visceral pain due to rectal distension in Crohn's disease patients in remission, compared to healthy subjects, in a functional neuroimaging study. The aims of this study were 3-fold: 1) to identify the brain regions activated and/or deactivated during certain and uncertain anticipation of painful rectal distension in CD; 2) to explore the impact of uncertainty on brain activity during rectal distension; 3) to examine the effect of individual pain-related psychological variables and anticipatory anxiety ratings on the activations/deactivations during the anticipation of rectal distension.

PATIENTS AND METHODS

Subjects

CD patients in remission were recruited from the outpatient clinic of the Gastroenterology Department of the University Hospital of Grenoble, France. Patients with a history of rectal or perianal lesions were excluded. CD quiescence was assessed upon inclusion through questioning, clinical and biological [with the calculation of the CD Activity Index (CDAI<150), measurement of CRP (<5mg/ml) and fecal calprotectin (<50µg/g)], echography and endoscopic evaluation (normal colonoscopy within 6 months prior to inclusion). A rectoscopy was carried out upon inclusion to verify rectal integrity.

Healthy subjects devoid of any functional abdominal pain or bowel transit disorders over the last 12 months or history of abdominal surgery were recruited through local advertising by the local Clinical Investigation Center.

Exclusion criteria for both groups were: age < 18 years or > 65 years, any chronic systemic disease, MRI-specific exclusion criteria and ongoing treatment with any drug other than oral contraceptives (in particular analgesic, anxiolytic, antidepressant, steroid or cardiologic treatment).

Ethics

The study protocol was approved by the local Ethics Committee (Comité de Protection des Personnes Sud Est V, France) on October 5th, 2001 and registered under the protocol number 11-CHUG-19. The inclusion period was January 2012 to May 2013. All participants gave written informed consent in compliance with the Declaration of Helsinki and received a compensation for their participation.

Experimental setup

Preliminary to fMRI, individual rectal discomfort threshold was defined. A tailor-made lubricated rectal balloon attached to a flexible catheter was inserted approximately 5 cm into the rectum. The subject was positioned in a preparation room in a comfortable supine position. After a 10-min acclimatization period, the balloon was inflated with a pressure-controlled barostat (G&J Electronics Inc, Toronto, Canada) using staircase distensions with pressure increments of 5 mmHg. After each step, there was a rating period of 30 seconds for pain, discomfort and urge-to-defecate with a verbal numerical rating scale from 0 to

100 (0 = “none” and 100 = “intolerable discomfort, pain or urge to defecate”). The retained discomfort threshold was the volume eliciting 70% discomfort (severe discomfort and urge-to-defecate) with a pain rating of at least 10%. This threshold was retained in order to be tolerated by the subject for the duration of the epochs of the fMRI examination (Baciu et al., 1999); furthermore, results from a pilot study showed that the occurrence of severe discomfort/urge and/or the safety limit (55 mmHg) prevents the distension sequence from being continued until pain threshold in the majority of healthy volunteers. The reproducibility of the rating for the identified volume was subsequently verified in a volumetric distension sequence identical to the distension sequence used during the trials in the fMRI experiment. So as not to influence the subsequent ratings, no information was given to the subjects regarding the distension volume and its consistency throughout the fMRI experiment.

The sequence of stimuli during the fMRI experiment was controlled by the dedicated software package Presentation® (NeuroBehavioral Systems, San Francisco, California). The experiment consisted in 6 functional runs, of 12 tests each. Each test comprised an anticipation phase followed by a distension (or no distension) and a rating period. During the anticipation phase, a visual cue was presented for 3 seconds on the screen observed by the subject, in the form of an exclamation point (“!”) before certain distensions, question mark (“?”) for the uncertain distension condition, and a zero (“0”) for the certain absence of distension. This cue was followed by an anticipation period randomly chosen between 9 and 18 seconds to minimize predictability. Subsequently, the distension phase, triggered by the software to the barostat, contained either a real distension during 18 seconds or no distension during the same duration. Immediately after each deflation, subjects retrospectively rated the anxiety felt during the anticipation period and the discomfort experienced during the distension period. The rating was specified by moving the location of a cursor on a 0-100 visual analogue scale on the screen with a 2-buttons response box, from a randomized starting position. This was followed by a 3-second resting period. During each functional run, there were 4 trials with certain anticipation (“!”), 4 with uncertain anticipation (“?”) and 4 with safe anticipation (“0”), presented in a random order. Each uncertain anticipation had a 50% probability of being followed by distension. This probability was randomized among the 6 functional runs of the experiment and unknown to the subject. Thus each anticipation condition had 24 occurrences during the fMRI experiment and each subject had 36 distensions and 36 no-distensions.

MRI data acquisition

The experiments were carried out at the “IRMaGe” platform of Grenoble University, France (<https://irmage.ujf-grenoble.fr/>). All MR images were acquired on a 3.0 Tesla MRI scanner (Philips Medical Systems, Best, Netherlands) with a 32-channel head coil. During the first session, a high resolution T1-weighted whole-brain structural image using MPGRAGE sequence (TR 25 ms; TE 3.9 ms; TI 800 ms; voxel size 0.89x0.89x1.2 mm³) was acquired. This session allowed the subject to become familiar with the MR environment, so that it should not induce any additional stress during the second session. Further, during this session, a set of pain-related psychological questionnaires was filled in. The second MRI session, carried out 24 hours to several days after the first, was dedicated to the 6 fMRI runs as described above. Functional images were obtained with a gradient echo planar imaging sequence (TR 3s; TE 30 ms; flip angle 80°; 52 slices of 3 mm thick; voxel size 2.75x2.75x3 mm³) covering the whole brain including the cerebellum. A total of 240 images were acquired per functional run for a total examination duration of 1h12'.

Physiological data acquisition

Concurrently, electrocardiographic recordings were performed using 4 MR compatible ECG electrodes (InVivo International, Best, The Netherlands) and registered by the MR scanner at a sampling frequency of 500 Hz. Additionally, the finger photoplethysmography, sensitive to the hemodynamic pulse at fingertip, was recorded simultaneously at 100 Hz.

Heart rate variability analysis

Since the unpredictable character of pain occurrence could trigger anticipatory arousal, we assumed that the autonomic nervous system could be involved. We therefore extracted heart rate variability (HRV) components from the electrocardiographic recordings using a home-made program developed in **R** (www.r-project.org) to introduce them in the fMRI analysis.

Since our fMRI data were acquired with a TR of 3s, their frequency band ranged from -0.167Hz to 0.167Hz. The fMRI data cannot be correlated to regressors whose frequency spectrum is beyond the frequency range of the functional data. Thus, the high frequency (HF)-HRV band, ranging between 0.15Hz and 0.4Hz, could not be inserted as a regressor in the fMRI model. Only the very low frequency (VLF) and low frequency (LF)-HRV

band, as defined by the Task Force in its Guidelines (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996b), could be introduced in the analysis. The RR intervals were then resampled and filtered in 3 sub-bands using wavelet-transform tools (<http://cran.r-project.org/web/packages/waveslim>): the LF_{high}-HRV band from 0.08 to 0.16 Hz; the LF_{mid}-HRV band from 0.04 Hz to 0.08 Hz and the LF_{low}-HRV band from 0.02 to 0.04 Hz. The 3 so-defined HRV signals were further introduced in the fMRI analysis.

Individual MRI data analysis

We processed and analyzed the fMRI data using SPM8 software (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL; www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/) and a custom-written software in Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA).

Individual analyses were performed in the referential of each subject. Statistical analyses were conducted within a block design using the generalized linear model (Friston et al., 1994). Each condition was modelled as a box-car stimulus function convolved with the canonical hemodynamic response function and entered into a standard generalized linear model. There were 7 regressors of interest (certain anticipation of distension (!), uncertain anticipation (?), certain anticipation of no-distension (0), expected distension (!D), unexpected distension (?D), unexpected no-distension (?Ø) and expected no-distension (0Ø)).

Contrasts related to the anticipatory period were then computed for each individual: a contrast relating to pure uncertainty (cancelling out the effect of anticipation as such): “ $\frac{1}{2}(!+0)$ ”; a contrast relating to the uncertain anticipation as compared to the safety condition: “ $?-0$ ”; and a contrast relating to the certain anticipation period as compared to the safety condition: “ $!-0$ ”. In order to take into account the anticipatory anxiety level reported by each individual, we computed the contrasts relating to anticipation by a linear combination of the contrast at each run weighted by the mean anxiety rating in the run. To find the network related to rectal distension, we also contrasted all distension conditions versus no-distension conditions: “ $(!D+?D)-(?Ø+0Ø)$ ”. Finally, to explore the effect of uncertainty on the distension perception, we contrasted unexpected versus expected distension: “ $(?D-!D)-(?Ø-0Ø)$ ”.

In order to take into account the CD duration, each patient’s disease duration was entered as a covariate in the fMRI second-level data analysis.

Visceral sensitivity and psychological assessments

General anxiety and depressive symptomatology was assessed for each subject using the trait version of the State-Trait Anxiety Inventory (Spielberger, 1983) and the Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale (Weissman et al., 1977) respectively. Other psychological questionnaires included the Pain Anxiety Symptoms Scale (which measures aspects of specific pain-related anxiety and avoidance (McCracken et al., 1992)), the Intolerance of Uncertainty Scale questionnaire (Freeston et al., 1994), and the Ways of Coping Checklist Revised (WCC-R) (Cousson-Gelie et al., 2010) to evaluate the coping strategies. Visceral sensitivity was assessed through the the Labus Visceral Sensitivity Index(Labus et al., 2004).

The impact of anxiety-trait, pain-related anxiety and uncertainty intolerance on the cerebral regions activated/deactivated during certain and uncertain anticipation were analyzed by adding the respective individual questionnaire scores as covariates in the fMRI second-level data analysis.

Statistical group fMRI analysis

For group analysis, we realigned all individual contrast images to a common referential using the DARTEL transformation method (Ashburner, 2009) that allows accurate inter-individual brain realignment. The contrasts images were smoothed using a small spatial $3 \times 3 \times 3 \text{mm}^3$ width Gaussian 3D-kernel and entered in a random effect analysis. Activated regions corresponding to each condition were evaluated by a one-sample Student's t-test thresholded at an uncorrected voxelwise p-value of 0.001 with a threshold on spatial extent such that the probability on the extent was $p_k < 0.05$. Only regions achieving a probability corrected for multiple comparison at cluster level < 0.05 were retained to form the activation images. They were then overlaid on the average anatomical images across participants for accurate localization purposes.

Region of interest (ROI) analysis

In addition, to specifically study the involvement of regions known to be potentially related to pain, anticipation and anxiety processes, and to compare their activity in CD patients and healthy controls across each anticipation and distension condition, we conducted a region-of-interest (ROI) analysis. For these regions, we used MarsBar 0.43 toolbox

(<http://marsbar.sourceforge.net/>) to define 8-mm spherical ROIs based on the ICBM152 non-linear asymmetric template (<http://www.bic.mni.mcgill.ca/ServicesAtlases/ICBM152NLin2009>). The specified ROIs and their coordinates, which were based on previous studies, are detailed in Supplementary material. We further computed the peak value per subject and per contrast and entered them in a Student's t-test to evaluate differences between CD patients and controls.

Statistical analyses

Data are expressed as means \pm standard error of the mean (SEM) and range. CD and control groups were compared with Mann-Whitney U-tests for non-parametric variables. Spearman correlation coefficients were estimated to compute bivariate relationships between individual age, volume and pressure of discomfort threshold, Visceral Sensitivity Index score or disease duration and contrast peak values in the ROIs. Statistical analyses were performed with Statistica 10.0 for Windows. The alpha value was $p < 0.05$.

RESULTS

A. Subject characteristics

Eleven patients and fifteen healthy controls were included. Subject characteristics are summarized in table 1.

B. Behavioral data

Rectal distension threshold

The mean balloon pressure to reach 70% discomfort was significantly higher ($p=0.003$) in patients (43 ± 3 mmHg; range 30-55) than in control subjects (30 ± 1 mmHg; range 25-35); the corresponding volume was not significantly different ($p=0.741$): 295 ± 29 ml (range 159-440) in patients and 280 ± 28 ml (range 174-412) in controls. Rectal compliance was similar in patients and controls (10.3 ± 2.8 ml/mmHg versus 11.3 ± 3.6 ml/mmHg; $p=0.834$).

Anxiety and discomfort ratings

Anticipatory anxiety and discomfort ratings were not significantly different between patients and controls. Anticipatory anxiety ratings were identical in the certain and uncertain anticipation conditions, both in patients and in controls: for the “!” anticipation: $23\pm 6\%$ (range 0-70%) in patients and $18\pm 4\%$ (range 0-72%) in controls, $p=0.488$; for the “?” anticipation: $23\pm 7\%$ (range 0-74%) in patients and $18\pm 3\%$ (range 0-62%) in controls, $p=0.524$. They were significantly higher than in the null (“0”) condition: $6\pm 2\%$ (range 0-18%) in patients; $3\pm 1\%$ (range 0-7%) in controls, $p=0.012$ for patients and $p=0.005$ for controls for the “!” and “?” versus “0” anticipatory anxiety.

Likewise, no significant difference was evidenced in distension discomfort ratings, whether preceded by certain or uncertain anticipation, both in patients (“!D”: $61\pm 6\%$, range 22-87%; “?D”: $64\pm 6\%$, range 25-85%) and controls (“!D”: $70\pm 2\%$, range 54-87%; “?D”: $69\pm 2\%$, range 47-80%). However, they greatly varied throughout the experiment in each patient, with a mean variation coefficient of 0.24 (SEM 0.05) for “!D” and 0.17 (SEM 0.03) for “?D”. On the opposite, they were very constant across runs for each control, with a mean variation coefficient of 0.09 (SEM 0.01) for “!D” and 0.08 (SEM 0.01) for “?D”. This difference in rating variability between patients and controls was significant ($p=0.0027$ for “!D” and $p=0.0016$ for “?D”).

Psychological assessments

Depressive symptoms were significantly more prevalent in patients than controls, with CES-D scores of 14 ± 4 (range 2-44) in patients versus 5 ± 1 (range 0-10) in controls ($p=0.017$). The Visceral Sensitivity Index score was significantly lower in patients (76 ± 3) than in controls (83 ± 2 ; $p=0.008$) indicating a visceral hyposensitivity. There was no significant difference between patients and controls for any of the other psychological questionnaires.

C. Brain fMRI data

1. Effect of uncertainty in patients and controls

The effect of pure uncertainty [contrast “? - $\frac{1}{2}(!+0)$ ”] in controls revealed a cluster of activation in the sgACC, corresponding to the Brodman areas (BA) 25 (Figure 1.A and Table 1). In patients, activations in aACC and PCC-precuneus were evidenced (Figure 1.B and Table 1).

The ROI analysis showed that in the condition of uncertainty, control subjects had significantly greater activation in the sgACC than patients, while patients had significantly greater activation in the aACC, PCC-precuneus, bilateral aINS and vINS, left aThal and pulvinar and amygdala (Figures 2 to 4).

2. Effect of uncertain anticipation of rectal distension in patients and controls

In controls, uncertain anticipation (contrast “?-0”) yielded significant activation in the sgACC and deactivation in the left SMA (Figure 5.A and Table 2). In patients, aACC and right S2/operculum deactivations were observed (Figure 5.B and Table 2).

The ROI analysis in patients versus controls showed a significant difference in the sgACC, aACC and left pulvinar (Figures 2 and 4).

3. Effect of certain anticipation of rectal distension in patients and controls

Certain anticipation of rectal distension in controls led to deactivations in the left SMA and right dpINS (Table 3). In patients however, no significant activation/deactivation was observed. The ROI analysis showed a significant difference in the left pulvinar (Figure 4).

4. Effect of rectal distension in patients and controls

In controls, rectal distension activated the right mid-INS and operculum, the bilateral inferior parietal lobule and the head of the left caudate nucleus (Figure 6 and Table 4). In patients, only activation in right operculum was evidenced. However, the ROI analysis revealed significantly greater activation in the bilateral thalamus, PCC-precuneus and PAG in patients (Figure 7).

5. Effect of uncertainty on the perception of rectal distension

In controls, analysis of the influence of uncertain anticipation on the perception of rectal distension “(?D-!D)-(?Ø-0Ø)” showed amygdala, SMA, frontal cortex (precentral gyrus) and cerebellum activation; while in patients, activation in SMA, PCC-precuneus and operculum were evidenced (Table 5). The ROI analysis showed significantly greater activation in the PCC-precuneus, bilateral aINS, left mINS, bilateral pulvinar in patients (Figure 8).

6. Effect of visceral sensitivity on brain activity during anticipation conditions in patients

In the condition of uncertainty, significant negative correlations were found between the Visceral Sensitivity Index and the peak value in the aINS ($r=-0.803$ $p=0.007$ for the left aINS and $r=-0.881$ $p<0.001$ for the right aINS) and in the PCC-precuneus ($r=-0.906$, $p=0.004$), as well as between the distension volume and the aACC ($r=-0.759$ $p=0.004$) (Figure 9).

7. Effect of disease duration in patients

To test the effect of disease duration on brain activity during anticipation and distension conditions, each patient's disease duration was added as a covariate. In this analysis, all of the significant activation/deactivations that were found in the former anticipation analyses were no longer objectivized. However, these differences did not reach statistical significance as no significant correlation was found between disease duration and ROI peak values, for any of the anticipation contrasts. A tendency towards significance was found for the aACC in the uncertain anticipation contrast ($r=0.582$, $p=0.059$; Figure 10). In the distension conditions however, the disease duration did not have any impact on the results, in either type of analysis.

8. Modulation of neural activation during uncertain and certain anticipation by psychological variables and anticipatory anxiety

The impact of psychological variables (anxiety-trait, pain-related anxiety, intolerance to uncertainty) and self-rated anticipatory anxiety on brain regions activated/deactivated during uncertain and certain anticipation was then analyzed.

In the contrast reflecting uncertainty, a significant correlation was found in controls between the individual level of sgACC activation and the Pain Anxiety Symptoms Scale score ($r=-0.551$, $p=0.032$). No other significant association was found between psychological variables or perceived anticipatory anxiety and the brain activity in the anticipation conditions, in patients and controls.

9. Modulation of neural activation during anticipation and distension by age

The age difference between patients and controls was significant ($p=0.0003$). In order to determine the possible bias introduced by this difference, correlations between age and the individual peak values in the ROIs were analyzed. For the anticipation conditions, the only significant correlation was between age and peak value in the L pulv in the uncertain anticipation contrast ($r=0.438$; $p=0.024$). For the distension conditions, a significant correlation was found between age and peak value in the L aINS for the effect of distension ($r=0.388$; $p=0.049$), and in the R aINS for the effect of uncertainty on distension ($r=0.483$; $p=0.011$).

Further, to suppress the effect of age, the subjects' ages were added as covariates in the fMRI analysis. This did not change any of the activation/deactivation results in controls. In patients, no change was evidenced in the certain and uncertain anticipation conditions; for the condition of pure uncertainty however, the aACC activation was lost.

DISCUSSION

In this fMRI study we sought to identify the effects of certainty and uncertainty on the anticipation of painful rectal distension in quiescent CD patients, and the impact of visceral sensitivity, disease duration and psychological variables on neural correlates of pain anticipation and perception. Our experiments led to the following key findings: 1) significant differences were evidenced between patients and controls in terms of brain activity in all anticipation and distension conditions; 2) these differences generally consisted in hyperactivations; 3) they involved key regions in the process of sensitivity, cognition and emotion integration in pain processing, such as the thalamus, cingulate and insular cortex.

The findings of this study are consistent with a growing number of studies indicating that anticipatory anxiety during the expectation of threatening stimuli is a negative affective state, with changing behavioral tendencies depending on the level of threat (McNaughton and Gray, 2000; Mogg and Bradley, 1998). During moderate threat, healthy subjects seem able to shift their attention away from the expected source of threat, while increasing a default processing state and prioritizing avoidance behavior (Mogg and Bradley, 1998). The sgACC has been implicated in this process (Mogg and Bradley, 1998). By contrast, stronger threat increases vigilance towards the expected threatening stimuli, leading to a preparation for dealing with the threat (McNaughton and Gray, 2000; Mogg and Bradley, 1998). This relationship between threat and certain behavioral tendencies is modified by individual differences in anxiety. Both the avoidance tendency during moderate threat and the shift to a hypervigilant state during strong threat are most pronounced in anxious subjects (Mogg and Bradley, 1998). This mechanism might account for the hyperactivations that were evidenced in our patients in the condition of certain and, to an even greater extent, uncertain anticipation of rectal distension.

The pain response in an individual stems from the integration of sensory discriminative, affective motivational and cognitive-evaluative components (Melzack, 1999). The thalamus has been extensively investigated (Ab Aziz and Ahmad, 2006) as it is one of the main supraspinal structures involved in processing nociceptive information received from the multiple ascending pain pathways, before transmitting the information to various parts of the cortex. The thalamus has widespread connections with the cingulate, insular, parietal and prefrontal cortical areas and is also part of the descending pain pathways from the

cortex and hypothalamus to the spinal cord, thus contributing in the descending facilitation or inhibition of pain. The thalamic nuclei thereby participate in both the sensory discriminative and the affective motivational components of pain. It is noteworthy that significantly greater activity was evidenced in the thalamus (in particular in the ventral posterior thalamus or pulvinar) in all of the anticipation and distension conditions in our patients compared to controls.

The other main regions found to be hyperactivated in patients were the insula, amygdala and aACC, in the condition on pure uncertainty. These are also key regions in the process of visceral sensitivity, cognition and emotion integration in the context of nociception. The insula receives information from "homeostatic afferent" sensory pathways via the thalamus and large inputs from the amygdala, and sends output to a number of other limbic-related structures, such as the amygdala, the ventral striatum, and the orbitofrontal cortex, as well as to motor cortices (Craig, 2003). The insula is known to be involved in consciousness and to play a role in functions linked to emotion or the regulation of the body's homeostasis. The right anterior insula is also involved in interoceptive awareness of body states. It has been shown that GM volume in this region correlates with increased accuracy in the subjective sense of the inner body (in particular perception of gastric (Ladabaum et al., 2001) and rectal (Hamaguchi et al., 2004) distension), and with negative emotional experience (Critchley et al., 2004). It is noteworthy that enhancement of cerebral pain-related activity in the insula has already been described in chronic-pain patients (Kwan et al., 2005). The amygdala, as well as the aACC, is involved in assigning emotional significance to environmental information and triggering adapted physiological, behavioral and affective responses. A large body of literature in animals and human implicates the amygdala in fear. Pain having a strong affective and emotional dimension, the amygdala has also emerged as key element of the pain matrix. It receives multiple nociceptive information from the brainstem, as well as highly processed polymodal information from the thalamus and the cerebral cortex. It also possesses the connections that allow influencing most of the descending pain control systems as well as higher centers involved in emotional, affective and cognitive functions. The amygdala induces endogenous pain inhibition during aversive situation, such as stress or fear. On the contrary, during persistent pain states (inflammatory, visceral, neuropathic), a long-lasting functional plasticity of amygdala activity contributes to an enhancement of the pain experience and

hyperalgesia, as is evidenced in CD patients who develop irritable bowel syndrome-like symptoms, aversive behavioral reactions and affective anxiety-like states.

Our findings of hypoactivation of the sgACC and hyperactivation in the thalamus, aACC, insula and amygdala in the condition of uncertainty regarding rectal distension in our patients are consistent with all of these data from the literature. These modifications could be linked to a heightened vigilance and awareness of visceral sensations, due to chronic focus on visceral sensations for fear of a disease relapse.

Study limitations

Several limitations to the current study must be acknowledged. *First*, the age difference between patients and controls is significant. The impact of this difference was reduced by carrying out the analyses in the HRV-model, as the main foreseen impact of age was the reduction in HRV with aging in adult subjects (Schwartz et al., 1991). The remaining effect of age difference in terms of brain activity in anticipation and distension conditions was then analyzed in patients and controls. Age did not significantly impact the cerebral effects of uncertainty. However, it must be acknowledged that taking age into account reduced the statistical significance of left pulvinar and aINS hyperactivations in patients in the uncertain anticipation and distension conditions respectively. *Secondly*, the study sample size was quite small and the results need to be confirmed in larger cohorts, with perhaps differential analyses according to gender, as it has recently been shown to influence brain activity in conditions of anticipated and experienced pain (Kano et al., 2013), namely regarding cognitive-emotional (Benson et al., 2012) and attentional (Straube et al., 2009b) pain regulation. *Thirdly*, the rectal pain that was inflicted was not very intense, as severe discomfort and urge-to-defecate precedes the onset of pain in rectal distension, and prevents the pain threshold to be reached; hence the experiment did not hold a major threat for the subjects, as attested by the low self-rated anticipatory anxiety scores. However, it can be hypothesized that the differences objectivized between patients and controls would be increased in truly threatening visceral pain conditions such as the occurrence of severe abdominal pain in CD patients.

Conclusion

CD patients in remission show significant modifications of cerebral activity in the context of certain and uncertain anticipation of visceral pain induced by rectal distension, in key regions for sensory, cognitive and emotional regulation of pain process. These modifications might in part explain the vulnerability of patients to the effects of stress on their symptoms and the course of their disease. These results might also contribute to the understanding of the efficacy of cognitive and behavioral therapies in the CD, as these therapies modify the activity of limbic structures. However, they need to be confirmed in larger age-matched cohort studies.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Direction de la Recherche Clinique of the Grenoble University Hospital and the pharmaceutical firms Cephalon and Ferring for funding support, as well as the University of Leuven for providing us with the barostat used in this study and the “IRMaGe” platform of the Grenoble University, that benefit from funding from 'France Life Imaging', part of the French program 'Investissement d'Avenir', for their help with the fMRI acquisitions. We also thank Hugo Lafaye de Michaut for the software tool that extracted the HRV regressors.

Legend of Figures and Tables

Figure 1: Brain regions activated by uncertainty

Brain regions activated by uncertainty [“? - ½(!+0)] in controls (A) and in patients (B). $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 150$ ($p_k < 0.05$); for display purpose, p threshold was lowered at $p < 0.005$ at voxel-level, $k > 400$ ($p_k < 0.05$)

Figure 2: ROI analysis on the CC for the anticipation conditions

ROI on the sgACC, aACC and PCC with peak values in the contrasts “?-0” and “? - ½(!+0)”. *** $p < 0,01$; * $p < 0.05$

Figure 3: ROI analysis on the insula for the condition of uncertainty

ROI on the L aINS, L vINS, R aINS and R vINS with peak values in the contrast “? - ½(!+0)”. ** $p < 0.025$; * $p < 0.05$

Figure 4: ROI analysis on the Thal for the anticipation conditions

ROI on the thalamus with peak value in the L aThal and L pulv in the anticipation contrasts. * $p < 0.05$

Figure 5: Brain regions activated by uncertain anticipation of rectal distension

A: Brain regions activated by uncertain anticipation (“?-0”) in controls (A) and in patients (B). $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 150$ ($p_k < 0.05$); for display purpose, p threshold was lowered at $p < 0.005$, $k > 500$ ($p_k < 0.05$)

Figure 6: Brain regions activated during rectal distension

A: Brain regions activated during distension in controls (A). $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 175$ ($p_k < 0.05$); for display purpose, p threshold was lowered at $p < 0.002$, $k > 400$ ($p_k < 0.05$).

Figure 7: ROI analysis for the distension contrast “(!D+?D)-(?Ø+0Ø)”

** $p < 0.025$ * $p < 0.05$

Figure 8: ROI analysis for the contrast analyzing the effect of uncertainty on rectal distension (“(?D-!D)-(?Ø-0Ø)”

*** $p < 0.01$; ** $p < 0.025$; * $p < 0.05$

Figure 9: Effect of visceral sensitivity on brain activity in the condition of uncertainty in patients

A. In the condition of uncertainty, correlation between the Visceral Sensitivity Index and the peak value in the aINS ($r = -0.881$ $p < 0.001$); B. in the R L aINS ($r = -0.803$ $p = 0.004$); C. in the PCC-precuneus ($r = -0.906$ $p = 0.004$); D. Correlation between the distension volume and the peak value in the aACC ($r = -0.759$ $p = 0.009$).

Figure 10: Correlation between disease duration and peak value on the aACC in the uncertain anticipation contrast

$r = 0.582$, $p = 0.059$

Table 1: Subject characteristics

Table 2: Brain regions activated by uncertainty [“? - ½(!+0)”]

Brain regions activated by uncertainty in controls and patients. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 150$ ($p_k < 0.05$).

Table 3: Brain regions activated by uncertain anticipation of rectal distension (“?-0”)

Brain regions activated by uncertain anticipation in controls and patients. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 150$ ($p_k < 0.05$).

Table 4: Brain regions activated by certain anticipation of rectal distension (“!-0”)

Brain regions activated by uncertain anticipation in controls. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 200$ ($p_k < 0.05$).

Table 5: Brain regions activated by rectal distension [“(!D+?D)-(?Ø+0Ø)”]

Brain regions activated by rectal distension in controls. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 175$ ($p_k < 0.05$).

Table 6: Brain regions activated during rectal distension preceded by uncertain versus certain anticipation

Brain regions activated by rectal distension preceded by uncertain versus certain anticipation in controls and patients. $p < 0.001$ at voxel-level, $k > 200$ ($p_k < 0.05$)

Figure 1: Brain regions activated by uncertainty in controls (A) and patients (B)

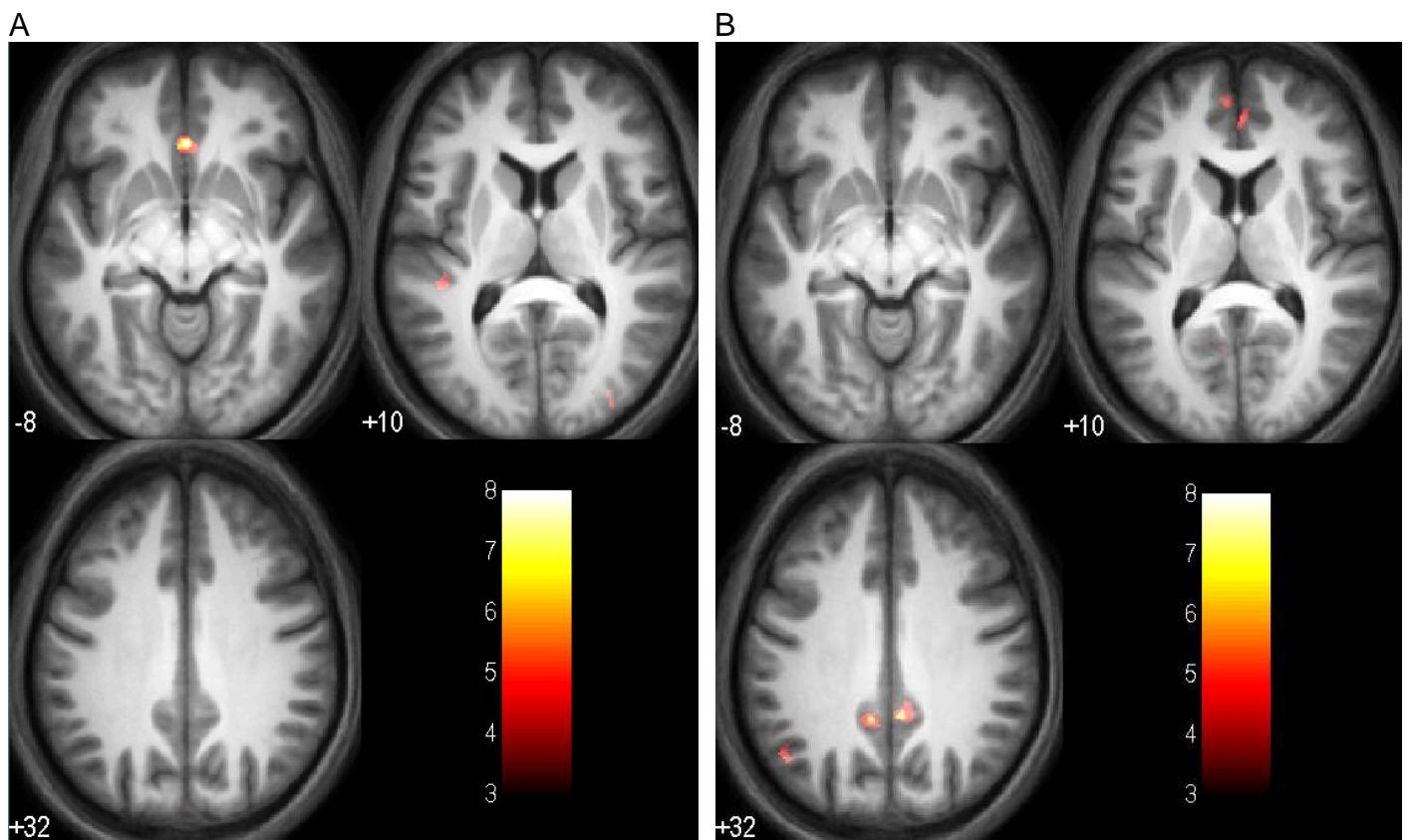


Figure 2: ROI analysis on the CC for the anticipation conditions

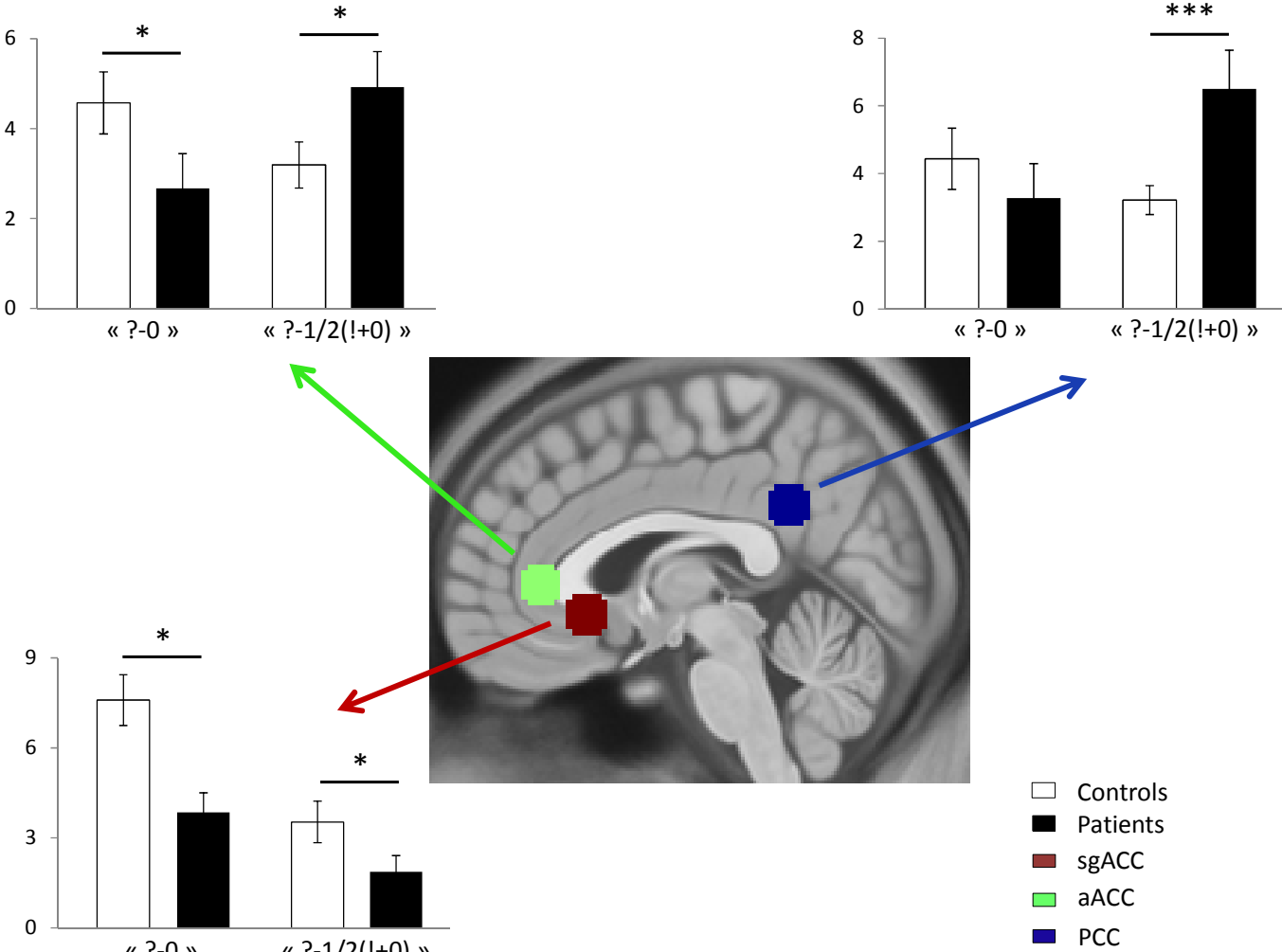


Figure 3: ROI analysis on the insula for the condition of uncertainty

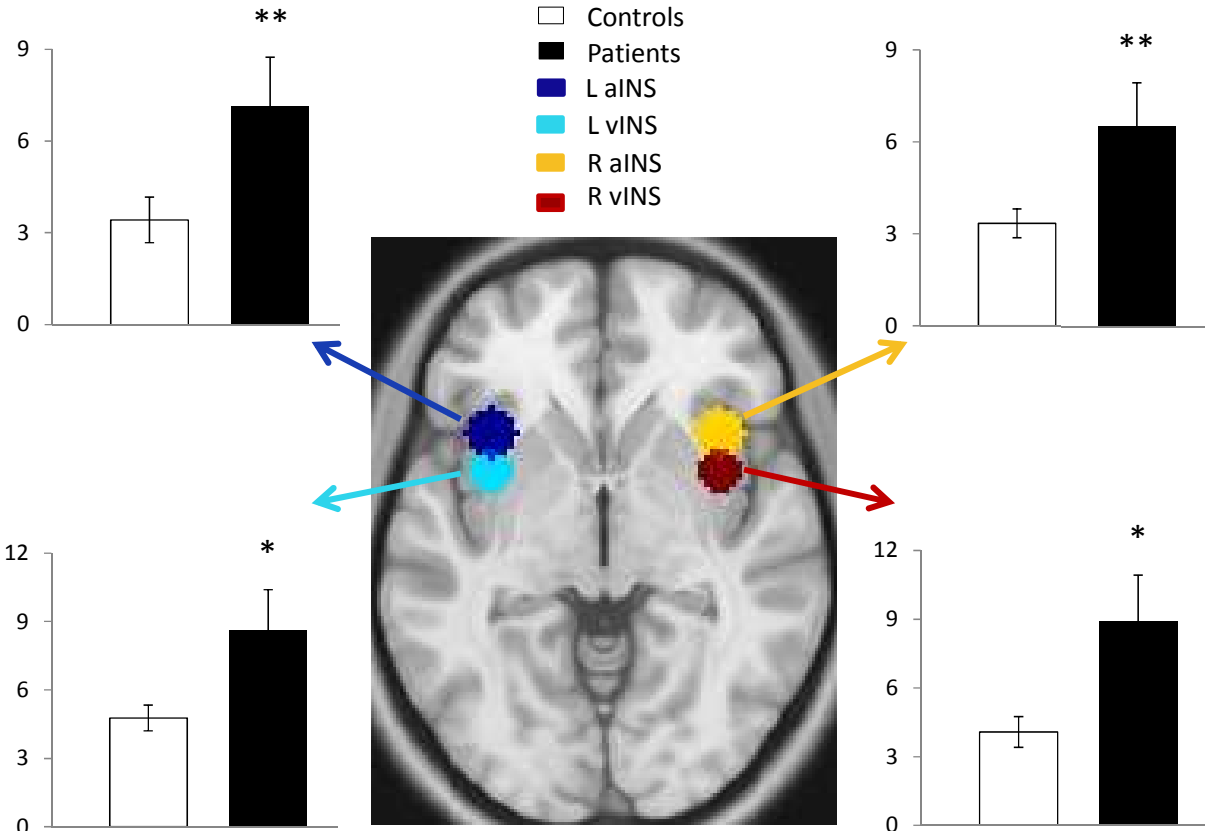


Figure 4: ROI analysis on the thalamus for the anticipation conditions

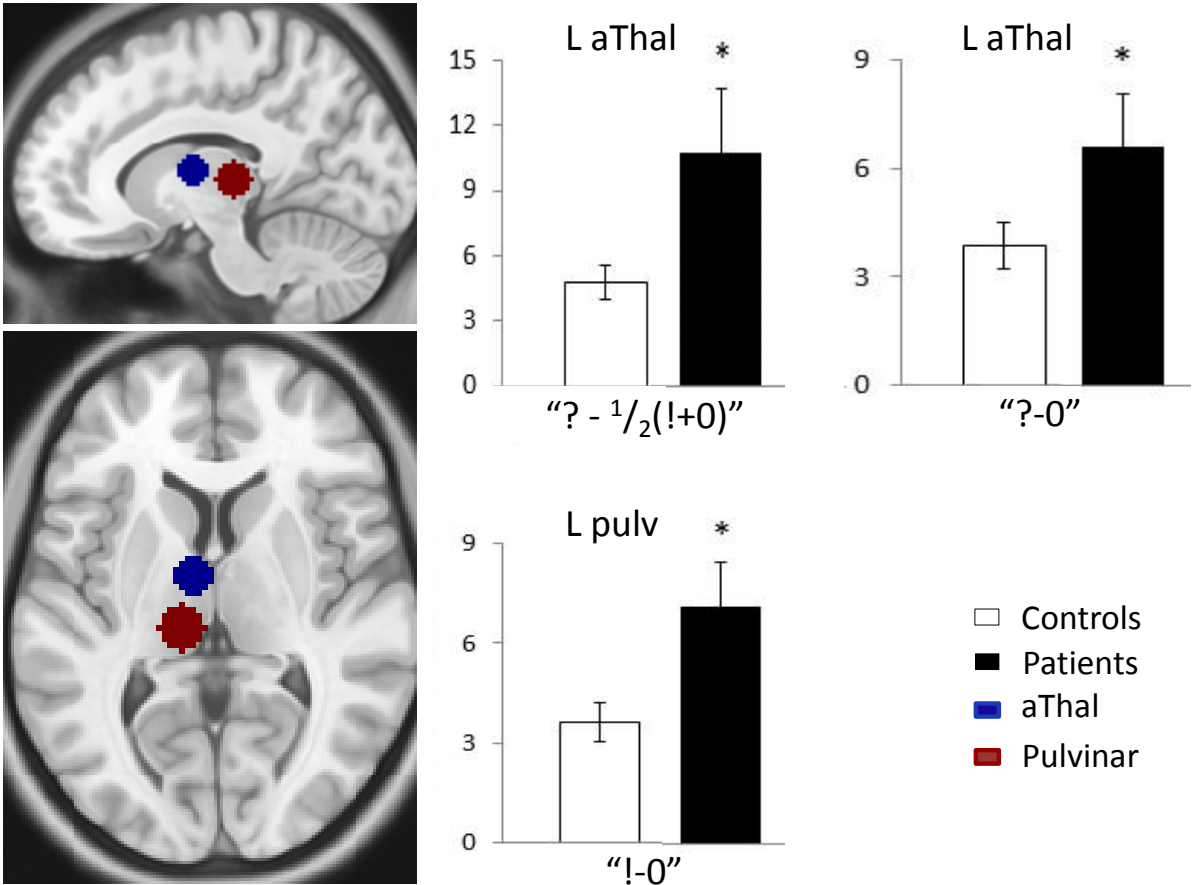


Figure 5: Brain regions activated by uncertain anticipation of rectal distension in controls (A) and patients (B)

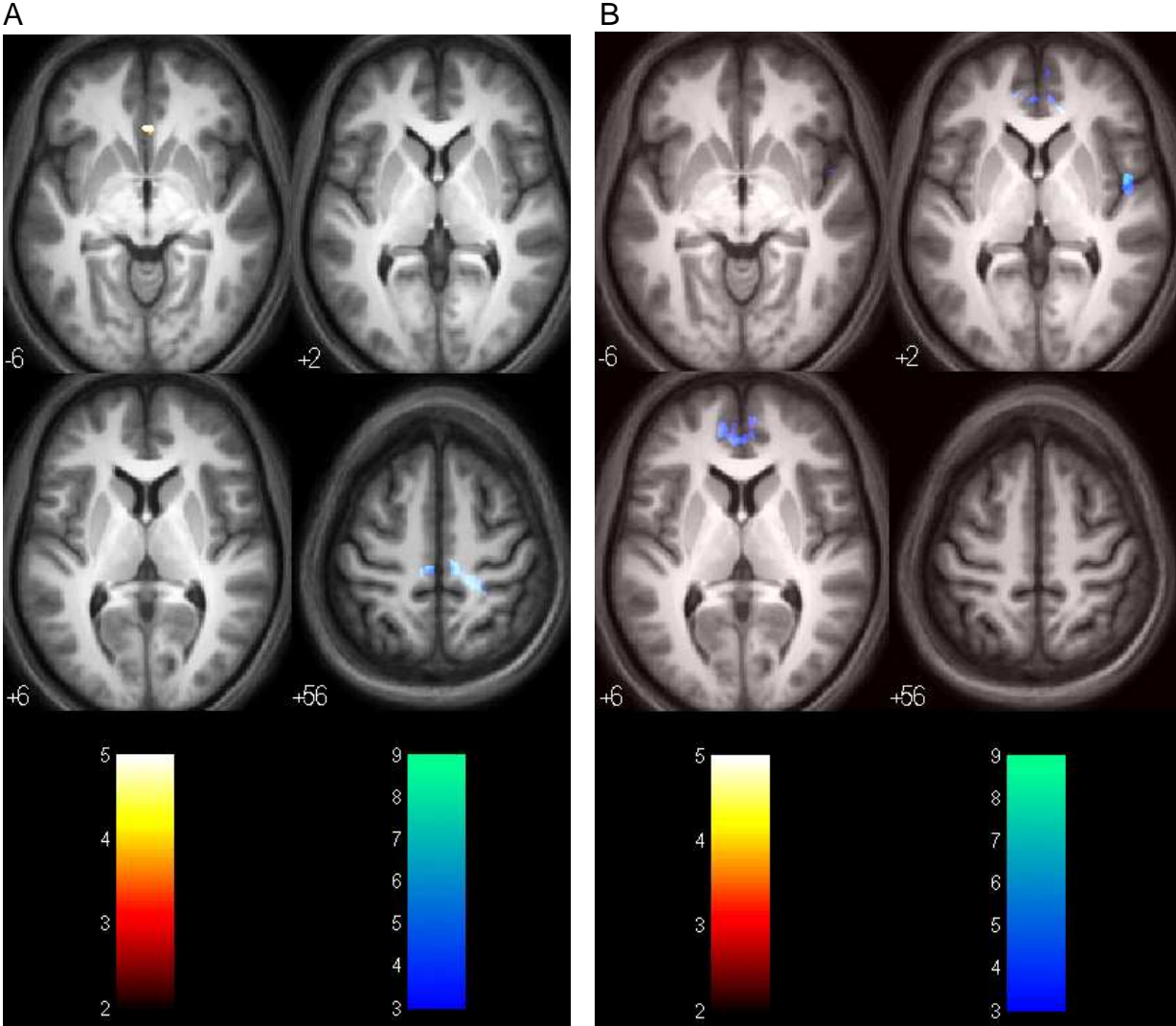


Figure 6: Brain regions activated during rectal distension in controls (A) and patients (B)

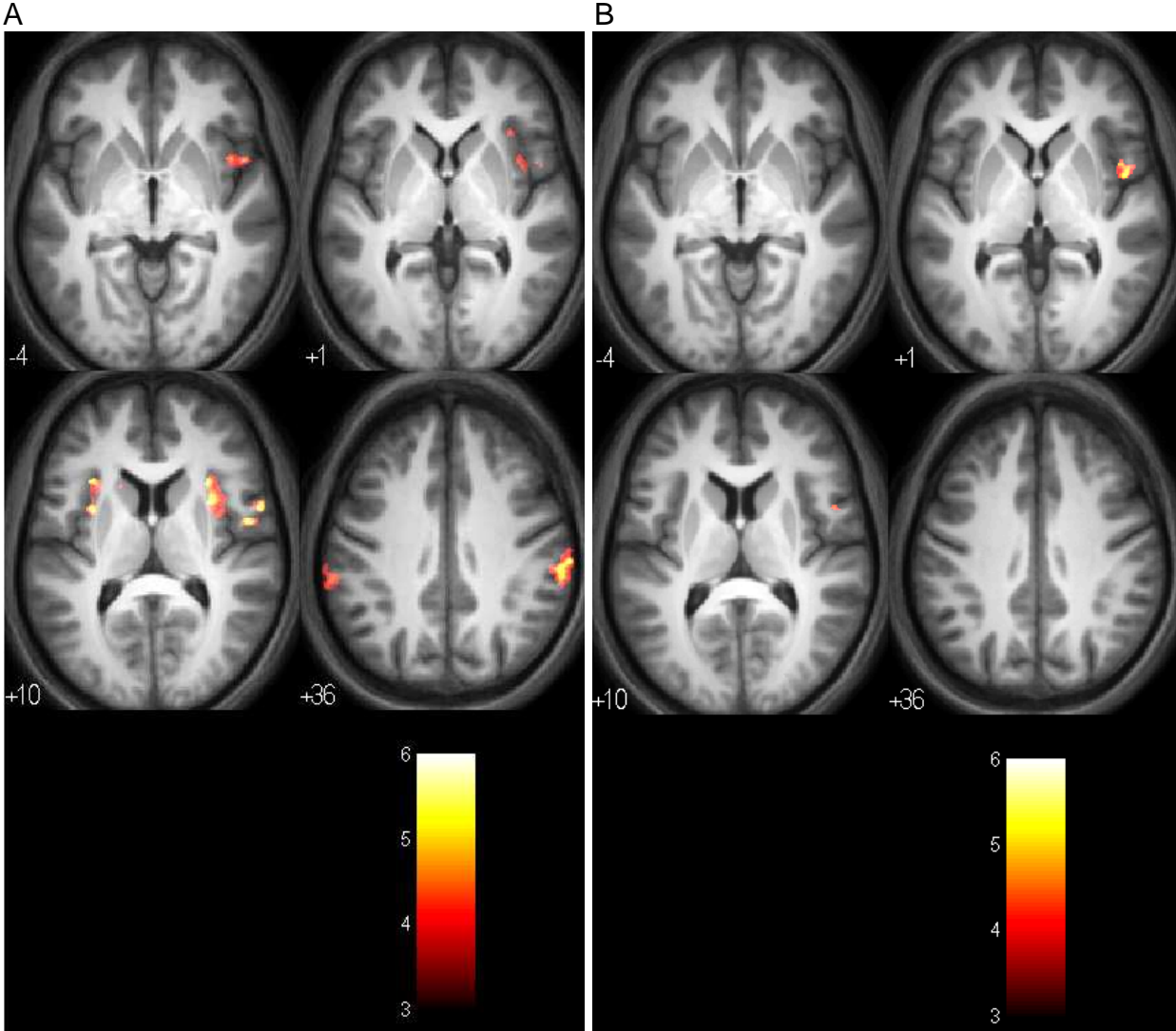


Figure 7: ROI analysis for the distension contrast “(!D+?D)-(?Ø+0Ø)”

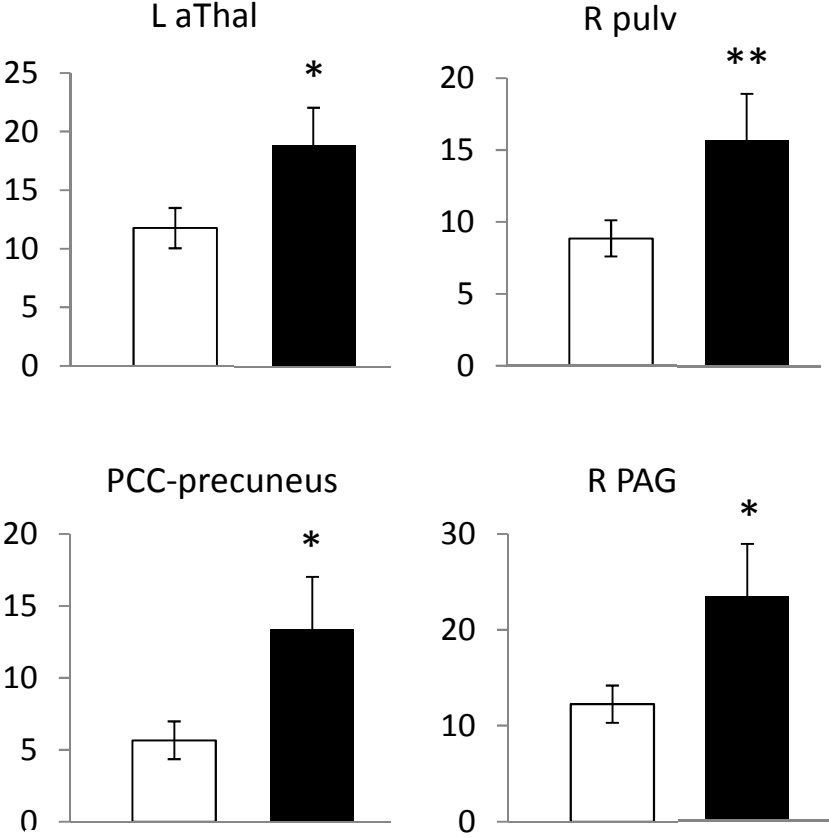


Figure 8: ROI analysis for the contrast analyzing the effect of uncertainty on rectal distension “(?D-ID)-(?Ø-0Ø)”

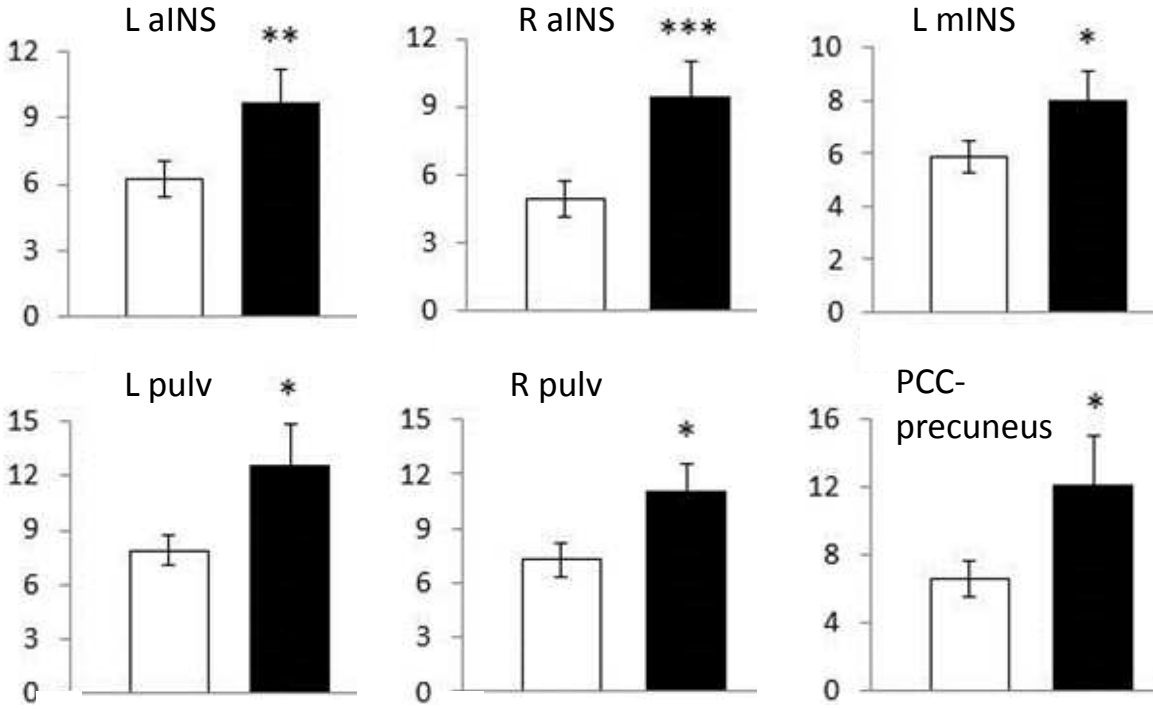


Figure 9: Effect of visceral sensitivity on brain activity in the condition of uncertainty in patients

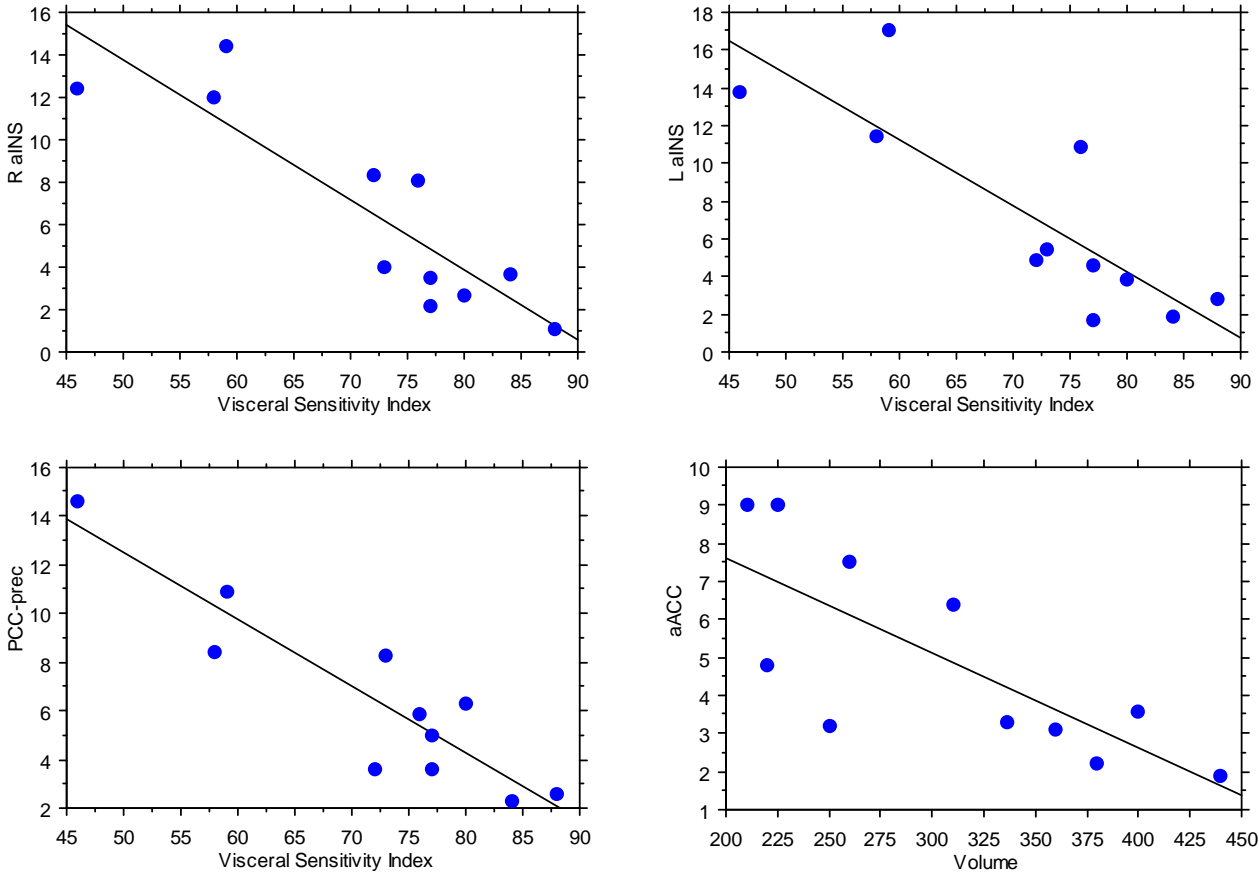


Figure 10: Correlation between disease duration and peak value on the aACC in the uncertain anticipation contrast

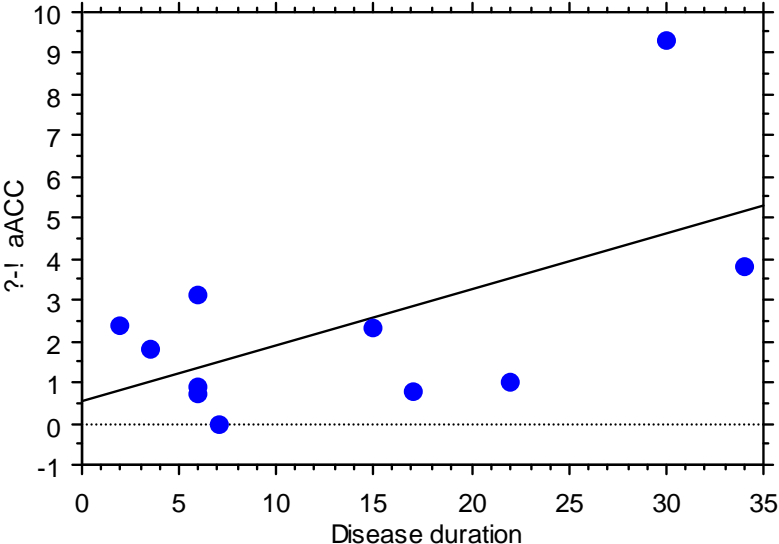


Table 1

	Controls n=15	Patients n=11
Gender	6M / 9F	7M / 8F
Age	27±2 (21-43)	43±3 (25-58)
Origin	Caucasian (n=15)	Caucasian (n=11)
Lateralization	Right-handed (n=15)	Right-handed (n=11)
Profession		
<i>Unemployed</i>	0	0
<i>Student</i>	11	0
<i>Salaried</i>	4	10
<i>Self-employed</i>	0	1
<i>Retired</i>	0	0
Disease duration (years)	NA	15±4 (2-34)
Disease location	NA	
<i>Small bowel</i>		8
<i>Colon</i>		3
Duration of CD remission (months)	NA	26±9 (11-124)
CD treatment	NA	
<i>Oral sulfasalazine</i>		1
<i>Azathioprine alone</i>		5
<i>TNF inhibitor alone</i>		4
<i>Azathioprine + TNF inhibitor</i>		1

Table 2

Uncertain - (certain+safe) anticipation	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
In controls						
Activation						
sg ACC	R	1	31	-8	197	8.49
In patients						
Activation						
PCC-precuneus	R	6	-46	32	180	7.05
	L	-8	-47	32	171	5.96
aACC	R	2	45	10	154	5.04

Table 3

Uncertain - safe anticipation	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
In controls						
Activation						
sg ACC	R	0	30	-6	170	5.43
Deactivation						
SMA	L	-7	-15	62	216	5.92
In patients						
Deactivation						
S2-operculum	R	49	3	1	151	9.15
aACC	L	-12	45	4	171	5.87
	R	8	53	19	154	5.28

Table 4

Certain - safe anticipation	Coordinates			Statistics		
	Side	X	Y	Z	k	T
In controls						
Activation						
SMA	L	-7	-11	55	1,997	7.60
dpINS	R	35	-14	4	621	5.48

Table 5

Visceral pain (distension – no distension)	Coordinates				Statistics	
	Side	X	Y	Z	k	T
In controls						
Activation						
Inferior parietal lobule	R	63	-31	43	1,745	5.97
	L	-53	-41	49	966	5.22
mINS	R	31	20	11	1,036	5.62
Operculum	R	52	-2	11	182	5.62
Caudate head	L	-18	17	13	190	5.05
In patients						
Activation						
Operculum	R	50	4	4	255	5.93

Table 6

Effect of uncertainty on visceral pain perception (?D-!D)-(?Ø-0Ø)	Coordinates				Statistics	
	Side	X	Y	Z	k	T
In controls						
Activation						
Precentral gyrus	R	31	-27	69	245	6.17
Cerebellum	R	18	-50	-59	279	5.27
SMA	R	7	-31	63	184	5.68
Amygdala	R	27	-6	25	154	4.37
In patients						
Activation						
Precuneus	L	-19	-82	37	583	7.17
SMA	L	-6	13	48	159	6.66
Operculum	L	-52	-15	12	165	5.74
PCC	L	-2	-53	30	161	5.55

REFERENCES

1. Piche T, Ducrotte P, Sabate JM, et al. Impact of functional bowel symptoms on quality of life and fatigue in quiescent Crohn disease and irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2010;22:626-e174.
2. Schirbel A, Reichert A, Roll S, et al. Impact of pain on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2010;16:3168-77.
3. Rhudy JL, Meagher MW. Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds. *Pain* 2000;84:65-75.
4. Carlsson K, Andersson J, Petrovic P, et al. Predictability modulates the affective and sensory-discriminative neural processing of pain. *Neuroimage* 2006;32:1804-14.
5. Lix LM, Graff LA, Walker JR, et al. Longitudinal study of quality of life and psychological functioning for active, fluctuating, and inactive disease patterns in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:1575-84.
6. Saab CY. Pain-related changes in the brain: diagnostic and therapeutic potentials. *Trends Neurosci* 2012;35:629-37.
7. Porro CA, Lui F, Facchin P, et al. Percept-related activity in the human somatosensory system: functional magnetic resonance imaging studies. *Magn Reson Imaging* 2004;22:1539-48.
8. Zhuo M. Cortical excitation and chronic pain. *Trends Neurosci* 2008;31:199-207.
9. Quiton RL, Masri R, Thompson SM, et al. Abnormal activity of primary somatosensory cortex in central pain syndrome. *J Neurophysiol* 2010;104:1717-25.
10. Rodriguez-Raecke R, Ihle K, Ritter C, et al. Neuronal differences between chronic low back pain and depression regarding long-term habituation to pain. *Eur J Pain* 2013.
11. Agostini A, Benuzzi F, Filippini N, et al. New insights into the brain involvement in patients with Crohn's disease: a voxel-based morphometry study. *Neurogastroenterol Motil* 2013;25:147-e82.
12. Chen JY, Blankstein U, Diamant NE, et al. White matter abnormalities in irritable bowel syndrome and relation to individual factors. *Brain Res* 2011;1392:121-31.
13. Geissler A, Andus T, Roth M, et al. Focal white-matter lesions in brain of patients with inflammatory bowel disease. *Lancet* 1995;345:897-8.
14. Thayer JF, Lane RD. Claude Bernard and the heart-brain connection: further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev* 2009;33:81-8.
15. Thayer JF, Friedman BH, Borkovec TD. Autonomic characteristics of generalized anxiety disorder and worry. *Biol Psychiatry* 1996;39:255-66.
16. Pellissier S, Dantzer C, Canini F, et al. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2010;35:653-62.
17. Cohen H, Benjamin J. Power spectrum analysis and cardiovascular morbidity in anxiety disorders. *Auton Neurosci* 2006;128:1-8.
18. Porges SW. Cardiac vagal tone: a physiological index of stress. *Neurosci Biobehav Rev* 1995;19:225-33.
19. Mouzas IA, Pallis AG, Kochiadakis GE, et al. Autonomic imbalance during the day in patients with inflammatory bowel disease in remission. Evidence from spectral analysis of heart rate variability over 24 hours. *Dig Liver Dis* 2002;34:775-80.

20. Lombardi F, Malliani A, Pagani M, et al. Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. *Cardiovasc Res* 1996;32:208-16.
21. Chen CL, Orr WC, Yang CC, et al. Cardiac autonomic regulation differentiates reflux disease with and without erosive esophagitis. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:1001-6.
22. Jarrett M, Heitkemper M, Czyzewski D, et al. Autonomic nervous system function in young children with functional abdominal pain or irritable bowel syndrome. *J Pain* 2012;13:477-84.
23. Ng C, Malcolm A, Hansen R, et al. Feeding and colonic distension provoke altered autonomic responses in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:441-6.
24. Thayer JF, Ahs F, Fredrikson M, et al. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci Biobehav Rev* 2012;36:747-56.
25. Baciú MV, Bonaz BL, Papillon E, et al. Central processing of rectal pain: a functional MR imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999;20:1920-4.
26. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996;5:1043-1065.
27. Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, et al. Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Human Brain Mapping* 1994;2:189-210.
28. Spielberger CD, Gorsuch R., Lushene R. . The State-Trait Personality Inventory (STAI, Form Y). In: Palo Alto C, Consulting Psychologists Press., ed, 1983.
29. Weissman MM, Sholomskas D, Pottenger M, et al. Assessing depressive symptoms in five psychiatric populations: a validation study. *Am J Epidemiol* 1977;106:203-14.
30. McCracken LM, Zayfert C, Gross RT. The Pain Anxiety Symptoms Scale: development and validation of a scale to measure fear of pain. *Pain* 1992;50:67-73.
31. Freeston MH, Ladouceur R, Rheaume J, et al. Self-report of obsessions and worry. *Behav Res Ther* 1994;32:29-36.
32. Cousson-Gelie F, Cosnefroy O, Christophe V, et al. The Ways of Coping Checklist (WCC): validation in French-speaking cancer patients. *J Health Psychol* 2010;15:1246-56.
33. Labus JS, Bolus R, Chang L, et al. The Visceral Sensitivity Index: development and validation of a gastrointestinal symptom-specific anxiety scale. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:89-97.
34. Ashburner J. Computational anatomy with the SPM software. *Magn Reson Imaging* 2009;27:1163-74.
35. Melzack R. Pain--an overview. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999;43:880-4.
36. Ab Aziz CB, Ahmad AH. The role of the thalamus in modulating pain. *Malays J Med Sci* 2006;13:11-8.
37. Craig AD. A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci* 2003;26:303-7.
38. Ladabaum U, Minoshima S, Hasler WL, et al. Gastric distention correlates with activation of multiple cortical and subcortical regions. *Gastroenterology* 2001;120:369-76.
39. Hamaguchi T, Kano M, Rikimaru H, et al. Brain activity during distention of the descending colon in humans. *Neurogastroenterol Motil* 2004;16:299-309.

40. Critchley HD, Wiens S, Rotshtein P, et al. Neural systems supporting interoceptive awareness. *Nat Neurosci* 2004;7:189-95.
41. Oppenheimer SM, Gelb A, Girvin JP, et al. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology* 1992;42:1727-32.
42. Kwan CL, Diamant NE, Pope G, et al. Abnormal forebrain activity in functional bowel disorder patients with chronic pain. *Neurology* 2005;65:1268-77.
43. Morgan V, Pickens D, Gautam S, et al. Amitriptyline reduces rectal pain related activation of the anterior cingulate cortex in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 2005;54:601-7.
44. Straube T, Schmidt S, Weiss T, et al. Dynamic activation of the anterior cingulate cortex during anticipatory anxiety. *Neuroimage* 2009;44:975-81.
45. Nitschke JB, Sarinopoulos I, Mackiewicz KL, et al. Functional neuroanatomy of aversion and its anticipation. *Neuroimage* 2006;29:106-16.
46. Ploghaus A, Becerra L, Borras C, et al. Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. *Trends Cogn Sci* 2003;7:197-200.
47. Mogg K, Bradley BP. A cognitive-motivational analysis of anxiety. *Behav Res Ther* 1998;36:809-48.
48. Bishop S, Duncan J, Brett M, et al. Prefrontal cortical function and anxiety: controlling attention to threat-related stimuli. *Nat Neurosci* 2004;7:184-8.
49. Schwartz JB, Gibb WJ, Tran T. Aging effects on heart rate variation. *J Gerontol* 1991;46:M99-106.
50. Kano M, Farmer AD, Aziz Q, et al. Sex differences in brain response to anticipated and experienced visceral pain in healthy subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013;304:G687-99.
51. Benson S, Kotsis V, Rosenberger C, et al. Behavioural and neural correlates of visceral pain sensitivity in healthy men and women: does sex matter? *Eur J Pain* 2012;16:349-58.
52. Straube T, Schmidt S, Weiss T, et al. Sex differences in brain activation to anticipated and experienced pain in the medial prefrontal cortex. *Hum Brain Mapp* 2009;30:689-98.
53. Kiebles JL, Doerfler B, Keefer L. Preliminary evidence supporting a framework of psychological adjustment to inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:1685-95.
54. Graff LA, Walker JR, Lix L, et al. The relationship of inflammatory bowel disease type and activity to psychological functioning and quality of life. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1491-1501.
55. Blondel-Kucharski F, Chircop C, Marquis P, et al. Health-related quality of life in Crohn's disease: a prospective longitudinal study in 231 patients. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2915-20.
56. Petrak F, Hardt J, Clement T, et al. Impaired health-related quality of life in inflammatory bowel diseases: psychosocial impact and coping styles in a national German sample. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:375-82.
57. Cohen RD. The quality of life in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1603-9.
58. Casellas F, Lopez-Vivancos J, Casado A, et al. Factors affecting health related quality of life of patients with inflammatory bowel disease. *Qual Life Res* 2002;11:775-81.

59. Adler J, Raju S, Beveridge AS, et al. College adjustment in University of Michigan students with Crohn's and colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:1281-6.

DISCUSSION GENERALE

Au total, dans ce travail de thèse nous avons mis en évidence des différences significatives entre les patients ayant une MC en rémission et des sujets volontaires sains, à la fois en terme de sensibilité viscérale (avec une hyposensibilité viscérale dans la MC), d'activité du SNA (avec un tonus vagal effondré et une hyporéactivité sympathique dans la MC), et d'activité cérébrale, dans toutes les conditions d'anticipation et de distensions rectales.

Deux mécanismes pourraient expliquer l'hyposensibilité viscérale dans la MC: 1) la théorie d'adaptation à la douleur, selon laquelle les patients exposés à des douleurs chroniques évaluent un stimulus douloureux additionnel comme relativement léger, et ainsi ont des seuils douloureux plus élevés (Helson, 1964) ; 2) l'activation des CIDN par des afférences nociceptives en provenance de l'intestin irrité de façon chronique, conduisant à des seuils de perception sensoriels accrus, ici au niveau du rectum (Le Bars et al., 1979).

Par ailleurs, la dysautonomie que nous avons observée peut être liée aux lésions des terminaisons nerveuses du SNE et du SNA (Dvorak and Silen, 1985), à des modifications structurelles cérébrales (Agostini et al., 2013) ou à la dysfonction de l'axe HHS avec dérégulation de l'équilibre entre le PFC et l'amygdale (Straub et al., 2002), qui ont été mis en évidence dans les MICI. Tout ceci peut conduire à une dérégulation sympatho-vagale et ainsi à une modification de la sensibilité viscérale. Enfin, La voie cholinergique anti-inflammatoire (Bonaz et al., 2013) joue un rôle prédominant dans la modulation de la réponse inflammatoire. Ainsi, une réduction du tonus parasympathique dans la MC pourrait être impliquée dans la perpétuation de l'inflammation viscérale.

Les hyperactivations cérébrales que nous avons mises en évidence chez les patients ayant une MC en rémission, dans le contexte d'anticipation incertaine de la survenue d'une distension rectale, sont pour partie corrélées à l'ancienneté de la maladie et à l'anxiété vis-à-vis de la douleur. Elles concernent en particulier des régions impliquées dans la gestion sensorielle, cognitive et émotionnelle de la douleur et dans l'analyse de situations de danger potentiel (cortex cingulaire, préfrontal et insulaire, thalamus et amygdale notamment). Par ailleurs, ces régions font également partie du réseau autonome central régulant l'activité du SNA.

Or nous avons montré, chez les sujets volontaires sains, qu'il existait une implication majeure du réseau autonome central au cours de l'anticipation des distensions rectales. Etant donné que les patients présentent un effondrement du tonus vagal, ces

données pourraient contribuer à expliquer les différences de réponses cérébrales que nous avons mises en évidence entre patients et sujets sains dans ces conditions.

L'ensemble des résultats de cette étude pourrait expliquer en partie la vulnérabilité des patients face aux effets du stress sur leurs symptômes et le cours de leur maladie. Par ailleurs, ces données peuvent contribuer à comprendre l'efficacité et l'intérêt des approches thérapeutiques cognitivo-comportementales (hypnose, méditation, yoga, relaxation, psychothérapie) dans la prise en charge de la MC. En effet ces techniques agissent par le biais de la modification de l'activité des structures limbiques (cortex cingulaire, amygdale-hippocampe, hypothalamus) et participent de ce fait à rétablir l'équilibre de la balance sympatho-vagale dans la MC.

Ce travail de thèse présente plusieurs limites. Tout d'abord, le nombre de sujets inclus est encore faible. Ceci est essentiellement lié au caractère invasif de l'expérimentation, qui a été à l'origine de difficultés de recrutement. De nouvelles inclusions, en particulier de patients, sont prévues.

Par ailleurs, la différence d'âge entre patients et volontaires sains est significative. L'impact de cette différence a été réduit en réalisant les analyses d'IRMf dans le modèle HRV. En effet, le principal impact prévisible de l'âge est la réduction de la HRV chez les sujets adultes vieillissants (Schwartz et al., 1991). L'effet résiduel de la différence d'âge sur l'activité cérébrale a été analysé ; l'âge n'impactait pas de façon significative les effets cérébraux de l'incertitude.

Enfin, il a été suggéré que les distensions rectales induisaient un inconfort, et non une douleur à proprement parlé. L'interprétation de notre étude comme une "étude sur l'anticipation de la douleur viscérale" est basée sur les similitudes entre notre protocole de distension et celui d'études sur la douleur rectale, à la fois pour les pressions de distension (30 à 34 mm Hg dans les papiers d'Elsenbruch et coll. (Elsenbruch et al., 2014), Lung et coll. (Leung et al., 2013) et Schmid et coll. (Schmid et al., 2014) portant sur des sujets sains versus 30mmHg chez nos sujets contrôles) ; les volumes de distension (dans la publication de Wilder-Smith et coll. (Wilder-Smith et al., 2004), le volume de distension moyen dans le groupe contrôle était de 228 ml, induisant une cotation douloureuse moyenne de 50%, tandis que notre volume de distension moyen était de 280ml chez les sujets sains) ; de même que pour les cotations d'inconfort et de douleurs (dans les études de Kotsis et coll. (Kotsis et al., 2012) et d'Elsenbruch et coll. (Elsenbruch et al., 2012), les distensions rectales induisant un inconfort de 70% provoquaient également une cotation douloureuse de 52%). Enfin, il est intéressant de noter que 280ml

est proche du volume maximal tolérable (300ml). Il existe un continuum, en termes de sensations viscérales, entre inconfort et douleur. De même, il a été montré que l'activité cérébrale était également proportionnelle à l'intensité d'un stimulus viscéral, à la fois pour la distension rectale (Bittorf et al., 2006) et œsophagienne (Coen et al., 2007). Ceci explique que nous ayons mis en évidence une activation de la matrice de la douleur au cours de nos distensions rectales, nous permettant de valider notre modèle.

PERSPECTIVES

Ces analyses vont être poursuivies. Nous envisageons d'inclure d'autres sujets pour augmenter nos effectifs et les rééquilibrer en âge, notamment en vue de la publication de notre troisième étude.

Par ailleurs, des analyses de connectivité cérébrale anatomique sont en cours sous la direction de Chantal Delon-Martin. D'ores et déjà, des premiers résultats intéressants ont été obtenus, tels qu'une diminution de la diffusion au niveau du fornix, qu'on peut opposer aux résultats de Chen et coll. (Chen et al., 2011) sur le SII et qui pourraient contribuer à expliquer l'hyposensibilité de nos patients.

Des analyses de connectivité fonctionnelle de repos ont également été initiées, montrant des différences significatives entre patients et contrôles, notamment au niveau des structures limbiques, en grande partie liées à la différence d'HRV. Ces analyses doivent être poursuivies avec l'inclusion de nouveaux sujets.

Nous effectuerons des analyses de morphométrie cérébrale pour comparer les volumes des SG au niveau de nos régions d'intérêt entre patients et contrôles, pour progresser dans la compréhension de la physiopathologie de l'hyposensibilité que nous avons trouvé chez nos patients.

Ces analyses s'intègrent dans le cadre de l'étude translationnelle intitulée « Connectivité Fonctionnelle de Repos, Anomalies de la Substance Blanche Cérébrale et Détresse Psychologique dans la Maladie de Crohn » que nous avons initiée en janvier 2014, en collaboration avec le Dr Lemogne à Paris et le Dr Konsman sur Bordeaux, avec le soutien financier d'AVIESAN et de l'ITMO. Le but de cette étude est d'explorer, selon une approche intégrative bio-psycho-sociale, les modifications de la connectivité anatomique et fonctionnelle cérébrale dans la MC en lien avec la sensibilité à la douleur viscérale et à la douleur sociale, à l'aide d'un paradigme de rejet social.

Cette étude s'inscrit donc dans la continuité des travaux de notre équipe au sein de l'Institut des Neurosciences de Grenoble sur les interactions neuro-digestives dans les MICI et les TFI.

CONCLUSION

Les patients ayant une MC en rémission sont exposés à un stress cognitivo-émotionnel chronique, lié au risque permanent de survenue d'une poussée de leur maladie. Cette situation d'anticipation et d'incertitude constantes est à l'origine d'une anxiété majeure et d'une symptomatologie dépressive.

Dans ce travail de thèse, nous avons montré que les patients avec MC en rémission présentaient une modification significative de leur activité cérébrale dans le contexte d'anticipation certaine et incertaine de la survenue d'une douleur viscérale, par rapport à des sujets sains. Ces modifications, à type d'hyperactivation, étaient pour partie corrélées à l'ancienneté de la maladie, à l'anxiété pour la douleur, à l'intolérance pour l'incertitude et à la diminution de la sensibilité viscérale mise en évidence chez les patients. Elles concernaient des zones corticales et limbiques impliquées dans la perception sensorielle et la gestion cognitive et émotionnelle de la douleur ainsi que dans l'évaluation de danger potentiel et pourraient être en lien avec des modifications structurelles ou de connectivité associées à la MC.

D'autre part, nous avons mis en évidence que ces patients présentaient une réduction marquée du tonus vagal et de la réactivité sympathique, qui était également corrélée à l'ancienneté de la maladie et à leur hyposensibilité viscérale. Or nous avons montré que chez le sujet sain, la plupart de l'activité cérébrale au cours de l'anticipation était associée à l'activité du SNA, au niveau du réseau autonome central, indiquant un poids majeur du SNA dans l'effet de l'incertitude sur l'activation cérébrale.

L'ensemble des résultats de cette étude pourrait expliquer en partie la vulnérabilité des patients face aux effets du stress sur leurs symptômes et le cours de leur maladie. Par ailleurs, ces données peuvent contribuer à comprendre l'efficacité et l'intérêt des approches thérapeutiques cognitivo-comportementales dans la prise en charge de la MC. Ainsi, une meilleure gestion de l'incertitude de la survenue de symptômes douloureux dans la MC peut aider les patients à réduire l'anxiété et le stress qu'elle entraîne, rééquilibrer la balance autonome en renforçant le tonus vagal et améliorer la sensibilité viscérale. Des essais cliniques permettant de tester ces hypothèses sont maintenant nécessaires.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Ab Aziz, C.B., Ahmad, A.H., 2006. The role of the thalamus in modulating pain. *Malays J Med Sci* 13, 11-18.
- Agostini, A., Benuzzi, F., Filippini, N., Bertani, A., Scarcelli, A., Farinelli, V., Marchetta, C., Calabrese, C., Rizzello, F., Gionchetti, P., Ercolani, M., Campieri, M., Nichelli, P., 2013. New insights into the brain involvement in patients with Crohn's disease: a voxel-based morphometry study. *Neurogastroenterol Motil* 25, 147-e182.
- Akselrod, S., Gordon, D., Ubel, F.A., Shannon, D.C., Berger, A.C., Cohen, R.J., 1981. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213, 220-222.
- Al-Chaer, E.D., Lawand, N.B., Westlund, K.N., Willis, W.D., 1996a. Pelvic visceral input into the nucleus gracilis is largely mediated by the postsynaptic dorsal column pathway. *J Neurophysiol* 76, 2675-2690.
- Al-Chaer, E.D., Lawand, N.B., Westlund, K.N., Willis, W.D., 1996b. Visceral nociceptive input into the ventral posterolateral nucleus of the thalamus: a new function for the dorsal column pathway. *J Neurophysiol* 76, 2661-2674.
- Altschuler, S.M., Escardo, J., Lynn, R.B., Miselis, R.R., 1993. The central organization of the vagus nerve innervating the colon of the rat. *Gastroenterology* 104, 502-509.
- Amodio, D.M., Frith, C.D., 2006. Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nat Rev Neurosci* 7, 268-277.
- Ananthakrishnan, A.N., 2013. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 9, 367-374.
- Andersen, V., Olsen, A., Carbonnel, F., Tjonneland, A., Vogel, U., 2012. Diet and risk of inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 44, 185-194.
- Andreasen, N.C., Rajarethinam, R., Cizadlo, T., Arndt, S., Swayze, V.W., 2nd, Flashman, L.A., O'Leary, D.S., Ehrhardt, J.C., Yuh, W.T., 1996. Automatic atlas-based volume estimation of human brain regions from MR images. *J Comput Assist Tomogr* 20, 98-106.
- Antonius, J.I., Gump, F.E., Lattes, R., Lepore, M., 1960. A study of certain microscopic features in regional enteritis, and their possible prognostic significance. *Gastroenterology* 38, 889-905.
- Apkarian, A.V., Bushnell, M.C., Treede, R.D., Zubieta, J.K., 2005. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain* 9, 463-484.
- Appelhans, B.M., Luecken, L.J., 2008. Heart rate variability and pain: associations of two interrelated homeostatic processes. *Biol Psychol* 77, 174-182.
- Ashburner, J., 2009. Computational anatomy with the SPM software. *Magn Reson Imaging* 27, 1163-1174.
- Autschbach, F., Eisold, S., Hinz, U., Zinser, S., Linnebacher, M., Giese, T., Loffler, T., Buchler, M.W., Schmidt, J., 2005. High prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis IS900 DNA in gut tissues from individuals with Crohn's disease. *Gut* 54, 944-949.
- Baciu, M.V., Bonaz, B.L., Papillon, E., Bost, R.A., Le Bas, J.F., Fournet, J., Segebarth, C.M., 1999. Central processing of rectal pain: a functional MR imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol* 20, 1920-1924.
- Baert, F., Moortgat, L., Van Assche, G., Caenepeel, P., Vergauwe, P., De Vos, M., Stokkers, P., Hommes, D., Rutgeerts, P., Vermeire, S., D'Haens, G., 2010. Mucosal healing predicts sustained clinical remission in patients with early-stage Crohn's disease. *Gastroenterology* 138, 463-468; quiz e410-461.
- Bailey, M.T., Dowd, S.E., Galley, J.D., Hufnagle, A.R., Allen, R.G., Lyte, M., 2011. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain Behav Immun* 25, 397-407.
- Bailey, M.T., Dowd, S.E., Parry, N.M., Galley, J.D., Schauer, D.B., Lyte, M., 2010. Stressor exposure disrupts commensal microbial populations in the intestines and leads to increased colonization by *Citrobacter rodentium*. *Infect Immun* 78, 1509-1519.

- Bailey, M.T., Engler, H., Sheridan, J.F., 2006. Stress induces the translocation of cutaneous and gastrointestinal microflora to secondary lymphoid organs of C57BL/6 mice. *J Neuroimmunol* 171, 29-37.
- Baldassano, R.N., Piccoli, D.A., 1999. Inflammatory bowel disease in pediatric and adolescent patients. *Gastroenterol Clin North Am* 28, 445-458.
- Baron, S., Turck, D., Leplat, C., Merle, V., Gower-Rousseau, C., Marti, R., Yzet, T., Lerebours, E., Dupas, J.L., Debeugny, S., Salomez, J.L., Cortot, A., Colombel, J.F., 2005. Environmental risk factors in paediatric inflammatory bowel diseases: a population based case control study. *Gut* 54, 357-363.
- Basbaum, A., Jessell, T., 2000. The perception of pain. In: ER Kandel, J.S., TM Jessell (Ed.), *Principles of neural science*, 4th Edn. McGraw Hill, New York, pp. 472-491.
- Beissner, F., Deichmann, R., Henke, C., Bar, K.J., 2012. Acupuncture--deep pain with an autonomic dimension? *Neuroimage* 60, 653-660.
- Beissner, F., Meissner, K., Bar, K.J., Napadow, V., 2013. The autonomic brain: an activation likelihood estimation meta-analysis for central processing of autonomic function. *J Neurosci* 33, 10503-10511.
- Benarroch, E.E., 1993. The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective. *Mayo Clin Proc* 68, 988-1001.
- Benson, S., Kotsis, V., Rosenberger, C., Bingel, U., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S., 2012. Behavioural and neural correlates of visceral pain sensitivity in healthy men and women: does sex matter? *Eur J Pain* 16, 349-358.
- Berg, D.J., Zhang, J., Weinstock, J.V., Ismail, H.F., Earle, K.A., Alila, H., Pamukcu, R., Moore, S., Lynch, R.G., 2002. Rapid development of colitis in NSAID-treated IL-10-deficient mice. *Gastroenterology* 123, 1527-1542.
- Berman, S.M., Naliboff, B.D., Suyenobu, B., Labus, J.S., Stains, J., Ohning, G., Kilpatrick, L., Bueller, J.A., Ruby, K., Jarcho, J., Mayer, E.A., 2008. Reduced brainstem inhibition during anticipated pelvic visceral pain correlates with enhanced brain response to the visceral stimulus in women with irritable bowel syndrome. *J Neurosci* 28, 349-359.
- Bernell, O., Lapidus, A., Hellers, G., 2000. Risk factors for surgery and recurrence in 907 patients with primary ileocaecal Crohn's disease. *Br J Surg* 87, 1697-1701.
- Bernik, T.R., Friedman, S.G., Ochani, M., DiRaimo, R., Susarla, S., Czura, C.J., Tracey, K.J., 2002. Cholinergic antiinflammatory pathway inhibition of tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *J Vasc Surg* 36, 1231-1236.
- Bernstein, C.N., Niazi, N., Robert, M., Mertz, H., Kodner, A., Munakata, J., Naliboff, B., Mayer, E.A., 1996. Rectal afferent function in patients with inflammatory and functional intestinal disorders. *Pain* 66, 151-161.
- Bernstein, C.N., Singh, S., Graff, L.A., Walker, J.R., Miller, N., Cheang, M., 2010. A prospective population-based study of triggers of symptomatic flares in IBD. *Am J Gastroenterol* 105, 1994-2002.
- Bernstein, C.N., Vidrich, A., 1994. Isolation, identification, and culture of normal mouse colonic glia. *Glia* 12, 108-116.
- Bernstein, D.P., Stein, J.A., Newcomb, M.D., Walker, E., Pogge, D., Ahluvalia, T., Stokes, J., Handelsman, L., Medrano, M., Desmond, D., Zule, W., 2003. Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse Negl* 27, 169-190.
- Berntson, G.G., Hart, S., Sarter, M., 1997. The cardiovascular startle response: anxiety and the benzodiazepine receptor complex. *Psychophysiology* 34, 348-357.
- Bishop, S., Duncan, J., Brett, M., Lawrence, A.D., 2004. Prefrontal cortical function and anxiety: controlling attention to threat-related stimuli. *Nat Neurosci* 7, 184-188.

- Biswal, B.B., Mennes, M., Zuo, X.N., Gohel, S., Kelly, C., Smith, S.M., Beckmann, C.F., Adelstein, J.S., Buckner, R.L., Colcombe, S., Dogonowski, A.M., Ernst, M., Fair, D., Hampson, M., Hoptman, M.J., Hyde, J.S., Kiviniemi, V.J., Kotter, R., Li, S.J., Lin, C.P., Lowe, M.J., Mackay, C., Madden, D.J., Madsen, K.H., Margulies, D.S., Mayberg, H.S., McMahon, K., Monk, C.S., Mostofsky, S.H., Nagel, B.J., Pekar, J.J., Peltier, S.J., Petersen, S.E., Riedl, V., Rombouts, S.A., Rypma, B., Schlaggar, B.L., Schmidt, S., Seidler, R.D., Siegle, G.J., Sorg, C., Teng, G.J., Veijola, J., Villringer, A., Walter, M., Wang, L., Weng, X.C., Whitfield-Gabrieli, S., Williamson, P., Windischberger, C., Zang, Y.F., Zhang, H.Y., Castellanos, F.X., Milham, M.P., 2010. Toward discovery science of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 4734-4739.
- Bitton, A., Dobkin, P.L., Edwardes, M.D., Sewitch, M.J., Meddings, J.B., Rawal, S., Cohen, A., Vermeire, S., Dufresne, L., Franchimont, D., Wild, G.E., 2008. Predicting relapse in Crohn's disease: a biopsychosocial model. *Gut* 57, 1386-1392.
- Bittorf, B., Ringler, R., Forster, C., Hohenberger, W., Matzel, K.E., 2006. Cerebral representation of the anorectum using functional magnetic resonance imaging. *Br J Surg* 93, 1251-1257.
- Boggild, H., Tuchsén, F., Orhede, E., 1996. Occupation, employment status and chronic inflammatory bowel disease in Denmark. *Int J Epidemiol* 25, 630-637.
- Bonaz, B., 2007. The cholinergic anti-inflammatory pathway and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 133, 1370-1373.
- Bonaz, B., Baciú, M., Papillon, E., Bost, R., Gueddah, N., Le Bas, J.F., Fournet, J., Segebarth, C., 2002. Central processing of rectal pain in patients with irritable bowel syndrome: an fMRI study. *Am J Gastroenterol* 97, 654-661.
- Bonaz, B., Picq, C., Sinniger, V., Mayol, J.F., Clarençon, D., 2013. Vagus nerve stimulation: from epilepsy to the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Neurogastroenterol Motil* 25, 208-221.
- Bonaz, B.L., Bernstein, C.N., 2013. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 144, 36-49.
- Borovikova, L.V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G.I., Watkins, L.R., Wang, H., Abumrad, N., Eaton, J.W., Tracey, K.J., 2000. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 405, 458-462.
- Boucsein, W., Fowles, D.C., Grimnes, S., Ben-Shakhar, G., Roth, W.T., Dawson, M.E., Filion, D.L., 2012. Publication recommendations for electrodermal measurements. *Psychophysiology* 49, 1017-1034.
- Bousvaros, A., Sylvester, F., Kugathasan, S., Szigethy, E., Fiocchi, C., Colletti, R., Otley, A., Amre, D., Ferry, G., Czinn, S.J., Splawski, J.B., Oliva-Hemker, M., Hyams, J.S., Faubion, W.A., Kirschner, B.S., Dubinsky, M.C., 2006. Challenges in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 12, 885-913.
- Brown, C.A., El-Deredy, W., Jones, A.K., 2014. When the brain expects pain: common neural responses to pain anticipation are related to clinical pain and distress in fibromyalgia and osteoarthritis. *Eur J Neurosci* 39, 663-672.
- Brown, C.A., Seymour, B., Boyle, Y., El-Deredy, W., Jones, A.K., 2008. Modulation of pain ratings by expectation and uncertainty: Behavioral characteristics and anticipatory neural correlates. *Pain* 135, 240-250.
- Bruchon-Schweitzer, M., Paulhan, I. (Eds.), 1993. *Inventaire d'Anxiété Etat-Trait Forme Y (STAI-Y)*, Paris.
- Burgmer, M., Petzke, F., Giesecke, T., Gaubitz, M., Heuft, G., Pfeleiderer, B., 2011. Cerebral activation and catastrophizing during pain anticipation in patients with fibromyalgia. *Psychosom Med* 73, 751-759.
- Cabarrocas, J., Savidge, T.C., Liblau, R.S., 2003. Role of enteric glial cells in inflammatory bowel disease. *Glia* 41, 81-93.

- Caprilli, R., Gassull, M.A., Escher, J.C., Moser, G., Munkholm, P., Forbes, A., Hommes, D.W., Lochs, H., Angelucci, E., Cocco, A., Vucelic, B., Hildebrand, H., Kolacek, S., Riis, L., Lukas, M., de Franchis, R., Hamilton, M., Jantschek, G., Michetti, P., O'Morain, C., Anwar, M.M., Freitas, J.L., Mouzas, I.A., Baert, F., Mitchell, R., Hawkey, C.J., 2006. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: special situations. *Gut* 55 Suppl 1, i36-58.
- Carlsson, K., Andersson, J., Petrovic, P., Petersson, K.M., Ohman, A., Ingvar, M., 2006. Predictability modulates the affective and sensory-discriminative neural processing of pain. *Neuroimage* 32, 1804-1814.
- Casey, K.L., 2000. Concepts of pain mechanisms: the contribution of functional imaging of the human brain. *Prog Brain Res* 129, 277-287.
- Chen, C.L., Orr, W.C., Yang, C.C., Kuo, T.B., 2006. Cardiac autonomic regulation differentiates reflux disease with and without erosive esophagitis. *Scand J Gastroenterol* 41, 1001-1006.
- Chen, J.Y., Blankstein, U., Diamant, N.E., Davis, K.D., 2011. White matter abnormalities in irritable bowel syndrome and relation to individual factors. *Brain Res* 1392, 121-131.
- Chen, M., Lee, G., Kwong, L.N., Lamont, S., Chaves, C., 2012. Cerebral white matter lesions in patients with Crohn's disease. *J Neuroimaging* 22, 38-41.
- Chouraki, V., Savoye, G., Dauchet, L., Vernier-Massouille, G., Dupas, J.L., Merle, V., Laberenne, J.E., Salomez, J.L., Lerebours, E., Turck, D., Cortot, A., Gower-Rousseau, C., Colombel, J.F., 2011. The changing pattern of Crohn's disease incidence in northern France: a continuing increase in the 10- to 19-year-old age bracket (1988-2007). *Aliment Pharmacol Ther* 33, 1133-1142.
- Christensen, B.N., Perl, E.R., 1970. Spinal neurons specifically excited by noxious or thermal stimuli: marginal zone of the dorsal horn. *J Neurophysiol* 33, 293-307.
- Chrousos, G.P., 2009. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol* 5, 374-381.
- Clarençon, S., Sinniger, V., Picq, C., Pellissier, S., Bonaz, B., 2013. Vagus nerve stimulation and the cholinergic anti-inflammatory pathway: A potential new therapeutic approach in inflammatory bowel diseases. *Autonomic Neuroscience* 177, 307.
- Clark, J.A., Brown, C.A., Jones, A.K., El-Deredy, W., 2008. Dissociating nociceptive modulation by the duration of pain anticipation from unpredictability in the timing of pain. *Clin Neurophysiol* 119, 2870-2878.
- Coen, S.J., Gregory, L.J., Yaguez, L., Amaro, E., Jr., Brammer, M., Williams, S.C., Aziz, Q., 2007. Reproducibility of human brain activity evoked by esophageal stimulation using functional magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293, G188-197.
- Cohen, H., Benjamin, J., 2006. Power spectrum analysis and cardiovascular morbidity in anxiety disorders. *Auton Neurosci* 128, 1-8.
- Collins, S.M., 2001. Stress and the Gastrointestinal Tract IV. Modulation of intestinal inflammation by stress: basic mechanisms and clinical relevance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280, G315-318.
- Cosnes, J., Cattan, S., Blain, A., Beaugerie, L., Carbonnel, F., Parc, R., Gendre, J.P., 2002. Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 8, 244-250.
- Cosnes, J., Gower-Rousseau, C., Seksik, P., Cortot, A., 2011. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 140, 1785-1794.
- Cousson-Gelie, F., Cosnefroy, O., Christophe, V., Segrestan-Crouzet, C., Merckaert, I., Fournier, E., Libert, Y., Lafaye, A., Razavi, D., 2010. The Ways of Coping Checklist (WCC): validation in French-speaking cancer patients. *J Health Psychol* 15, 1246-1256.
- Craggs, J.G., Price, D.D., Robinson, M.E., 2014. Enhancing the placebo response: functional magnetic resonance imaging evidence of memory and semantic processing in placebo analgesia. *J Pain* 15, 435-446.

- Craig, A.D., 2003. A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci* 26, 303-307.
- Critchley, H.D., 2005. Neural mechanisms of autonomic, affective, and cognitive integration. *J Comp Neurol* 493, 154-166.
- Critchley, H.D., Corfield, D.R., Chandler, M.P., Mathias, C.J., Dolan, R.J., 2000. Cerebral correlates of autonomic cardiovascular arousal: a functional neuroimaging investigation in humans. *J Physiol* 523 Pt 1, 259-270.
- Critchley, H.D., Mathias, C.J., Dolan, R.J., 2001. Neural activity in the human brain relating to uncertainty and arousal during anticipation. *Neuron* 29, 537-545.
- Critchley, H.D., Mathias, C.J., Josephs, O., O'Doherty, J., Zanini, S., Dewar, B.K., Cipolotti, L., Shallice, T., Dolan, R.J., 2003. Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence. *Brain* 126, 2139-2152.
- Critchley, H.D., Nagai, Y., Gray, M.A., Mathias, C.J., 2011. Dissecting axes of autonomic control in humans: Insights from neuroimaging. *Auton Neurosci* 161, 34-42.
- Critchley, H.D., Tang, J., Glaser, D., Butterworth, B., Dolan, R.J., 2005. Anterior cingulate activity during error and autonomic response. *Neuroimage* 27, 885-895.
- Critchley, H.D., Wiens, S., Rotshtein, P., Ohman, A., Dolan, R.J., 2004. Neural systems supporting interoceptive awareness. *Nat Neurosci* 7, 189-195.
- Czeh, B., Perez-Cruz, C., Fuchs, E., Flugge, G., 2008. Chronic stress-induced cellular changes in the medial prefrontal cortex and their potential clinical implications: does hemisphere location matter? *Behav Brain Res* 190, 1-13.
- Dammen, T., Friis, S., Ekeberg, O., 1999. The Illness Attitude Scales in chest pain patients: a study of psychometric properties. *J Psychosom Res* 46, 335-342.
- Darwin, C., 1872. *The Expression of the Emotions in Man and Animals*. Harper Collins, London.
- Dawson, M.E., Schell, A.M., Fillion, D.L., 2007. The Electrodermal System. *The Handbook of Psychophysiology*, 3rd Edition. Cambridge University Press, New York, pp. 159-181.
- Delgado, M.R., Nearing, K.I., Ledoux, J.E., Phelps, E.A., 2008. Neural circuitry underlying the regulation of conditioned fear and its relation to extinction. *Neuron* 59, 829-838.
- Deter, H.C., Keller, W., von Wietersheim, J., Jantschek, G., Duchmann, R., Zeitz, M., 2007. Psychological treatment may reduce the need for healthcare in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 13, 745-752.
- Dickenson, A.H., 2002. Gate control theory of pain stands the test of time. *Br J Anaesth* 88, 755-757.
- Dore, J., Corthier, G., 2010. [The human intestinal microbiota]. *Gastroenterol Clin Biol* 34 Suppl 1, S7-15.
- Drabant, E.M., Kuo, J.R., Ramel, W., Blechert, J., Edge, M.D., Cooper, J.R., Goldin, P.R., Hariri, A.R., Gross, J.J., 2011. Experiential, autonomic, and neural responses during threat anticipation vary as a function of threat intensity and neuroticism. *Neuroimage* 55, 401-410.
- Drossman, D.A., 1998. Presidential address: Gastrointestinal illness and the biopsychosocial model. *Psychosom Med* 60, 258-267.
- Dunckley, P., Wise, R.G., Aziz, Q., Painter, D., Brooks, J., Tracey, I., Chang, L., 2005a. Cortical processing of visceral and somatic stimulation: differentiating pain intensity from unpleasantness. *Neuroscience* 133, 533-542.
- Dunckley, P., Wise, R.G., Fairhurst, M., Hobden, P., Aziz, Q., Chang, L., Tracey, I., 2005b. A comparison of visceral and somatic pain processing in the human brainstem using functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 25, 7333-7341.
- Dvorak, A.M., Silen, W., 1985. Differentiation between Crohn's disease and other inflammatory conditions by electron microscopy. *Ann Surg* 201, 53-63.
- Eijsbouts, A.M., van den Hoogen, F.H., Laan, R.F., Hermus, A.R., Sweep, C.G., van de Putte, L.B., 2005. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 23, 658-664.

- Eippert, F., Veit, R., Weiskopf, N., Erb, M., Birbaumer, N., Anders, S., 2007. Regulation of emotional responses elicited by threat-related stimuli. *Hum Brain Mapp* 28, 409-423.
- Elenkov, I.J., Wilder, R.L., Chrousos, G.P., Vizi, E.S., 2000. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 52, 595-638.
- Elsenbruch, S., Kotsis, V., Benson, S., Rosenberger, C., Reidick, D., Schedlowski, M., Bingel, U., Theysohn, N., Forsting, M., Gizewski, E.R., 2012. Neural mechanisms mediating the effects of expectation in visceral placebo analgesia: an fMRI study in healthy placebo responders and nonresponders. *Pain* 153, 382-390.
- Elsenbruch, S., Rosenberger, C., Enck, P., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., 2010. Affective disturbances modulate the neural processing of visceral pain stimuli in irritable bowel syndrome: an fMRI study. *Gut* 59, 489-495.
- Elsenbruch, S., Schmid, J., Kullmann, J.S., Kattoor, J., Theysohn, N., Forsting, M., Kotsis, V., 2014. Visceral sensitivity correlates with decreased regional gray matter volume in healthy volunteers: a voxel-based morphometry study. *Pain* 155, 244-249.
- Ethofer, T., Breitscher, J., Wiethoff, S., Bisch, J., Schlipf, S., Wildgruber, D., Kreifelts, B., 2013. Functional responses and structural connections of cortical areas for processing faces and voices in the superior temporal sulcus. *Neuroimage* 76, 45-56.
- Fairhurst, M., Wiech, K., Dunckley, P., Tracey, I., 2007. Anticipatory brainstem activity predicts neural processing of pain in humans. *Pain* 128, 101-110.
- Felder, J.B., Korelitz, B.I., Rajapakse, R., Schwarz, S., Horatagis, A.P., Gleim, G., 2000. Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on inflammatory bowel disease: a case-control study. *Am J Gastroenterol* 95, 1949-1954.
- Feuerstein, M., Sult, S., Houle, M., 1985. Environmental stressors and chronic low back pain: life events, family and work environment. *Pain* 22, 295-307.
- Fields, H.L., Anderson, S.D., Wagner, G.M., 1974. The spinothalamic tract: an alternate pathway mediating pain. *Trans Am Neurol Assoc* 99, 211-213.
- Frangos, C.C., 2007. Inflammatory bowel disease: reviewing an old study under a new perspective. *Gut* 56, 1638-1639.
- Freeston, M.H., Ladouceur, R., Rheaume, J., Letarte, H., Gagnon, F., Thibodeau, N., 1994. Self-report of obsessions and worry. *Behav Res Ther* 32, 29-36.
- Friston, K.J., Holmes, A.P., Worsley, K.J., Poline, J.B., Frith, C.D., Frackowiak, R.S., 1994. Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum Brain Mapp* 2, 189-210.
- Fuhrer, R., Rouillon, F., 1989. La version française de l'échelle CES-D (Center for epidemiologic studies - depression scale). Description et traduction de l'échelle d'auto-évaluation. *Psychiatr Psychobiol* 4, 163-166.
- Garcia-Vega, E., Fernandez-Rodriguez, C., 2004. A stress management programme for Crohn's disease. *Behav Res Ther* 42, 367-383.
- Geboes, K., Collins, S., 1998. Structural abnormalities of the nervous system in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Neurogastroenterol Motil* 10, 189-202.
- Geisser, M.E., Robinson, M.E., Keefe, F.J., Weiner, M.L., 1994. Catastrophizing, depression and the sensory, affective and evaluative aspects of chronic pain. *Pain* 59, 79-83.
- Geissler, A., Andus, T., Roth, M., Kullmann, F., Caesar, I., Held, P., Gross, V., Feuerbach, S., Scholmerich, J., 1995. Focal white-matter lesions in brain of patients with inflammatory bowel disease. *Lancet* 345, 897-898.
- Ghia, J.E., Blennerhassett, P., Collins, S.M., 2008. Impaired parasympathetic function increases susceptibility to inflammatory bowel disease in a mouse model of depression. *J Clin Invest* 118, 2209-2218.
- Godet, P.G., May, G.R., Sutherland, L.R., 1995. Meta-analysis of the role of oral contraceptive agents in inflammatory bowel disease. *Gut* 37, 668-673.
- Goode, T., O'Connell, J., Anton, P., Wong, H., Reeve, J., O'Sullivan, G.C., Collins, J.K., Shanahan, F., 2000. Neurokinin-1 receptor expression in inflammatory bowel disease: molecular quantitation and localisation. *Gut* 47, 387-396.

- Goswami, R., Frances, M.F., Shoemaker, J.K., 2011. Representation of somatosensory inputs within the cortical autonomic network. *Neuroimage* 54, 1211-1220.
- Gracely, R.H., Geisser, M.E., Giesecke, T., Grant, M.A., Petzke, F., Williams, D.A., Clauw, D.J., 2004. Pain catastrophizing and neural responses to pain among persons with fibromyalgia. *Brain* 127, 835-843.
- Grootenhuis, M.A., Maurice-Stam, H., Derkx, B.H., Last, B.F., 2009. Evaluation of a psychoeducational intervention for adolescents with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21, 430-435.
- Grundy, D., Scatcherd, T., 1989. Sensory afferents from the gastrointestinal tract. In: Schultz SG, W.T.R.B., eds. (Ed.), *Handbook of physiology*. Oxford University Press, New York, pp. 593-620.
- Guarini, S., Altavilla, D., Cainazzo, M.M., Giuliani, D., Bigiani, A., Marini, H., Squadrito, G., Minutoli, L., Bertolini, A., Marini, R., Adamo, E.B., Venuti, F.S., Squadrito, F., 2003. Efferent vagal fibre stimulation blunts nuclear factor-kappaB activation and protects against hypovolemic hemorrhagic shock. *Circulation* 107, 1189-1194.
- Guirimand, F., Le Bars, D., 1996. [Physiology of nociception]. *Ann Fr Anesth Reanim* 15, 1048-1079.
- Guthrie, E., Barlow, J., Fernandes, L., Ratcliffe, J., Read, N., Thompson, D.G., Tomenson, B., Creed, F., 2004. Changes in tolerance to rectal distension correlate with changes in psychological state in patients with severe irritable bowel syndrome. *Psychosom Med* 66, 578-582.
- Guthrie, E., Jackson, J., Shaffer, J., Thompson, D., Tomenson, B., Creed, F., 2002. Psychological disorder and severity of inflammatory bowel disease predict health-related quality of life in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 97, 1994-1999.
- Hagmann, P., Jonasson, L., Maeder, P., Thiran, J.P., Wedeen, V.J., Meuli, R., 2006. Understanding diffusion MR imaging techniques: from scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *Radiographics* 26 Suppl 1, S205-223.
- Halpin, S.J., Ford, A.C., 2012. Prevalence of symptoms meeting criteria for irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 107, 1474-1482.
- Hamaguchi, T., Kano, M., Rikimaru, H., Kanazawa, M., Itoh, M., Yanai, K., Fukudo, S., 2004. Brain activity during distention of the descending colon in humans. *Neurogastroenterol Motil* 16, 299-309.
- Harrison, N.A., Gray, M.A., Gianaros, P.J., Critchley, H.D., 2010. The embodiment of emotional feelings in the brain. *J Neurosci* 30, 12878-12884.
- Hedman, A.E., Hartikainen, J.E., Tahvanainen, K.U., Hakumaki, M.O., 1995. The high frequency component of heart rate variability reflects cardiac parasympathetic modulation rather than parasympathetic 'tone'. *Acta Physiol Scand* 155, 267-273.
- Helson, H., 1964. *Adaptation-Level Theory: An Experimental and Systematic Approach to Behavior*. Harper and Row, New York.
- Hommel, K.A., Hente, E.A., Odell, S., Herzer, M., Ingerski, L.M., Guilfoyle, S.M., Denson, L.A., 2012. Evaluation of a group-based behavioral intervention to promote adherence in adolescents with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 24, 64-69.
- Hsieh, J.C., Stone-Elander, S., Ingvar, M., 1999. Anticipatory coping of pain expressed in the human anterior cingulate cortex: a positron emission tomography study. *Neurosci Lett* 262, 61-64.
- Jarrett, M., Heitkemper, M., Czyzewski, D., Zeltzer, L., Shulman, R.J., 2012. Autonomic nervous system function in young children with functional abdominal pain or irritable bowel syndrome. *J Pain* 13, 477-484.
- Kano, M., Farmer, A.D., Aziz, Q., Giampietro, V.P., Brammer, M.J., Williams, S.C., Fukudo, S., Coen, S.J., 2013. Sex differences in brain response to anticipated and experienced visceral pain in healthy subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304, G687-699.

- Kappelman, M.D., Long, M.D., Martin, C., Dewalt, D.A., Kinneer, P.M., Chen, W., Lewis, J.D., Sandler, R.S., 2013. Evaluation of the Patient-Reported Outcomes Measurement Information System in a Large Cohort of Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol*.
- Keefer, L., Doerfler, B., Artz, C., 2012. Optimizing management of Crohn's disease within a project management framework: results of a pilot study. *Inflamm Bowel Dis* 18, 254-260.
- Keefer, L., Kiebles, J.L., Martinovich, Z., Cohen, E., Van Denburg, A., Barrett, T.A., 2011. Behavioral interventions may prolong remission in patients with inflammatory bowel disease. *Behav Res Ther* 49, 145-150.
- Kemper, K.J., Hamilton, C., Atkinson, M., 2007. Heart rate variability: impact of differences in outlier identification and management strategies on common measures in three clinical populations. *Pediatr Res* 62, 337-342.
- Khalili, H., Higuchi, L.M., Ananthakrishnan, A.N., Richter, J.M., Feskanich, D., Fuchs, C.S., Chan, A.T., 2013. Oral contraceptives, reproductive factors and risk of inflammatory bowel disease. *Gut* 62, 1153-1159.
- Kiliaan, A.J., Saunders, P.R., Bijlsma, P.B., Berin, M.C., Taminiau, J.A., Groot, J.A., Perdue, M.H., 1998. Stress stimulates transepithelial macromolecular uptake in rat jejunum. *Am J Physiol* 275, G1037-1044.
- Knight, D.C., Nguyen, H.T., Bandettini, P.A., 2005. The role of the human amygdala in the production of conditioned fear responses. *Neuroimage* 26, 1193-1200.
- Kotsis, V., Benson, S., Bingel, U., Forsting, M., Schedlowski, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S., 2012. Perceived treatment group affects behavioral and neural responses to visceral pain in a deceptive placebo study. *Neurogastroenterol Motil* 24, 935-e462.
- Kwan, C.L., Diamant, N.E., Pope, G., Mikula, K., Mikulis, D.J., Davis, K.D., 2005. Abnormal forebrain activity in functional bowel disorder patients with chronic pain. *Neurology* 65, 1268-1277.
- Labus, J.S., Bolus, R., Chang, L., Wiklund, I., Naesdal, J., Mayer, E.A., Naliboff, B.D., 2004. The Visceral Sensitivity Index: development and validation of a gastrointestinal symptom-specific anxiety scale. *Aliment Pharmacol Ther* 20, 89-97.
- Ladabaum, U., Minoshima, S., Hasler, W.L., Cross, D., Chey, W.D., Owyang, C., 2001. Gastric distention correlates with activation of multiple cortical and subcortical regions. *Gastroenterology* 120, 369-376.
- Ladabaum, U., Roberts, T.P., McGonigle, D.J., 2007. Gastric fundic distension activates fronto-limbic structures but not primary somatosensory cortex: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroimage* 34, 724-732.
- Lane, R.D., Waldstein, S.R., Chesney, M.A., Jennings, J.R., Lovallo, W.R., Kozel, P.J., Rose, R.M., Drossman, D.A., Schneiderman, N., Thayer, J.F., Cameron, O.G., 2009. The rebirth of neuroscience in psychosomatic medicine, Part I: historical context, methods, and relevant basic science. *Psychosom Med* 71, 117-134.
- Lane, R.D., Weidenbacher, H., Smith, R., Fort, C., Thayer, J.F., Allen, J.J., 2013. Subgenual anterior cingulate cortex activity covariation with cardiac vagal control is altered in depression. *J Affect Disord* 150, 565-570.
- Lawrance, I.C., Murray, K., Batman, B., Gearry, R.B., Grafton, R., Krishnaprasad, K., Andrews, J.M., Prosser, R., Bampton, P.A., Cooke, S.E., Mahy, G., Radford-Smith, G., Croft, A., Hanigan, K., 2013. Crohn's disease and smoking: is it ever too late to quit? *J Crohns Colitis* 7, e665-671.
- Le Bars, D., Dickenson, A.H., Besson, J.M., 1979. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain* 6, 283-304.
- Lehtinen, P., Ashorn, M., Iltanen, S., Jauhola, R., Jauhonen, P., Kolho, K.L., Auvinen, A., 2011. Incidence trends of pediatric inflammatory bowel disease in Finland, 1987-2003, a nationwide study. *Inflamm Bowel Dis* 17, 1778-1783.
- Lembo, T., Munakata, J., Mertz, H., Niazi, N., Kodner, A., Nikas, V., Mayer, E.A., 1994. Evidence for the hypersensitivity of lumbar splanchnic afferents in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 107, 1686-1696.

- Lennon, E.M., Maharshak, N., Elloumi, H., Borst, L., Plevy, S.E., Moeser, A.J., 2013. Early life stress triggers persistent colonic barrier dysfunction and exacerbates colitis in adult IL-10^{-/-} mice. *Inflamm Bowel Dis* 19, 712-719.
- Lerebours, E., Gower-Rousseau, C., Merle, V., Brazier, F., Debeugny, S., Marti, R., Salomez, J.L., Hellot, M.F., Dupas, J.L., Colombel, J.F., Cortot, A., Benichou, J., 2007. Stressful life events as a risk factor for inflammatory bowel disease onset: A population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 102, 122-131.
- Leung, W.W., Jones, A.Y., Ng, S.S., Wong, C.Y., Lee, J.F., 2013. Acupuncture transcutaneous electrical nerve stimulation reduces discomfort associated with barostat-induced rectal distension: a randomized-controlled study. *World J Gastroenterol* 19, 381-388.
- Li, J., Norgard, B., Precht, D.H., Olsen, J., 2004. Psychological stress and inflammatory bowel disease: a follow-up study in parents who lost a child in Denmark. *Am J Gastroenterol* 99, 1129-1133.
- Lix, L.M., Graff, L.A., Walker, J.R., Clara, I., Rawsthorne, P., Rogala, L., Miller, N., Ediger, J., Pretorius, T., Bernstein, C.N., 2008. Longitudinal study of quality of life and psychological functioning for active, fluctuating, and inactive disease patterns in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 14, 1575-1584.
- Loewy, A., 1990. Anatomy of the autonomic nervous system: an overview
In: Loewy, A., Spyer, K. (Eds.), *Central Regulation of Autonomic Functions*. Oxford University Press, New York
- Lomax, A.E., Linden, D.R., Mawe, G.M., Sharkey, K.A., 2006. Effects of gastrointestinal inflammation on enteroendocrine cells and enteric neural reflex circuits. *Auton Neurosci* 126-127, 250-257.
- Lombardi, F., Malliani, A., Pagani, M., Cerutti, S., 1996. Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. *Cardiovasc Res* 32, 208-216.
- Lomer, M.C., Thompson, R.P., Powell, J.J., 2002. Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease. *Proc Nutr Soc* 61, 123-130.
- Lutz, A., McFarlin, D.R., Perlman, D.M., Salomons, T.V., Davidson, R.J., 2013. Altered anterior insula activation during anticipation and experience of painful stimuli in expert meditators. *Neuroimage* 64, 538-546.
- Lyte, M., Vulchanova, L., Brown, D.R., 2011. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions. *Cell Tissue Res* 343, 23-32.
- Mackenzie, R.A., Burke, D., Skuse, N.F., Lethlean, A.K., 1975. Fibre function and perception during cutaneous nerve block. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 38, 865-873.
- Maier, S.F., Amat, J., Baratta, M.V., Paul, E., Watkins, L.R., 2006. Behavioral control, the medial prefrontal cortex, and resilience. *Dialogues Clin Neurosci* 8, 397-406.
- Marieb, E., Hoehn, K., 2007. *Human Anatomy and Physiology*, 7e. Benjamin Cummings.
- Matteoli, G., Gomez-Pinilla, P.J., Nemethova, A., Di Giovangiulio, M., Cailotto, C., van Bree, S.H., Michel, K., Tracey, K.J., Schemann, M., Boesmans, W., Vanden Berghe, P., Boeckxstaens, G.E., 2013. A distinct vagal anti-inflammatory pathway modulates intestinal muscularis resident macrophages independent of the spleen. *Gut*.
- Matthews, S.C., Paulus, M.P., Simmons, A.N., Nelesen, R.A., Dimsdale, J.E., 2004. Functional subdivisions within anterior cingulate cortex and their relationship to autonomic nervous system function. *Neuroimage* 22, 1151-1156.
- Mayer, E.A., 2000. The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. *Gut* 47, 861-869.
- Mayer, E.A., 2011. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat Rev Neurosci* 12, 453-466.
- Mayer, E.A., Naliboff, B.D., Craig, A.D., 2006. Neuroimaging of the brain-gut axis: from basic understanding to treatment of functional GI disorders. *Gastroenterology* 131, 1925-1942.
- McCafferty, D.M., Wallace, J.L., Sharkey, K.A., 1997. Effects of chemical sympathectomy and sensory nerve ablation on experimental colitis in the rat. *Am J Physiol* 272, G272-280.

- McCarberg, B.H., Stanos, S., Williams, D.A., 2012. Comprehensive chronic pain management: improving physical and psychological function (CME multimedia activity). *Am J Med* 125, S1.
- McCracken, L.M., Zayfert, C., Gross, R.T., 1992. The Pain Anxiety Symptoms Scale: development and validation of a scale to measure fear of pain. *Pain* 50, 67-73.
- McDermott, K.B., Szpunar, K.K., Christ, S.E., 2009. Laboratory-based and autobiographical retrieval tasks differ substantially in their neural substrates. *Neuropsychologia* 47, 2290-2298.
- McNaughton, N., Gray, J.A., 2000. Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety. *J Affect Disord* 61, 161-176.
- McNeil, D.W., Rainwater, A.J., 3rd, 1998. Development of the Fear of Pain Questionnaire--III. *J Behav Med* 21, 389-410.
- Meddings, J.B., Swain, M.G., 2000. Environmental stress-induced gastrointestinal permeability is mediated by endogenous glucocorticoids in the rat. *Gastroenterology* 119, 1019-1028.
- Melgar, S., Engstrom, K., Jagervall, A., Martinez, V., 2008. Psychological stress reactivates dextran sulfate sodium-induced chronic colitis in mice. *Stress* 11, 348-362.
- Melzack, R., 1999. Pain--an overview. *Acta Anaesthesiol Scand* 43, 880-884.
- Melzack, R., Wall, P.D., 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971-979.
- Meregnani, J., Clarencon, D., Vivier, M., Peinnequin, A., Mouret, C., Sinniger, V., Picq, C., Job, A., Canini, F., Jacquier-Sarlin, M., Bonaz, B., 2011. Anti-inflammatory effect of vagus nerve stimulation in a rat model of inflammatory bowel disease. *Auton Neurosci* 160, 82-89.
- Mertz, H., Naliboff, B., Munakata, J., Niazi, N., Mayer, E.A., 1995. Altered rectal perception is a biological marker of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 109, 40-52.
- Milad, M.R., Quinn, B.T., Pitman, R.K., Orr, S.P., Fischl, B., Rauch, S.L., 2005. Thickness of ventromedial prefrontal cortex in humans is correlated with extinction memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 10706-10711.
- Milne, R.J., Foreman, R.D., Giesler, G.J., Jr., Willis, W.D., 1981. Convergence of cutaneous and pelvic visceral nociceptive inputs onto primate spinothalamic neurons. *Pain* 11, 163-183.
- Mineka, S., Hendersen, R.W., 1985. Controllability and predictability in acquired motivation. *Annu Rev Psychol* 36, 495-529.
- Mioni, C., Bazzani, C., Giuliani, D., Altavilla, D., Leone, S., Ferrari, A., Minutoli, L., Bitto, A., Marini, H., Zaffe, D., Botticelli, A.R., Iannone, A., Tomasi, A., Bigiani, A., Bertolini, A., Squadrito, F., Guarini, S., 2005. Activation of an efferent cholinergic pathway produces strong protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Crit Care Med* 33, 2621-2628.
- Mittermaier, C., Dejaco, C., Waldhoer, T., Oefflerbauer-Ernst, A., Miehsler, W., Beier, M., Tillinger, W., Gangl, A., Moser, G., 2004. Impact of depressive mood on relapse in patients with inflammatory bowel disease: a prospective 18-month follow-up study. *Psychosom Med* 66, 79-84.
- Mogg, K., Bradley, B.P., 1998. A cognitive-motivational analysis of anxiety. *Behav Res Ther* 36, 809-848.
- Molodecky, N.A., Soon, I.S., Rabi, D.M., Ghali, W.A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E.I., Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H.W., Kaplan, G.G., 2012. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 142, 46-54 e42; quiz e30.
- Morgan, V., Pickens, D., Gautam, S., Kessler, R., Mertz, H., 2005. Amitriptyline reduces rectal pain related activation of the anterior cingulate cortex in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 54, 601-607.
- Moser, G., Maier-Dobersberger, T., Vogelsang, H., Lochs, H., 1993. Inflammatory bowel disease: patients' beliefs about the etiology of their disease - a controlled study

Psychosom Med 55, 131.

- Moss, A.C., 2013. Prevention of postoperative recurrence of Crohn's disease: what does the evidence support? *Inflamm Bowel Dis* 19, 856-859.
- Mouzas, I.A., Pallis, A.G., Kochiadakis, G.E., Marketou, M., Chlouverakis, G.I., Mellissas, J., Vardas, P.E., Kouroumalis, E.A., 2002. Autonomic imbalance during the day in patients with inflammatory bowel disease in remission. Evidence from spectral analysis of heart rate variability over 24 hours. *Dig Liver Dis* 34, 775-780.
- Mueller, M.H., Kreis, M.E., Gross, M.L., Becker, H.D., Zittel, T.T., Jehle, E.C., 2002. Anorectal functional disorders in the absence of anorectal inflammation in patients with Crohn's disease. *Br J Surg* 89, 1027-1031.
- Nader, K., Schafe, G.E., Le Doux, J.E., 2000. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature* 406, 722-726.
- Napadow, V., Dhond, R., Conti, G., Makris, N., Brown, E.N., Barbieri, R., 2008. Brain correlates of autonomic modulation: combining heart rate variability with fMRI. *Neuroimage* 42, 169-177.
- Napadow, V., Dhond, R.P., Purdon, P., Kettner, N., Makris, N., Kwong, K.K., Hui, K.K., 2005. Correlating acupuncture fMRI in the human brainstem with heart rate variability. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 5, 4496-4499.
- Napadow, V., Lee, J., Kim, J., Cina, S., Maeda, Y., Barbieri, R., Harris, R.E., Kettner, N., Park, K., 2013. Brain correlates of phasic autonomic response to acupuncture stimulation: an event-related fMRI study. *Hum Brain Mapp* 34, 2592-2606.
- Nerich, V., Monnet, E., Etienne, A., Louafi, S., Ramee, C., Rican, S., Weill, A., Vallier, N., Vanbockstael, V., Auleley, G.R., Allemand, H., Carbonnel, F., 2006. Geographical variations of inflammatory bowel disease in France: a study based on national health insurance data. *Inflamm Bowel Dis* 12, 218-226.
- Neunlist, M., Van Landeghem, L., Mahe, M.M., Derkinderen, P., des Varannes, S.B., Rolli-Derkinderen, M., 2013. The digestive neuronal-glia-epithelial unit: a new actor in gut health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10, 90-100.
- Ng, C., Malcolm, A., Hansen, R., Kellow, J., 2007. Feeding and colonic distension provoke altered autonomic responses in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 42, 441-446.
- Nitschke, J.B., Sarinopoulos, I., Mackiewicz, K.L., Schaefer, H.S., Davidson, R.J., 2006. Functional neuroanatomy of aversion and its anticipation. *Neuroimage* 29, 106-116.
- Norris, C.J., Larsen, J.T., Cacioppo, J.T., 2007. Neuroticism is associated with larger and more prolonged electrodermal responses to emotionally evocative pictures. *Psychophysiology* 44, 823-826.
- O'Connor, M.F., Gundel, H., McRae, K., Lane, R.D., 2007. Baseline vagal tone predicts BOLD response during elicitation of grief. *Neuropsychopharmacology* 32, 2184-2189.
- Oehmichen, M., Reifferscheid, P., 1977. Intramural ganglion cell degeneration in inflammatory bowel disease. *Digestion* 15, 482-496.
- Ogawa, S., Lee, T.M., Nayak, A.S., Glynn, P., 1990. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn Reson Med* 14, 68-78.
- Ohlsson, B., Sundkvist, G., Lindgren, S., 2007. Subclinical sympathetic neuropathy appears early in the course of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 7, 33.
- Oka, S., Chapman, C.R., Kim, B., Shimizu, O., Noma, N., Takeichi, O., Imamura, Y., Oi, Y., 2010. Predictability of painful stimulation modulates subjective and physiological responses. *J Pain* 11, 239-246.
- Oliveri, M., Babiloni, C., Filippi, M.M., Caltagirone, C., Babiloni, F., Cicinelli, P., Traversa, R., Palmieri, M.G., Rossini, P.M., 2003. Influence of the supplementary motor area on primary motor cortex excitability during movements triggered by neutral or emotionally unpleasant visual cues. *Exp Brain Res* 149, 214-221.

- Over, K., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Ricke, S.C., 2011. Current perspectives on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, Johne's disease, and Crohn's disease: a review. *Crit Rev Microbiol* 37, 141-156.
- Overman, E.L., Rivier, J.E., Moeser, A.J., 2012. CRF induces intestinal epithelial barrier injury via the release of mast cell proteases and TNF-alpha. *PLoS One* 7, e39935.
- Pavlov, V.A., Tracey, K.J., 2005. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun* 19, 493-499.
- Pawliczek, C.M., Derntl, B., Kellermann, T., Kohn, N., Gur, R.C., Habel, U., 2013. Inhibitory control and trait aggression: neural and behavioral insights using the emotional stop signal task. *Neuroimage* 79, 264-274.
- Pellissier, S., 2013. Variabilité du rythme cardiaque. In: Hot, P., Deleplanque, S. (Eds.), *Electrophysiologie de la cognition*.
- Pellissier, S., Dantzer, C., Canini, F., Mathieu, N., Bonaz, B., 2010. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 35, 653-662.
- Pellissier, S., Dantzer, C., Mondillon, L., Trocme, C., Mathieu, N., Faure, P., Canini, F., Bonaz, B., 2013. Uncoupling between the vagal tone and HPA axis in patients with Crohn's disease or irritable bowel syndrome: Relation to stress and inflammation. *Autonomic Neuroscience* 177, 315-316.
- Persoons, P., Vermeire, S., Demyttenaere, K., Fischler, B., Vandenberghe, J., Van Oudenhove, L., Pierik, M., Hlavaty, T., Van Assche, G., Noman, M., Rutgeerts, P., 2005. The impact of major depressive disorder on the short- and long-term outcome of Crohn's disease treatment with infliximab. *Aliment Pharmacol Ther* 22, 101-110.
- Persson, H., Kumlien, E., Ericson, M., Tomson, T., 2005. Preoperative heart rate variability in relation to surgery outcome in refractory epilepsy. *Neurology* 65, 1021-1025.
- Petrovic, P., Carlsson, K., Petersson, K.M., Hansson, P., Ingvar, M., 2004. Context-dependent deactivation of the amygdala during pain. *J Cogn Neurosci* 16, 1289-1301.
- Peyron, R., Laurent, B., Garcia-Larrea, L., 2000. Functional imaging of brain responses to pain. A review and meta-analysis (2000). *Neurophysiol Clin* 30, 263-288.
- Piche, T., Ducrotte, P., Sabate, J.M., Coffin, B., Zerbib, F., Dapoigny, M., Hua, M., Marine-Barjoan, E., Dainese, R., Hebuterne, X., 2010. Impact of functional bowel symptoms on quality of life and fatigue in quiescent Crohn disease and irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 22, 626-e174.
- Piche, T., Saint-Paul, M.C., Dainese, R., Marine-Barjoan, E., Iannelli, A., Montoya, M.L., Peyron, J.F., Czerucka, D., Cherikh, F., Filippi, J., Tran, A., Hebuterne, X., 2008. Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome. *Gut* 57, 468-473.
- Pizzagalli, F., Auzias, G., Delon-Martin, C., Dojat, M., 2013. Local landmark alignment for high-resolution fMRI group studies: toward a fine cortical investigation of hand movements in human. *J Neurosci Methods* 218, 83-95.
- Ploghaus, A., Becerra, L., Borras, C., Borsook, D., 2003. Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. *Trends Cogn Sci* 7, 197-200.
- Ploghaus, A., Tracey, I., Gati, J.S., Clare, S., Menon, R.S., Matthews, P.M., Rawlins, J.N., 1999. Dissociating pain from its anticipation in the human brain. *Science* 284, 1979-1981.
- Porchet, H.C., Benowitz, N.L., Sheiner, L.B., Copeland, J.R., 1987. Apparent tolerance to the acute effect of nicotine results in part from distribution kinetics. *J Clin Invest* 80, 1466-1471.
- Porges, S.W., 1995. Cardiac vagal tone: a physiological index of stress. *Neurosci Biobehav Rev* 19, 225-233.
- Porro, C.A., Baraldi, P., Pagnoni, G., Serafini, M., Facchin, P., Maieron, M., Nichelli, P., 2002. Does anticipation of pain affect cortical nociceptive systems? *J Neurosci* 22, 3206-3214.

- Porro, C.A., Lui, F., Facchin, P., Maieron, M., Baraldi, P., 2004. Percept-related activity in the human somatosensory system: functional magnetic resonance imaging studies. *Magn Reson Imaging* 22, 1539-1548.
- Quiton, R.L., Masri, R., Thompson, S.M., Keller, A., 2010. Abnormal activity of primary somatosensory cortex in central pain syndrome. *J Neurophysiol* 104, 1717-1725.
- Reber, S.O., Peters, S., Slattery, D.A., Hofmann, C., Scholmerich, J., Neumann, I.D., Obermeier, F., 2011. Mucosal immunosuppression and epithelial barrier defects are key events in murine psychosocial stress-induced colitis. *Brain Behav Immun* 25, 1153-1161.
- Reid, G.J., Gilbert, C.A., McGrath, P.J., 1998. The Pain Coping Questionnaire: preliminary validation. *Pain* 76, 83-96.
- Reyes Del Paso, G.A., Langewitz, W., Mulder, L.J., van Roon, A., Duschek, S., 2013. The utility of low frequency heart rate variability as an index of sympathetic cardiac tone: A review with emphasis on a reanalysis of previous studies. *Psychophysiology* 50, 477-487.
- Rhudy, J.L., Meagher, M.W., 2000. Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds. *Pain* 84, 65-75.
- Rivest, S., Lacroix, S., Vallieres, L., Nadeau, S., Zhang, J., Laflamme, N., 2000. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med* 223, 22-38.
- Robbe, H.W., Mulder, L.J., Ruddel, H., Langewitz, W.A., Veldman, J.B., Mulder, G., 1987. Assessment of baroreceptor reflex sensitivity by means of spectral analysis. *Hypertension* 10, 538-543.
- Rodriguez-Raecke, R., Ihle, K., Ritter, C., Muhtz, C., Otte, C., May, A., 2013. Neuronal differences between chronic low back pain and depression regarding long-term habituation to pain. *Eur J Pain*.
- Rook, G.A., Adams, V., Hunt, J., Palmer, R., Martinelli, R., Brunet, L.R., 2004. Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders. *Springer Semin Immunopathol* 25, 237-255.
- Rook, G.A., Lowry, C.A., 2008. The hygiene hypothesis and psychiatric disorders. *Trends Immunol* 29, 150-158.
- Rosenkranz, M.A., 2007. Substance P at the nexus of mind and body in chronic inflammation and affective disorders. *Psychol Bull* 133, 1007-1037.
- Rubio, A., Ruemmele, F., 2009. Arthrites juvéniles : Arthrites et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. In: Prieur, A.M., Quartier, P., Glorion, C. (Eds.), *Les Maladies systémiques et articulaires de l'enfant*. Médecine-Sciences Flammarion 2ème édition, pp. 73-75.
- Ruda, M.A., 1982. Opiates and pain pathways: demonstration of enkephalin synapses on dorsal horn projection neurons. *Science* 215, 1523-1525.
- Ruscheweyh, R., Albers, C., Kreuzsch, A., Sommer, J., Marziniak, M., 2013. The effect of catastrophizing self-statements on pain perception and the nociceptive flexor reflex (Rill reflex). *Clin J Pain* 29, 725-732.
- Rutgeerts, P., Geboes, K., Vantrappen, G., Kerremans, R., Coenegrachts, J.L., Coremans, G., 1984. Natural history of recurrent Crohn's disease at the ileocolonic anastomosis after curative surgery. *Gut* 25, 665-672.
- Ryan, P., Bennett, M.W., Aarons, S., Lee, G., Collins, J.K., O'Sullivan, G.C., O'Connell, J., Shanahan, F., 2002. PCR detection of Mycobacterium paratuberculosis in Crohn's disease granulomas isolated by laser capture microdissection. *Gut* 51, 665-670.
- Saab, C.Y., 2012. Pain-related changes in the brain: diagnostic and therapeutic potentials. *Trends Neurosci* 35, 629-637.
- Sagaspe, P., Schwartz, S., Vuilleumier, P., 2011. Fear and stop: a role for the amygdala in motor inhibition by emotional signals. *Neuroimage* 55, 1825-1835.
- Saper, C.B., 2002. The central autonomic nervous system: conscious visceral perception and autonomic pattern generation. *Annu Rev Neurosci* 25, 433-469.

- Sarinopoulos, I., Grupe, D.W., Mackiewicz, K.L., Herrington, J.D., Lor, M., Steege, E.E., Nitschke, J.B., 2010. Uncertainty during anticipation modulates neural responses to aversion in human insula and amygdala. *Cereb Cortex* 20, 929-940.
- Sawamoto, N., Honda, M., Okada, T., Hanakawa, T., Kanda, M., Fukuyama, H., Konishi, J., Shibasaki, H., 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. *J Neurosci* 20, 7438-7445.
- Schirbel, A., Reichert, A., Roll, S., Baumgart, D.C., Buning, C., Wittig, B., Wiedenmann, B., Dignass, A., Sturm, A., 2010. Impact of pain on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 16, 3168-3177.
- Schmid, J., Langhorst, J., Gass, F., Theysohn, N., Benson, S., Engler, H., Gizewski, E.R., Forsting, M., Elsenbruch, S., 2014. Placebo analgesia in patients with functional and organic abdominal pain: a fMRI study in IBS, UC and healthy volunteers. *Gut*.
- Schmid, J., Theysohn, N., Gass, F., Benson, S., Gramsch, C., Forsting, M., Gizewski, E.R., Elsenbruch, S., 2013. Neural mechanisms mediating positive and negative treatment expectations in visceral pain: A functional magnetic resonance imaging study on placebo and nocebo effects in healthy volunteers. *Pain* 154, 2372-2380.
- Schmitterlöw, C.G., Hansson, E., Andersson, G., 1967. Distribution of nicotine in central nervous system. *Ann NY Acad Sci* 142.
- Schnitzler, F., Fidler, H., Ferrante, M., Noman, M., Arijs, I., Van Assche, G., Hoffman, I., Van Steen, K., Vermeire, S., Rutgeerts, P., 2009. Mucosal healing predicts long-term outcome of maintenance therapy with infliximab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 15, 1295-1301.
- Schoepfer, A.M., Trummel, M., Seeholzer, P., Seibold-Schmid, B., Seibold, F., 2008. Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis* 14, 32-39.
- Schwartz, J.B., Gibb, W.J., Tran, T., 1991. Aging effects on heart rate variation. *J Gerontol* 46, M99-106.
- Seifert, F., Schuberth, N., De Col, R., Peltz, E., Nickel, F.T., Maihofner, C., 2013. Brain activity during sympathetic response in anticipation and experience of pain. *Hum Brain Mapp* 34, 1768-1782.
- Selye, H., 1950. Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J* 1, 1383-1392.
- Seminowicz, D.A., Mikulis, D.J., Davis, K.D., 2004. Cognitive modulation of pain-related brain responses depends on behavioral strategy. *Pain* 112, 48-58.
- Sharma, P., Makharia, G.K., Ahuja, V., Dwivedi, S.N., Deepak, K.K., 2009. Autonomic dysfunctions in patients with inflammatory bowel disease in clinical remission. *Dig Dis Sci* 54, 853-861.
- Siemers, P.T., Dobbins, W.O., 3rd, 1974. The Meissner plexus in Crohn's disease of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 138, 39-42.
- Simpson, J.R., Jr., Drevets, W.C., Snyder, A.Z., Gusnard, D.A., Raichle, M.E., 2001. Emotion-induced changes in human medial prefrontal cortex: II. During anticipatory anxiety. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 688-693.
- Simren, M., Axelsson, J., Gillberg, R., Abrahamsson, H., Svedlund, J., Bjornsson, E.S., 2002. Quality of life in inflammatory bowel disease in remission: the impact of IBS-like symptoms and associated psychological factors. *Am J Gastroenterol* 97, 389-396.
- Sipponen, T., Karkkainen, P., Savilahti, E., Kolho, K.L., Nuutinen, H., Turunen, U., Farkkila, M., 2008. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther* 28, 1221-1229.
- Song, G.H., Venkatraman, V., Ho, K.Y., Chee, M.W., Yeoh, K.G., Wilder-Smith, C.H., 2006. Cortical effects of anticipation and endogenous modulation of visceral pain assessed by functional brain MRI in irritable bowel syndrome patients and healthy controls. *Pain* 126, 79-90.

- Spielberger, C.D., Gorsuch, R., Lushene, R., 1983. The State-Trait Personality Inventory (STAI, Form Y). Palo Alto, C., Consulting Psychologists Press
- Spielberger, C.D., Gorsuch, R., Lushene, R., 1983. The State-Trait Personality Inventory (STAI, Form Y). In: Palo Alto, C., Consulting Psychologists Press. (Ed.).
- Stasi, C., Orlandelli, E., 2008. Role of the brain-gut axis in the pathophysiology of Crohn's disease. *Dig Dis* 26, 156-166.
- Steinhoff, M.M., Kodner, I.J., DeSchryver-Kecsckemeti, K., 1988. Axonal degeneration/necrosis: a possible ultrastructural marker for Crohn's disease. *Mod Pathol* 1, 182-187.
- Sternbach, R.A., 1975. Psychophysiology of pain. *Int J Psychiatry Med* 6, 63-73.
- Straub, R.H., Grum, F., Strauch, U., Capellino, S., Bataille, F., Bleich, A., Falk, W., Scholmerich, J., Obermeier, F., 2008. Anti-inflammatory role of sympathetic nerves in chronic intestinal inflammation. *Gut* 57, 911-921.
- Straub, R.H., Herfarth, H., Falk, W., Andus, T., Scholmerich, J., 2002. Uncoupling of the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in inflammatory bowel disease? *J Neuroimmunol* 126, 116-125.
- Straube, T., Schmidt, S., Weiss, T., Mentzel, H.J., Miltner, W.H., 2009a. Dynamic activation of the anterior cingulate cortex during anticipatory anxiety. *Neuroimage* 44, 975-981.
- Straube, T., Schmidt, S., Weiss, T., Mentzel, H.J., Miltner, W.H., 2009b. Sex differences in brain activation to anticipated and experienced pain in the medial prefrontal cortex. *Hum Brain Mapp* 30, 689-698.
- Strigo, I.A., Duncan, G.H., Boivin, M., Bushnell, M.C., 2003. Differentiation of visceral and cutaneous pain in the human brain. *J Neurophysiol* 89, 3294-3303.
- Strigo, I.A., Simmons, A.N., Matthews, S.C., Craig, A.D., Paulus, M.P., 2008. Association of major depressive disorder with altered functional brain response during anticipation and processing of heat pain. *Arch Gen Psychiatry* 65, 1275-1284.
- Strobach, R.S., Ross, A.H., Markin, R.S., Zetterman, R.K., Linder, J., 1990. Neural patterns in inflammatory bowel disease: an immunohistochemical survey. *Mod Pathol* 3, 488-493.
- Sullivan, M.J., D'Eon, J.L., 1990. Relation between catastrophizing and depression in chronic pain patients. *J Abnorm Psychol* 99, 260-263.
- Sullivan, M.J., Thorn, B., Haythornthwaite, J.A., Keefe, F., Martin, M., Bradley, L.A., Lefebvre, J.C., 2001. Theoretical perspectives on the relation between catastrophizing and pain. *Clin J Pain* 17, 52-64.
- Sullivan, M.J.L., Bishop, S.R., Pivik, J., 1995. The Pain Catastrophizing Scale: Development and validation. *Psychological Assessment* 7, 524-532.
- Summerfield, C., Egner, T., Greene, M., Koechlin, E., Mangels, J., Hirsch, J., 2006. Predictive codes for forthcoming perception in the frontal cortex. *Science* 314, 1311-1314.
- Summerton, C.B., Longlands, M.G., Wiener, K., Shreeve, D.R., 2002. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 14, 841-845.
- Tache, Y., Bernstein, C.N., 2009. Evidence for the role of the brain-gut axis in inflammatory bowel disease: depression as cause and effect? *Gastroenterology* 136, 2058-2061.
- Tache, Y., Bonaz, B., 2007. Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *J Clin Invest* 117, 33-40.
- Tache, Y., Perdue, M.H., 2004. Role of peripheral CRF signalling pathways in stress-related alterations of gut motility and mucosal function. *Neurogastroenterol Motil* 16 Suppl 1, 137-142.
- Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996a. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 5, 1043-1065.
- Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, 1996b. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 5, 1043-1065.

- Tasker, R.R., 1982. Identification of pain processing systems by electrical stimulation of the brain. *Hum Neurobiol* 1, 261-272.
- Taylor, C.T., Keely, S.J., 2007. The autonomic nervous system and inflammatory bowel disease. *Auton Neurosci* 133, 104-114.
- Taylor, J.A., Carr, D.L., Myers, C.W., Eckberg, D.L., 1998. Mechanisms underlying very-low-frequency RR-interval oscillations in humans. *Circulation* 98, 547-555.
- Ter Minassian, A., Ricalens, E., Humbert, S., Duc, F., Aube, C., Beydon, L., 2012. Dissociating Anticipation from perception: Acute pain activates default mode network. *Hum Brain Mapp*.
- Thayer, J.F., Ahs, F., Fredrikson, M., Sollers, J.J., 3rd, Wager, T.D., 2012. A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 747-756.
- Thayer, J.F., Friedman, B.H., Borkovec, T.D., 1996. Autonomic characteristics of generalized anxiety disorder and worry. *Biol Psychiatry* 39, 255-266.
- Thayer, J.F., Lane, R.D., 2000. A model of neurovisceral integration in emotion regulation and dysregulation. *J Affect Disord* 61, 201-216.
- Thayer, J.F., Lane, R.D., 2009. Claude Bernard and the heart-brain connection: further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev* 33, 81-88.
- Thayer, J.F., Siegle, G.J., 2002. Neurovisceral integration in cardiac and emotional regulation. *IEEE Eng Med Biol Mag* 21, 24-29.
- Thayer, J.F., Sternberg, E., 2006. Beyond heart rate variability: vagal regulation of allostatic systems. *Ann N Y Acad Sci* 1088, 361-372.
- Tibble, J., Teahon, K., Thjodleifsson, B., Roseth, A., Sigthorsson, G., Bridger, S., Foster, R., Sherwood, R., Fagerhol, M., Bjarnason, I., 2000a. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 47, 506-513.
- Tibble, J.A., Sigthorsson, G., Bridger, S., Fagerhol, M.K., Bjarnason, I., 2000b. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 119, 15-22.
- Tillisch, K., Mayer, E.A., Labus, J.S., Stains, J., Chang, L., Naliboff, B.D., 2005. Sex specific alterations in autonomic function among patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 54, 1396-1401.
- Tracey, I., Mantyh, P.W., 2007. The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron* 55, 377-391.
- Tracey, K.J., 2002. The inflammatory reflex. *Nature* 420, 853-859.
- Tracey, K.J., 2009. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol* 9, 418-428.
- Trousselard, M., Steiler, D., Raphel, C., Cian, C., Duymedjian, R., Claverie, D., Canini, F., 2010. Validation of a French version of the Freiburg Mindfulness Inventory - short version: relationships between mindfulness and stress in an adult population. *Biopsychosoc Med* 4, 8.
- Urry, H.L., van Reekum, C.M., Johnstone, T., Davidson, R.J., 2009. Individual differences in some (but not all) medial prefrontal regions reflect cognitive demand while regulating unpleasant emotion. *Neuroimage* 47, 852-863.
- Van Der Zanden, E.P., Boeckxstaens, G.E., de Jonge, W.J., 2009. The vagus nerve as a modulator of intestinal inflammation. *Neurogastroenterol Motil* 21, 6-17.
- Van Limbergen, J., Wilson, D.C., Satsangi, J., 2009. The genetics of Crohn's disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 10, 89-116.
- Van Oudenhove, L., Vandenberghe, J., Dupont, P., Geeraerts, B., Vos, R., Dirix, S., Bormans, G., Vanderghinste, D., Van Laere, K., Demyttenaere, K., Fischler, B., Tack, J., 2010. Abnormal regional brain activity during rest and (anticipated) gastric distension in functional dyspepsia and the role of anxiety: a H(2)(15)O-PET study. *Am J Gastroenterol* 105, 913-924.
- van Westerloo, D.J., Giebelen, I.A., Florquin, S., Bruno, M.J., Larosa, G.J., Ulloa, L., Tracey, K.J., van der Poll, T., 2006. The vagus nerve and nicotinic receptors modulate experimental pancreatitis severity in mice. *Gastroenterology* 130, 1822-1830.

- van Westerloo, D.J., Giebelen, I.A., Florquin, S., Daalhuisen, J., Bruno, M.J., de Vos, A.F., Tracey, K.J., van der Poll, T., 2005. The cholinergic anti-inflammatory pathway regulates the host response during septic peritonitis. *J Infect Dis* 191, 2138-2148.
- Vanuysel, T., van Wanrooy, S., Vanheel, H., Vanormelingen, C., Verschueren, S., Houben, E., Salim Rasoel, S., Toth, J., Holvoet, L., Farre, R., Van Oudenhove, L., Boeckxstaens, G., Verbeke, K., Tack, J., 2013. Psychological stress and corticotropin-releasing hormone increase intestinal permeability in humans by a mast cell-dependent mechanism. *Gut*.
- Vogelaar, L., Van't Spijker, A., Vogelaar, T., van Busschbach, J.J., Visser, M.S., Kuipers, E.J., van der Woude, C.J., 2011. Solution focused therapy: a promising new tool in the management of fatigue in Crohn's disease patients psychological interventions for the management of fatigue in Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 5, 585-591.
- Vogt, B.A., 2013. Inflammatory bowel disease: perspectives from cingulate cortex in the first brain. *Neurogastroenterol Motil* 25, 93-98.
- Wager, T.D., Atlas, L.Y., Lindquist, M.A., Roy, M., Woo, C.W., Kross, E., 2013. An fMRI-based neurologic signature of physical pain. *N Engl J Med* 368, 1388-1397.
- Wager, T.D., Davidson, M.L., Hughes, B.L., Lindquist, M.A., Ochsner, K.N., 2008. Prefrontal-subcortical pathways mediating successful emotion regulation. *Neuron* 59, 1037-1050.
- Wager, T.D., Phan, K.L., Liberzon, I., Taylor, S.F., 2003. Valence, gender, and lateralization of functional brain anatomy in emotion: a meta-analysis of findings from neuroimaging. *Neuroimage* 19, 513-531.
- Wager, T.D., Rilling, J.K., Smith, E.E., Sokolik, A., Casey, K.L., Davidson, R.J., Kosslyn, S.M., Rose, R.M., Cohen, J.D., 2004. Placebo-induced changes in FMRI in the anticipation and experience of pain. *Science* 303, 1162-1167.
- Wahed, M., Corser, M., Goodhand, J.R., Rampton, D.S., 2010. Does psychological counseling alter the natural history of inflammatory bowel disease? *Inflamm Bowel Dis* 16, 664-669.
- Walker, J.R., Ediger, J.P., Graff, L.A., Greenfeld, J.M., Clara, I., Lix, L., Rawsthorne, P., Miller, N., Rogala, L., McPhail, C.M., Bernstein, C.N., 2008. The Manitoba IBD cohort study: a population-based study of the prevalence of lifetime and 12-month anxiety and mood disorders. *Am J Gastroenterol* 103, 1989-1997.
- Weisenberg, M., Schwarzwald, J., Tepper, I., 1996. The influence of warning signal timing and cognitive preparation on the aversiveness of cold-pressor pain. *Pain* 64, 379-385.
- Weissman, M.M., Sholomskas, D., Pottenger, M., Prusoff, B.A., Locke, B.Z., 1977. Assessing depressive symptoms in five psychiatric populations: a validation study. *Am J Epidemiol* 106, 203-214.
- Wilder-Smith, C.H., Schindler, D., Lovblad, K., Redmond, S.M., Nirkko, A., 2004. Brain functional magnetic resonance imaging of rectal pain and activation of endogenous inhibitory mechanisms in irritable bowel syndrome patient subgroups and healthy controls. *Gut* 53, 1595-1601.
- Williams, L.M., Phillips, M.L., Brammer, M.J., Skerrett, D., Lagopoulos, J., Rennie, C., Bahramali, H., Olivieri, G., David, A.S., Peduto, A., Gordon, E., 2001. Arousal dissociates amygdala and hippocampal fear responses: evidence from simultaneous fMRI and skin conductance recording. *Neuroimage* 14, 1070-1079.
- Willis, W.D., Al-Chaer, E.D., Quast, M.J., Westlund, K.N., 1999. A visceral pain pathway in the dorsal column of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 7675-7679.
- Wong, S.W., Masse, N., Kimmerly, D.S., Menon, R.S., Shoemaker, J.K., 2007. Ventral medial prefrontal cortex and cardiovagal control in conscious humans. *Neuroimage* 35, 698-708.
- Xavier, R.J., Podolsky, D.K., 2007. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 448, 427-434.
- Yamamoto, Y., Hughson, R.L., Peterson, J.C., 1991. Autonomic control of heart rate during exercise studied by heart rate variability spectral analysis. *J Appl Physiol* (1985) 71, 1136-1142.

- Yoshida, W., Seymour, B., Koltzenburg, M., Dolan, R.J., 2013. Uncertainty increases pain: evidence for a novel mechanism of pain modulation involving the periaqueductal gray. *J Neurosci* 33, 5638-5646.
- Yuan, P.Q., Wu, S.V., Elliott, J., Anton, P.A., Chatzaki, E., Million, M., Tache, Y., 2012. Expression of corticotropin releasing factor receptor type 1 (CRF1) in the human gastrointestinal tract and upregulation in the colonic mucosa in patients with ulcerative colitis. *Peptides* 38, 62-69.
- Zhuo, M., 2008. Cortical excitation and chronic pain. *Trends Neurosci* 31, 199-207.
- Zlotogora, J., Zimmerman, J., Rachmilewitz, D., 1990. Crohn's disease in Ashkenazi Jews. *Gastroenterology* 99, 286-287.