



Neurotransmission sérotoninergique 5-HT1A : approche méthodologique de la mesure in vivo par le [18F]MPPF en tomographie par émission de positons

Nicolas Costes

► To cite this version:

Nicolas Costes. Neurotransmission sérotoninergique 5-HT1A : approche méthodologique de la mesure in vivo par le [18F]MPPF en tomographie par émission de positons. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2007. Français. NNT: . tel-00180894

HAL Id: tel-00180894

<https://theses.hal.science/tel-00180894>

Submitted on 22 Oct 2007

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.

THESE

Présentée

devant l'Université Claude Bernard - Lyon 1

Pour l'obtention du

DIPLÔME de DOCTORAT

arrêté du 7 août 2006

présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 2007

par

Nicolas COSTES

Neurotransmission sérotoninergique 5-HT_{1A} :
approche méthodologique de la mesure *in vivo* par le
[¹⁸F]MPPF en tomographie par émission de positons

Jury

Pr Luc ZIMMER
Pr Philippe RYVLIN
Pr Gérard GIMENEZ
Dr Anne BOL
Dr Jacques DELFORGE
Dr Didier LE BARS

Président
Directeur de thèse
Co-directeur de thèse
Rapporteur
Rapporteur
Examineur

Remerciements

Je remercie sincèrement Philippe Rylvlin et Gérard Gimenez, qui suivent depuis plusieurs années les travaux de cette thèse et ont accepté d'en assurer l'encadrement. Leur soutien est chaleureux et témoin d'une grande confiance.

Je remercie Jacques Delforge et Anne Bol pour avoir eu le courage et la sympathie de lire et juger ce travail.

Merci à Luc Zimmer et Didier Le Bars parce qu'ils sont partie prenante de ce travail et parce que nous avons vécu ensemble *les aventures du MPPF*.

Merci à Isabelle Merlet pour le travail précieux et avisé de relecture qu'elle a bien voulu faire à distance. L'occasion de revivre une collaboration riche et amicale qui doit lui rappeler, comme à moi, ses années cer MEP.

Merci à Olivier Bertrand et son équipe de l'unité 280, aujourd'hui 821, pour leur accueil, ancien et nouveau.

Je remercie l'équipe du CERMEP pour le travail collectif qui se réalise dans le centre. Je pense particulièrement à l'équipe de radiochimie, Marion Alvarez, Frédéric Bonnefoi, Stéphane Guillouet et Christian Tourvielle, l'équipe médicale, Christine Vighi, Fabienne Poncet, Véronique Berthier et Claire Billotey.

Un grand grand merci à l'équipe avec laquelle je partage bien plus que le simple quotidien, Franck Lavenne, Christian Pierre et Alejandro Mazzadi ce grand frère argentin qui a rejoint sa terre natale. Merci à Anthonin Reilhac, presque un alter ego. On ne sait jamais qui mène l'autre mais ce qui est sûr c'est qu'on va dans la même direction.

Un grand encouragement à celles et ceux qui démarrent poursuivent ou ont trouvé le Sacré Graal de la thèse, Amélie, Lydie, Servane, Maïté, Louise, Geneviève, Adrien et bien d'autres encore : ils trouvent comme moi dans leurs images autant de réponses que de nouvelles questions.

À Coline dont la subtilité de la vision critique, constructive
et adonaissante ne cesse de me convaincre sur sa vocation de
psychologue cognitiviste

À Azélia, qui a assuré un coaching soutenu à l'image de son
empathie innée, en demandant naïvement mais sincèrement
durant toute la rédaction de cette thèse quel était mon
nombre de pages écrites dans la journée

À Marin dont le sourire, la bonne humeur, les airs de guitare
et l'énergie débordante viennent égayer le quotidien et me
renvoient une image de l'enfant qui continue d'exister en moi
aujourd'hui

À François et à Marie-Thérèse

À Irène

En peinture, on a parfois besoin de modèles pour créer des images issues du cerveau de l'Homme. En neurosciences, c'est l'inverse.

Table des matières

Remerciements	3
Introduction.....	11
Chapitre I Mesures <i>in vivo</i> des échanges ligand-récepteurs par TEP.....	15
I.1 Les échanges ligand-récepteurs	15
I.1.1 Cadre général de la neurotransmission	15
I.1.2 La neurotransmission sérotoninergique	19
I.1.3 Observation <i>in vitro</i> de la transmission synaptique.....	23
I.2 La mesure physique TEP.....	27
I.2.1 Bases physiques	28
I.2.2 Correction des sinogrammes.....	39
I.2.3 Reconstruction.....	44
I.2.4 Correction des images	49
I.3 Traceurs TEP et fonctions	55
I.3.1 Notion de traceurs	55
I.3.2 Production radiochimique et radiopharmaceutique.....	59
I.3.3 Fonctions et traceurs	60
I.4 La modélisation des échanges ligand-récepteurs en TEP.....	66
I.4.1 Cadre général expérimental : le modèle compartimental.....	66
I.4.2 Solution numérique pour la résolution du modèle.....	72
I.4.3 Principe de modélisation simplifiée	78
I.4.4 Identification des index simplifiés avec région de référence ..	81
I.4.4 Imagerie paramétrique	86
I.4.5 Analyse statistique paramétrique	89
I.5 Application aux traceurs du 5HT _{1A}	96
I.5.1 Les traceurs du 5-HT _{1A}	96
I.5.2 Le [¹⁸ F]MPPF	97
I.5.3 Démarche méthodologique pour la validation d'un nouveau traceur : le [¹⁸ F]MPPF	97
Chapitre II Conditions méthodologiques pour la réalisation d'une mesure des échanges ligand-récepteurs par TEP au [¹⁸F]MPPF: modélisation compartimentale.....	101
Contexte.....	101
Méthodes	101
Résultats.....	116
Conclusion	116
Chapitre III Conditions méthodologiques pour l'utilisation clinique de l'examen TEP au [¹⁸F]MPPF : base de données réelles normative et reproductibilité	117
III.1 Base de données témoin	117
Contexte.....	117
Méthodes	117
Résultats.....	128
Conclusion	128
III.2 Reproductibilité, variabilité et robustesse.....	129
Contexte.....	129
Méthodes	130
Résultats.....	141
Conclusions.....	141

Chapitre IV Conditions méthodologiques pour le développement et la validation d'outils de mesures quantitatives TEP au [¹⁸F]MPPF : base de données simulées	143
IV.1 Base de données simulées.....	143
Contexte	143
Méthode	144
Résultats	156
Conclusion	156
IV.2 Exploitation pour la détection de variation de fixation : variation de fixation, influence du ligand endogène	157
Contexte	157
Méthode	157
Résultats	160
Conclusion	160
IV.3 Exploitation pour la validation d'outils de correction : correction de l'effet de volume partiel.....	161
Contexte	161
Méthode	161
Résultats	Erreur ! Signet non défini.
Conclusion	172
IV.4 Discussion et prospective d'exploitation.....	173
Chapitre V Applications et perspectives d'utilisation du [¹⁸F]MPPF	177
V.1 Application cliniques.....	177
V.1.1 Utilisation d'une base de données normatives	177
V.1.2 Utilisation de la base de données test-retest.....	180
V.1.3 Utilisation de la correction de l'EVP.....	183
V.1.4 Etude de l'influence de la sérotonine endogène	184
V.2 Perspectives méthodologiques	185
V.2.1 Exploitation pour la mesure de la concentration de 5-HT endogène.....	185
V.2.2 Perspectives.....	188
Conclusions.....	191
Bibliographie.....	193
Annexe.....	213
Liste de publications	213

Introduction

L'imagerie cérébrale *in vivo* révolutionne depuis plus de vingt ans l'exploration des fonctions du système nerveux central (SNC). Grâce à cette capacité nouvelle à voir le cerveau en fonctionnement, de nombreuses thèses, élaborées préalablement grâce à l'observation comportementale, à la psychophysique et à la neuropsychologie clinique, ont pu ainsi être confirmées. Si les approches électrophysiologique et magnétoencéphalographique permettent cette exploration à un niveau de résolution temporelle bien inférieure à la seconde (quelques millisecondes), elles n'offrent qu'une grossière localisation des zones cérébrales impliquées dans l'activité électrique neuronale. Parallèlement, la tomographie par émission de positons (TEP), par le biais d'un marqueur simple du débit sanguin cérébral, a permis d'accéder, avec une bonne résolution spatiale, à la localisation des réseaux neuronaux mis en jeu lors de la perception, la cognition ou de l'action. Cette exploration a cependant été supplantée par l'imagerie par résonance magnétique nucléaire qui permet une mesure de la dynamique de l'oxygénation sanguine avec un meilleur compromis entre résolution spatiale et temporelle. En revenant à la méthodologie fondamentale du marquage radioactif moléculaire, la TEP a néanmoins trouvé un développement nouveau en exploitant sa capacité à visualiser l'activité moléculaire du cerveau. Dépasant le cadre de l'observation de la conduction électrique et du métabolisme oxydatif générés par l'activité neuronale, la voie d'exploration de l'activité chimique s'est trouvée ouverte par l'introduction des traceurs de la transmission synaptique. Dès lors, les systèmes se complétaient et permettaient d'envisager l'étude approfondie *in vivo* des mécanismes physiologiques, physiopathologiques et dégénératifs du SNC.

En outre, l'introduction de l'imagerie par émission de positons dans le cadre de la médecine nucléaire hospitalière permet d'envisager l'utilisation de cette technique d'exploration *in vivo* sur un large spectre diagnostique s'étendant bien au-delà de l'application courante de la mesure de métabolisme du glucose au [^{18}F]FDG en oncologie.

La TEP mesure la distribution volumique et temporelle d'un traceur injecté par voie intraveineuse dans le corps sur une échelle de quelques secondes pour des volumes élémentaires de quelques millimètres cubes. Les cinétiques de fixation de ce traceur qui reflètent l'évolution de la concentration sont fonctions de l'utilisation locale de la molécule. La sensibilité de détection des modifications de concentration de traceur est de l'ordre du pmol/ml. Ainsi, dans le cadre des molécules marquées possédant une configuration chimique analogue à un ligand endogène, il est possible de réaliser l'imagerie *in vivo* d'un récepteur. Comme, dans ce contexte, l'environnement biochimique de la molécule est respecté, on peut envisager d'étudier, par exemple, les interactions pharmacologiques d'un récepteur avec un médicament, dans des conditions de

fonctionnement normales ou pathologiques. Cette technique peut être également utilisée dans un contexte de suivi thérapeutique et de diagnostic.

La modélisation compartimentale permet d'expliquer la cinétique de fixation du radioligand par l'identification de paramètres de transport et d'utilisation locale du traceur. Ces paramètres peuvent être reliés à des indices physiologiques reflétant la fonction étudiée, permettant ainsi l'interprétation clinique. Les modèles compartimentaux utilisés sont dérivés de la biophysique classique, et adaptés aux contraintes liées à la mesure par TEP.

Finalement, la modélisation des cinétiques TEP mène à la définition d'un protocole d'acquisition simple, non invasif, permettant d'identifier avec une faible marge d'erreur les paramètres les plus pertinents du modèle compartimental tels que l'affinité du traceur pour son récepteur, la concentration locale de récepteur, ou une composition de ces paramètres, comme le potentiel de liaison. Comme la définition et la validation d'un tel examen simplifié reposent sur une série d'hypothèses simplificatrices, il est nécessaire d'effectuer des expériences de mise au point au cours desquelles tous les paramètres régissant le modèle compartimental sont identifiés. À partir de cette étape, on peut ensuite mener des études de simulations afin de définir des conditions de dose, de radioactivité spécifique et l'échantillonnage temporel d'examen à respecter pour une exploitation clinique du traceur.

Une fois que les caractéristiques physico-chimiques, la toxicité et la spécificité d'un traceur ont été démontrées chez l'animal, son utilisation en clinique peut s'articuler autour des travaux expérimentaux suivants :

1. Étude de la biodistribution corps entier du traceur et de son élimination.
2. Étude des cinétiques cérébrales locales au cours d'un protocole expérimental permettant de pratiquer une modélisation complète des paramètres de transport et d'échanges ligand-récepteurs.
3. Étude de la faisabilité et de la validation d'une modélisation simplifiée permettant l'identification de paramètres d'intérêt du modèle compartimental.
4. Constitution d'une base de données normative chez des sujets sains représentatifs de la population générale
5. Étude de la reproductibilité de la mesure et quantification de la variabilité.
6. Simulation pour l'optimisation de paramètre d'acquisition, de correction de signal, de reconstruction et de traitement de l'image pour une amélioration de la justesse de la quantification et la réduction du bruit.

7. Étude des performances de performance de sensibilité et de spécificité de la détection à partir d'un examen.

8. Applications et utilisations cliniques.

Les travaux présentés dans cette thèse reprennent ces étapes fondamentales préalables à l'utilisation clinique d'un traceur.

Dans le premier chapitre, l'introduction bibliographique permet d'introduire les bases neurophysiologiques de la neurotransmission, les conditions de mesures instrumentales et expérimentales pour son observation par la TEP, le cas précis de la neurotransmission sérotoninergique et du [^{18}F]MPPF, traceur spécifique du sous-récepteur 5HT_{1A}.

Les quatre chapitres suivants décrivent les travaux expérimentaux réalisés pour répondre aux questions soulevées dans cette introduction, comblant l'intervalle méthodologique à couvrir pour faire passer d'une mesure biophysique de radioactivité cérébrale à l'utilisation clinique d'un examen avec un traceur récemment développé de la neurotransmission sérotoninergique, le [^{18}F]MPPF. Dans le deuxième chapitre, les conditions de réalisation d'une mesure quantitative de la fixation du [^{18}F]MPPF sont présentées par l'exposé des résultats d'une expérience de multiinjection puis d'une validation d'un modèle simplifié. Dans le chapitre III, les conditions d'évaluation de la fixation normale du [^{18}F]MPPF sont décrites, à travers la constitution d'une base de données normative réalisée chez des hommes et femmes de 20 à 75 ans, puis dans des conditions de test-retest où la reproductibilité de la mesure est évaluée. Dans le Chapitre IV, nous exposerons les conditions méthodologiques pour le développement et la validation d'outils de traitement et d'amélioration de la mesure quantitative, grâce à la création d'une base de données simulée servant de jeu de données de référence. Des exemples immédiats d'application seront également donnés : pour l'évaluation de la détectabilité de modification de la fixation par le ligand endogène, pour l'évaluation d'une méthode de correction de l'effet de volume partiel, et pour des études complémentaires en cours de développement.

Enfin dans le Chapitre V, nous décrivons les applications cliniques actuelles de ces développements et aborderons les perspectives de développements méthodologiques.

Chapitre I

Mesures *in vivo* des échanges ligand-récepteurs par TEP

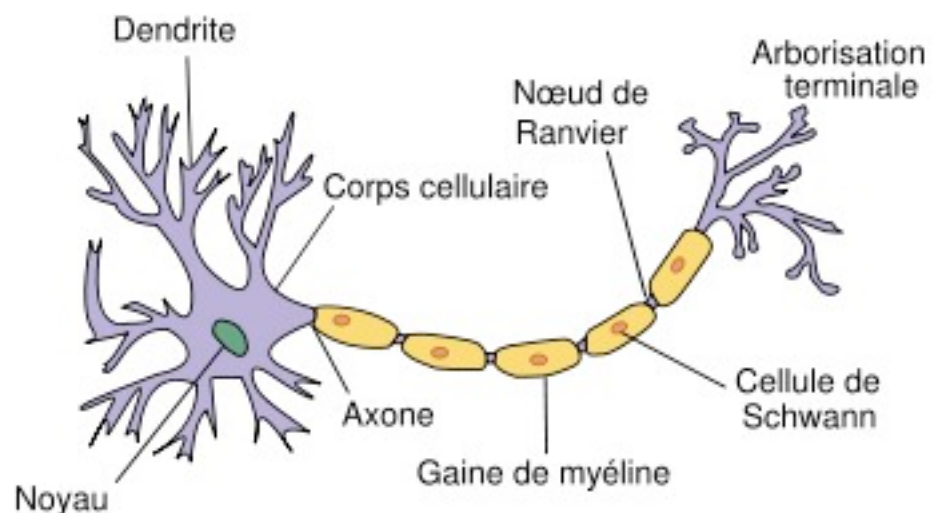
I.1 Les échanges ligand-récepteurs

I.1.1 Cadre général de la neurotransmission

LE NEURONE

Le système nerveux est une unité fonctionnelle du vivant chargée de la communication des messages entre les organes. Au niveau central, c'est aussi un lieu de traitement de l'information. Ce système éminemment complexe est principalement constitué de neurones (Figure 1) et de cellules gliales. Les neurones sont des cellules différenciées qui portent l'information par un procédé mixte composé d'une activité électrique (l'influx nerveux), et une activité chimique (la neurotransmission). Les cellules gliales assurent le soutien et la nutrition des neurones. Il a été mis en évidence récemment qu'elle facilitent également l'établissement de nouvelles connexions entre neurones.

Figure 1
Schéma d'un
neurone



Les neurones sont composés d'un corps cellulaire divisé d'une part par des prolongements courts et très ramifiés que sont les dendrites et d'autre part par une fibre nerveuse appelée axone qui se termine par une arborisation composée de boutons synaptiques. Le rôle fonctionnel du neurone est de conduire l'information par le biais de l'influx nerveux qui est un potentiel d'action électrique partant du corps cellulaire et se propageant de proche

en proche le long de l'axone jusqu'aux boutons synaptiques. L'influx nerveux se caractérise par une modification instantanée et localisée de la perméabilité de la membrane du neurone : des ions sodium (Na^+) pénètrent dans la cellule en passant au travers de canaux ioniques sélectivement perméables au sodium.

LA SYNAPSE

La transmission de l'influx nerveux est donc une combinaison d'une activité électrique, le potentiel d'action (PA) porté le long des axones des cellules nerveuses, et d'une activité chimique agissant comme relais entre différentes cellules nerveuses. Ce relais chimique entre neurones, ou neurone et cellule somatique, se situe au sein de la synapse. Les éléments chimiques porteurs de d'information s'appellent les neurotransmetteurs, ou neuromédiateurs. La synapse (Figure 2) est composée de trois parties.

L'élément présynaptique,

Présent soit sur les terminaisons de l'axone soit sur la membrane dendritique, il se caractérise par la présence de vésicules synaptiques, organites de stockage du neurotransmetteur, et de nombreuses mitochondries. C'est le lieu de synthèse et souvent d'accumulation du neuromédiateur. Il assure la libération du neuromédiateur sous l'influence d'un potentiel d'action.

L'élément postsynaptique

Il peut être la membrane d'un axone, du corps cellulaire, d'une dendrite, d'une cellule somatique (exemple : cellule musculaire). La membrane postsynaptique porte principalement les récepteurs nécessaires à la neurotransmission chimique.

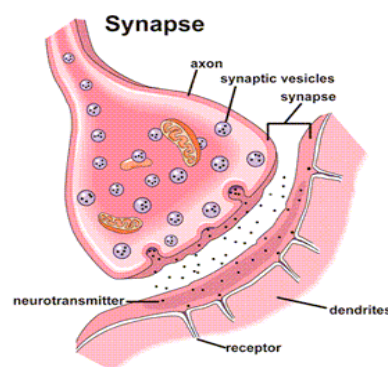


Figure 2
Figure virtuelle et
schéma d'une
synapse

La fente synaptique

Elle mesure environ 20 nm de large. Elle est remplie de matériel dense parallèle aux membranes.

Événements présynaptiques : la libération des neurotransmetteurs

Les vésicules synaptiques sont en permanence chargées de neurotransmetteurs. Ceux-ci sont produits par le neurone à partir de précurseurs présents dans le sang (en général des acides aminés). Une grande partie de leur synthèse a lieu dans le corps cellulaire, ce qui nécessite un transport antérograde rapide le long du cytosquelette de l'axone dans des vésicules provenant du bourgeonnement de l'appareil de Golgi.

Le changement de polarité de membrane provoqué par l'arrivée d'un potentiel d'action (PA) au niveau d'une synapse déclenche l'ouverture de canaux calcium membranaires dépendants du voltage. L'augmentation de la concentration en calcium intracellulaire qui en résulte provoque la fusion de la membrane vésiculaire avec la membrane plasmique et la libération des neuromédiateurs. Ce phénomène s'appelle l'exocytose.

Trois mécanismes peuvent arrêter l'exocytose et donc faire cesser la libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique :

- L'ouverture de canaux potassium, qui ramènent le potentiel de membrane à sa valeur d'origine et inhibent ainsi les canaux dépendants du voltage,
- L'activation des pompes calciques, situées sur le réticulum et la mitochondrie, qui captent les ions calcium entrés dans la cellule, ce qui fait cesser le signal calcique,
- La disparition des vésicules synaptiques chargées en neurotransmetteur capable de fusionner avec la membrane (épuisement).

Ces trois mécanismes expliquent l'existence de plasticités synaptiques à plus ou moins long terme.

La diffusion des neurotransmetteurs dans la fente synaptique

Les neurotransmetteurs libérés dans la fente synaptique atteignent la membrane postsynaptique par simple diffusion. Avec le délai nécessaire pour provoquer l'exocytose, c'est l'étape qui nécessite le plus de temps dans la transmission synaptique. Dans le cas de la plaque motrice, la concentration en acétylcholine dans la fente atteint une concentration de 100 mmol/l 10 μ s après sa libération. Elle mettra environ 100 μ s pour revenir à une concentration proche de zéro. Cette disparition du neurotransmetteur de la fente synaptique peut impliquer une recapture ou une hydrolyse par une enzyme spécialisée. Le codage de l'information étant fréquentiel, il est important de faire cesser l'excitation le plus vite possible.

Les événements postsynaptiques : l'activation des récepteurs membranaires

Les neurotransmetteurs se fixent sur des récepteurs de la membrane postsynaptique. Les récepteurs sont des structures (en général des protéines) des membranes cellulaires qui, par interaction avec un ligand spécifique (neurotransmetteurs du premier message), déclenchent un signal qui provoque une réponse par l'intermédiaire d'un second messager (Protéine-G couplée au récepteur), ou un d'un canal ionique. Les récepteurs peuvent être caractérisés par leur affinité et leur densité. En tant que protéine, ils sont dégradés après leur période fonctionnelle par des enzymes spécifiques (protéases).

Il en existe deux sortes :

- Les récepteurs ionotropes qui sont des protéines-canal s'ouvrant pour générer un courant ionique,
- Les récepteurs métabotropes qui sont des transducteurs de signal produisant des seconds messagers dans le cytoplasme. Les seconds messagers peuvent s'associer à une protéine-canal ou bien provoquer une cascade de réactions. Parmi les voies métaboliques activées par ces seconds messagers, des facteurs de traduction de l'ADN sont impliqués, ce qui influence le groupe de gènes exprimé par la cellule, et donc pourrait être impliqué dans le phénomène de mémorisation. Cette voie est beaucoup plus lente que la première.

On assiste alors à une réponse physiologique locale appelée potentiel générateur, potentiel gradué (PG) ou Potentiel postsynaptique. On caractérise deux types de potentiel postsynaptique :

- Le Potentiel Postsynaptique Excitateur (ou PPSE) diminue la différence de potentiel entre les deux côtés de la membrane plasmique. Autrement dit le PPSE dépolarise localement la membrane ;
- Le Potentiel Postsynaptique Inhibiteur (ou PPSI) augmente la différence de potentiel. Elle hyperpolarise la membrane.

Si la membrane dépasse le seuil critique de dépolarisation, un potentiel d'action est initié. Les PPSI empêchent le déclenchement d'un potentiel d'action alors que les PPSE le favorisent.

En général, un neurone est couvert de synapses excitatrices et de synapses inhibitrices. Il se produit alors une sommation à la fois temporelle et spatiale des entrées synaptiques pour "décider" du déclenchement ou non d'un potentiel d'action. En fait les dendrites ont peu de canaux sodiques dépendants du voltage, responsables du déclenchement du potentiel d'action. Il est donc rare qu'un potentiel d'action y soit déclenché. Les potentiels postsynaptiques se propagent le long des dendrites jusqu'au corps cellulaire. À la jonction du corps cellulaire et de l'axone se trouve une région particulièrement riche en canaux sodiques dépendants du

voltage, il s'agit du cône d'initiation. C'est au niveau du cône d'initiation que sont générés le plus souvent les potentiels d'actions qui se propageront ensuite le long de l'axone vers d'autres synapses.

Les récepteurs peuvent également se trouver sur la membrane présynaptique dans leur rôle de rétrocontrôle négatif ou pour la recapture du neurotransmetteur, ou encore sur les corps cellulaires.

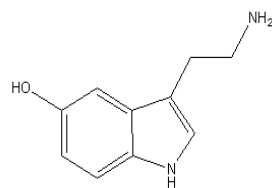
Une description complète des connaissances relatives au système nerveux peut être trouvée dans (Purves and Williams 2001).

1.1.2 La neurotransmission sérotoninergique

LA SEROTONINE

La sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT) est un neurotransmetteur ou encore un messenger chimique qui permet d'assurer la transmission de l'influx nerveux entre les neurones. La 5-HT fait partie de la classe des indolamines (structure chimique Figure 3). Elle est retrouvée aussi bien au niveau périphérique que central où elle représente environ 2% de la 5-HT corporelle (Cooper, *et al.* 1991). La sérotonine cérébrale est synthétisée *in situ* car elle ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique (BHE). La biosynthèse de la 5-HT s'effectue par des enzymes à partir d'un acide aminé précurseur, le L-tryptophane, présent dans l'alimentation et véhiculé par le sang vers le système nerveux central (SNC). Entrée dans le neurone, le L-tryptophane est transformé en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par la tryptophane hydroxylase (TH). Cette réaction d'hydroxylase est l'étape limitante de la synthèse de la 5-HT. Le 5-HTP est ensuite décarboxylé par une enzyme pour donner la 5-HT sous sa forme finale. La sérotonine ainsi synthétisée est stockée dans les vésicules synaptiques jusqu'à sa libération.

Figure 3
Formule
topologique de la
sérotonine



La libération de la sérotonine fait intervenir deux modes physiologiques : l'un calcium-dépendant (exocytose) voir (Sharp, *et al.* 1990), l'autre calcium indépendant (Rudnick and Wall 1992). Le premier entraîne une libération quantique de 5-HT, le second mobilise le transporteur selon un mode inverse, du milieu intracellulaire au milieu extracellulaire. La quantité disponible de 5-HT extracellulaire est modulée par deux phénomènes :

- Soit par recapture à travers un transporteur membranaire sélectif, capable de recapter 80% de la 5-HT libérée. La dégradation intraneuronale peut être réalisée par la monoamine oxydase intramitochondriale, principalement de forme B chez le rat.

-
- Soit par métabolisation par voie enzymatique en 5-HIAA, éliminée par voie rénale.

Les techniques d'histochimie de fluorescence et d'immunohistochimie ont permis de mettre en évidence la localisation des voies sérotoninergiques (Dahlstroem and Fuxe 1964) et de leurs projections (Steinbusch 1981). Les neurones sérotoninergiques sont concentrés autour de la ligne du pont, dans le tronc cérébral correspondant aux noyaux du raphé (B1 à B9) (Dahlstroem and Fuxe 1964; Descarries, *et al.* 1982). Les groupes de cellules du raphé le plus caudal (B1-6) projettent majoritairement dans la moelle épinière par voies descendantes, tandis que le raphé dorsal (B7) et médian (B8) projettent dans les structures limbiques comme l'hippocampe et la cortex par voies ascendantes.

La sérotonine régule un large spectre de fonctions et de comportements humains chez l'adulte (Leonard 1994). Elle est en effet l'un des principaux neurotransmetteurs impliqués dans des effets physiologiques aussi diversifiés que la régulation des états de veille/sommeil, le comportement alimentaire (Leibowitz 1990), le comportement sexuel (Meston and Gorzalka 1992), la régulation de l'activité nerveuse sympathique et parasympathique des vaisseaux du cœur (Vanhoutte 1987). Par ailleurs, elle contribue au développement du cerveau (Gaspar, *et al.* 2003; Lauder and Krebs 1978).

Des dysfonctionnements du système sérotoninergique sont impliqués dans de nombreux troubles comme l'anxiété (Gross, *et al.* 2002), la maladie d'Alzheimer (Buhot, *et al.* 2000), la dépression (Fava 2003; Lanfumey and Hamon 2004), la schizophrénie (Iqbal and van Praag 1995), l'autisme infantile et l'épilepsie (Chugani 2004).

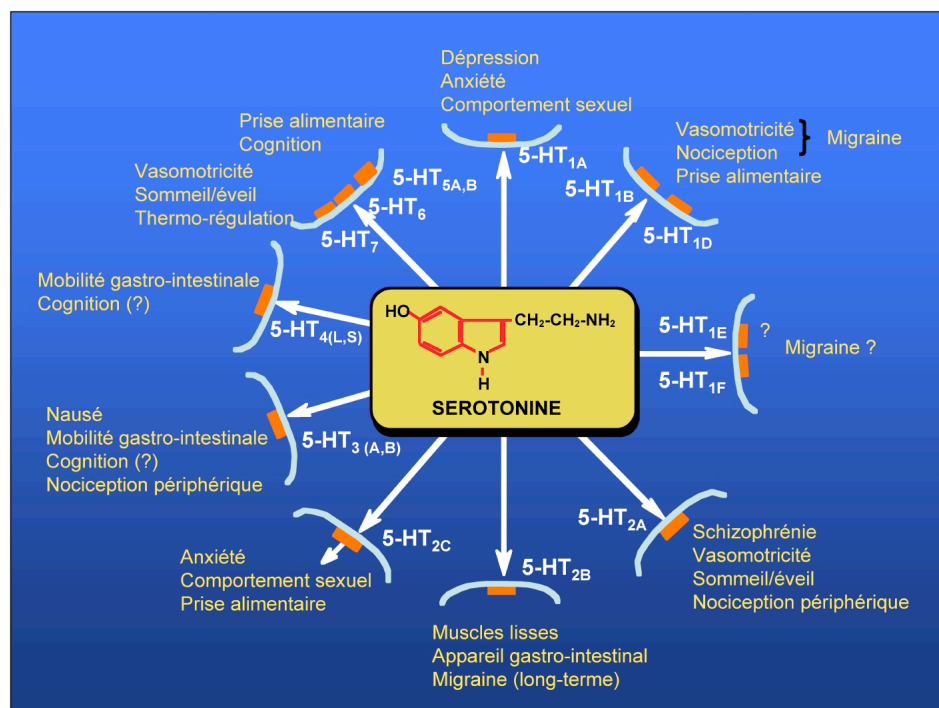
LE RECEPTEUR 5HT_{1A}

La sérotonine est associée à différents sous-types de récepteurs (à ce jour, dix-sept sont identifiés) et intervient dans de nombreux processus physiologiques. Une revue des sous-types et fonctions des récepteurs sérotoninergiques du SNC peut-être trouvée dans (Barnes and Sharp 1999) et (Hoyer, *et al.* 1986).

La nomenclature a classé les 17 sous-récepteurs identifiés en 7 familles.

Hormis le récepteur 5-HT₃ qui appartient à la super-famille des récepteurs inotropiques, les autres appartiennent à la super-famille des métabotropiques, formés de 7 domaines transmembranaires et couplés aux protéines G.

Figure 4
Cartographie des
sous-types de
récepteurs de la
sérotonine et
fonctions
identifiées (d'après
Michel Hamon).



La cartographie de la Figure 4 donne un aperçu non exhaustif des fonctions dans lesquelles les sous-récepteurs de la 5-HT ont été mis en évidence.

La classe des 5HT₁ et leurs fonctions ont été décrites par (Lanfume et Hamon 2004) et (Hamon, *et al.* 1990). Cependant, dans notre travail, nous nous intéressons plus particulièrement à un sous-type de neurorécepteurs : le 5-hydroxy-tryptamine (1A), noté 5-HT_{1A}, qui joue un rôle dans divers désordres neurologiques (épilepsie, migraine...) et psychiatriques (dépression, démence, schizophrénie...).

Séquence

Le récepteur 5-HT_{1A} a été le premier récepteur sérotoninergique entièrement séquencé. Le récepteur 5-HT_{1A} humain et celui du rat ont été identifiés par le screening de bibliothèques génomiques de séquences homologues des β_2 -adrénorécepteurs (Albert, *et al.* 1990; Fargin, *et al.* 1988). Le récepteur 5-HT_{1A} humain présente 89% d'homologie avec celui du rat.

Distribution

La distribution des 5-HT_{1A} dans le cerveau de rat a été mise en évidence et étudiée grâce aux techniques de marquage autoradiographiques utilisant en particulier les ligands spécifiques tritiés (³H) comme la [³H]5-HT, le [³H]8-OH-DPAT, le [³H]ipsaspirone et le [³H]WAY-100635 (Hoyer, *et al.* 1986; Khawaja 1995; Pazos, *et al.* 1987). Marqué au carbone 11, émetteur de positons, ce dernier ligand a été la base des premières études *in vivo* des 5-HT_{1A} chez le rat et chez l'homme. Ces études montrent que le récepteur 5-HT_{1A} est largement distribué dans le SNC. Les études d'imagerie par tomographie d'émission de positons au [¹¹C]WAY100635

et au [¹⁸F]MPPF confirment cette distribution chez l'homme (Passchier, *et al.* 2000a; Pike, *et al.* 1995; Pike, *et al.* 1996).

- Dans les noyaux du raphé (B8 médian et B7 dorsal), il est présent sous forme d'autorécepteurs somatodendritiques régulant négativement l'activité neuronale sérotoninergique en inhibant l'activité électrique puis la synthèse et la libération de 5-HT (Hjorth and Sharp 1991; Sprouse and Aghajanian 1987; Weissmann-Nanopoulos, *et al.* 1985) ;
- Dans les structures limbiques et en particulier dans les hippocampes, le 5-HT_{1A} est présent en tant que récepteur postsynaptique ;
- On trouve également le 5-HT_{1A} dans les aires corticales, et particulièrement dans le néocortex temporal, l'insula, et dans une moindre mesure le cortex frontal ;
- Le 5-HT_{1A} est très peu présent dans les ganglions de la base et dans le cervelet.

Mécanisme d'action

Les récepteurs 5-HT_{1A} sont couplés à différents systèmes effecteurs (Chen and Penington 1996) :

- Un effecteur enzymatique produisant l'inhibition de l'adénylate cyclase (AC),
- Deux effecteurs ioniques, l'un activateur d'un canal potassique, l'autre inhibiteur d'un canal calcique.

Une étude au 8-OHDPAT, inhibiteur du récepteur 5-HT_{1A} a montré une inactivation de l'adénylate cyclase provoquée par la forskoline, dans l'hippocampe, mais pas dans le raphé. Cette étude suggère que l'effecteur AC fut seulement présent dans les hippocampes (Johnson, *et al.* 1997).

D'autre part il a été identifié que l'activation des canaux ioniques potassiques a autant lieu dans l'hippocampe que dans le raphé (Katayama, *et al.* 1997; Oleskevich 1995), alors que l'inhibition du canal calcique n'a été mise en évidence qu'au niveau du raphé (Chen and Penington 1996).

Enfin il faut noter que le 5-HT_{1A} présente des caractéristiques de couplage et de réponse fonctionnelle différentes sur son récepteur présynaptique (Clarke, *et al.* 1996).

Fonctions

La large distribution des récepteurs 5-HT_{1A} dans le SNC et la localisation cellulaire des neurones sérotoninergiques induisent l'implication large et variée de ce récepteur dans la régulation de processus physiologiques incluant des réponses neuroendocrines, la régulation thermique corporelle, les états de sommeil, la neurogénèse et la régulation de l'humeur. Une revue complète se trouve dans (Lanfumey and Hamon 2000). L'implication des 5-HT_{1A} dans les processus émotionnels et les comportements a été établie chez différents modèles animaux selon des mécanismes spécifiques (Hoyer, *et al.* 1986). Le rôle des 5-HT_{1A} dans la modulation des comportements liés à l'anxiété est suggéré par des études utilisant un modèle animal de souris knock-out (dépourvues de récepteurs 5-HT_{1A}). Ces animaux présentent un comportement similaire à l'état d'anxiété dans de nombreux paradigmes expérimentaux (Heisler, *et al.* 1998; Parks, *et al.* 1998; Ramboz, *et al.* 1998). De plus les souris transgéniques sur-exprimant le 5-HT_{1A} au cours du développement précoce postnatal ont un rapport de concentration de 5-HIAA sur 5-HT faible, un niveau de 5-HT supérieur à la normale et un comportement anxieux inférieur aux souris hétérozygotes (Kusserow, *et al.* 2004). Chez l'homme, la mise en évidence de l'implication des récepteurs 5-HT_{1A} dans la dépression (Albert and Lemonde 2004), ou la schizophrénie (Bantick, *et al.* 2001) est démontrée et donne lieu à de nombreuses investigations sur les mécanismes d'action pris isolément, ou combinés avec d'autres systèmes de neurotransmission. Par ailleurs, un nombre considérable de données démontre le rôle pivot des 5-HT_{1A} dans l'action des antidépresseurs et anxiolytiques tels que les inhibiteurs de recapture de la sérotonine (IRS). Au sujet des IRS, de leur mécanisme d'action et de leur utilisation en psychiatrie, on peut consulter l'article de revue (Blier and de Montigny 1994; Hensler 2002; Pineyro and Blier 1999).

Ces éléments démontrent l'intérêt de posséder et maîtriser un outil non invasif permettant d'observer *in vivo* le système de neurotransmission lié au récepteur 5-HT_{1A}, tant du point de vue physiopathologique que neuropsychiatrique.

1.1.3 Observation *in vitro* de la transmission synaptique

L'observation *in vitro* d'un système de neurotransmission s'effectue par des techniques d'autoradiographie. Il s'agit de diffuser sur un extrait tissulaire cérébral (coupe histologique ou broyat de tissus) une molécule (le ligand), marqué par un élément radioactif émetteur de particule bêta (β), observable par des imageurs capables de constituer une image de radioactivité bêta.

CONDITIONS D'OBSERVATION

La visualisation simultanée des sites de liaison d'un neuromédiateur, par autoradiographie du ligand, et du phénotype des cellules qui les portent, par immunocytochimie, comporte les étapes suivantes :

- Liaison du radioligand à son récepteur,
- Fixation covalente du radioligand, permettant d'éviter la dissociation du complexe ligand récepteur lors des étapes ultérieures,
- Fixation des cellules, permettant de conserver la morphologie et d'éviter la perte de l'antigène devant être détecté en immunocytochimie,
- Protocole d'immunocytochimie et révélation du signal immunocytochimique,
- Trempage dans l'émulsion, et révélation du signal par autoradiographie.

D'un point de vue pratique, la faisabilité de l'ensemble du processus nécessite de pouvoir coupler le radioligand de façon covalente et de pouvoir trouver un mode de fixation du ligand ne détruisant pas le signal immunocytochimique.

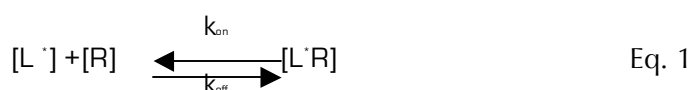
La possibilité de coupler le radioligand de manière covalente à son récepteur dépend de la présence, sur ce ligand, d'un groupe fonctionnel potentiellement réactif, et de l'existence d'un agent bifonctionnel, capable de réagir d'une part avec le groupe présent sur le ligand, et d'autre part avec un groupe fonctionnel du récepteur.

Pour le récepteur 5-HT_{1A}, nous avons vu que cette technique était particulièrement utilisée avec un petit nombre de ligands marqués au tritium (le [³H]5-HT, le [³H]8-OH-DPAT, le [³H]ipsaspirone et le [³H]WAY-100635).

L'analyse quantitative des techniques d'autoradiographie nécessite une mise en équation et la définition d'un modèle de la fixation du ligand sur son récepteur. Ce modèle est la base de la modélisation qui sera par la suite utilisée en TEP. Ce paragraphe est consacré à l'introduction de ces notions.

MISE EN EQUATION

Les interactions entre un ligand et ses récepteurs peuvent être représentées par un modèle compartimental. Dans ce contexte, les échanges entre ligand et récepteur sont régis par une simple loi d'action de masse :



Où

$[L^*]$ est la concentration du ligand libre, notée F dans les formulations suivantes,

$[R]$ est la concentration de récepteurs libres et

$[L^*R]$ la concentration du complexe ligand récepteur liés noté B par la suite.

La densité de récepteur totale disponible, exprimée en fmol.ml^{-1} ou fmol.mg^{-1} , classiquement noté B_{max} , est alors égale à $[R] + [L^*R]$.

Dans ces conditions, nous pouvons exprimer $[R] = B_{\text{max}} - B$.

k_{on} et k_{off} sont respectivement les constantes d'association et de dissociation de la liaison ligand récepteur. Ils représentent des vitesses et sont généralement exprimés en min^{-1}

À partir de l'équation 1, à l'équilibre, la loi d'action de masse s'écrit donc

$$k_{\text{on}} \cdot F (B_{\text{max}} - B) = k_{\text{off}} \cdot B \quad \text{Eq. 2}$$

En introduisant la constante de dissociation à l'équilibre, inverse de d'affinité du ligand pour son récepteur, notée K_d et définie par le rapport $k_{\text{off}} / k_{\text{on}}$, on peut reformuler cette dernière équation par

$$B/F = (B_{\text{max}} - B)/K_d \quad \text{Eq. 3}$$

qui montre que le rapport B/F est une fonction linéaire de B à l'équilibre. On exploite cette propriété dans les expériences de saturation par marquage *ex vivo* de récepteur B à différentes concentrations de ligand F. La Figure 5 représente une courbe de saturation, en présence d'une liaison non spécifique. Lorsque la concentration de ligand lié a atteint 50% de sa valeur maximale, la concentration correspondante est définie comme étant l'affinité du ligand pour le récepteur.

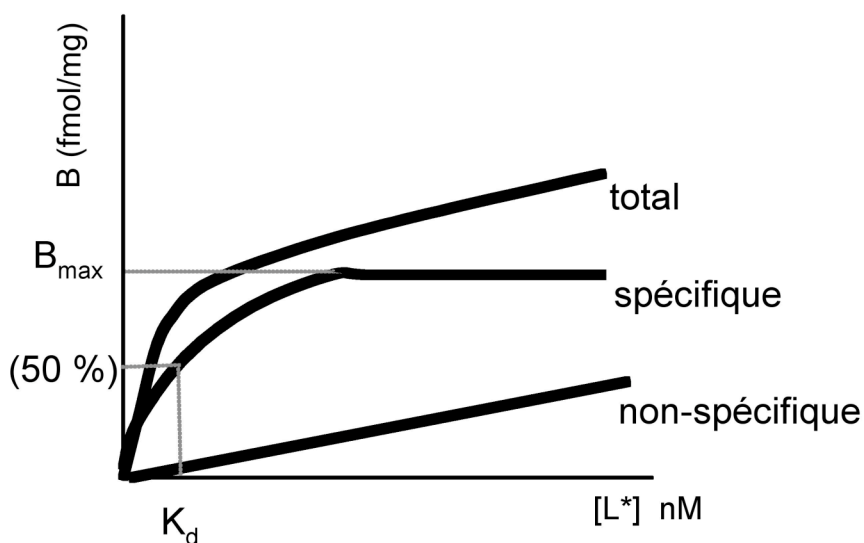


Figure 5
Courbe de saturation d'un récepteur par un ligand.
La concentration du ligand lié est exprimée en fonction de la concentration du ligand de marquage.

En réalisant, à partir d'une expérience de saturation, une courbe paramétrique avec en ordonnée le rapport B/F en fonction de B , comme le montre l'équation 3 la courbe tracée devient linéaire. L'équation de la droite de régression linéaire permet de déterminer K_d (inverse de la pente) et $B_{\max}$ (intersection avec l'abscisse). Ce type de courbe paramétrique est appelé courbe Scatchard (Figure 6)

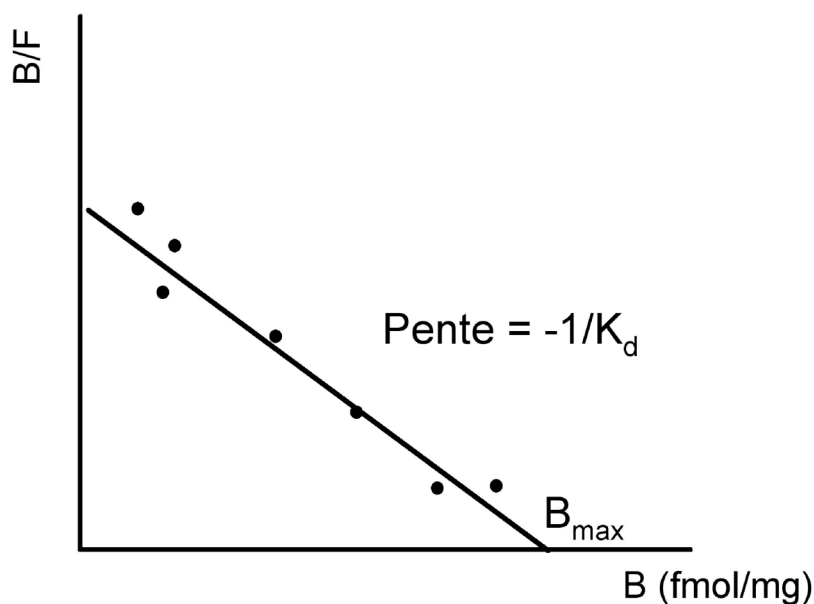


Figure 6
Courbe de Scatchard.

Nous verrons dans le chapitre I.4 l'extension de cette mise en équation dans le cas de mesures *in vivo* grâce au marquage des récepteurs par un ligand émetteur de positons.

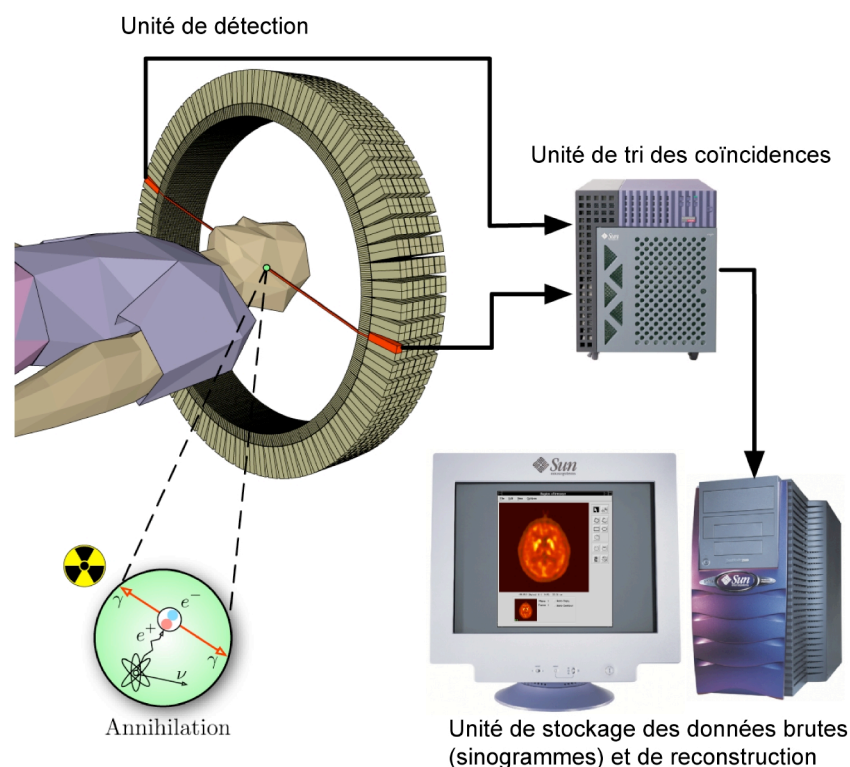
Préalablement, il convient de préciser quelques notions physiques et instrumentales et radiochimique sur la technique de tomographie par émission de positons.

1.2 La mesure physique TEP

La Tomographie par Emission de Positons est une technique d'imagerie médicale fonctionnelle quantitative. Elle permet de mesurer *in vivo* chez l'homme ou l'animal, et avec une résolution spatiale de quelques millimètres cubes, la distribution spatiale et l'évolution temporelle d'un paramètre physiologique, comme le métabolisme cellulaire, le débit sanguin ou la densité de récepteurs d'un système de transmission neuronale. Elle diffère de ce fait des technologies conventionnelles aux rayons X et par résonance magnétique, plus précises spatialement mais limitées à la production d'images anatomiques.

Cette technique nécessite l'injection au sujet d'un vecteur moléculaire du processus physiologique étudié, préalablement marquée avec un noyau atomique radioactif, émetteur de positons. L'annihilation des positons libérés par l'émetteur de positons avec un électron provoque l'émission simultanée de deux photons gamma. La caméra TEP détecte les paires de photons, échappées du sujet. Après correction du signal physique, notamment de l'atténuation tissulaire et du bruit, et après reconstruction tomographique, la TEP fournit un volume représentatif de la distribution spatiale du traceur dans le corps (Figure 7).

Figure 7
Schéma de principe de l'acquisition TEP : l'injection du traceur radioactif dans le corps, détection des coïncidences de rayonnements gamma, la correction des données brutes et reconstruction tomographique.



La TEP une technique intrinsèquement quantitative, elle mesure des concentrations volumiques de radioactivité avec une sensibilité 100 fois supérieure à la tomographie d'émission de simples photons (TEMP, ou SPECT en anglais), qui est une technique d'imagerie proche utilisée couramment en médecine nucléaire conventionnelle.

Le premier tomographe à émission de positons a été conçu dans les années 1960 par Rankovitch et ses collaborateurs (Rankovitch 1962). Le premier tomographe assisté par ordinateur a ensuite été fabriqué en 1975 (Ter-Pergossian, *et al.* 1975) (Figure 8). Les années quatre-vingt ont vu se développer la technique et les premières utilisations en mesure de métabolisme glucidique et débit sanguin. La technique est entrée dans un usage clinique dans les années quatre-vingt-dix, voyant se diversifier les traceurs et leurs possibilités d'exploration.

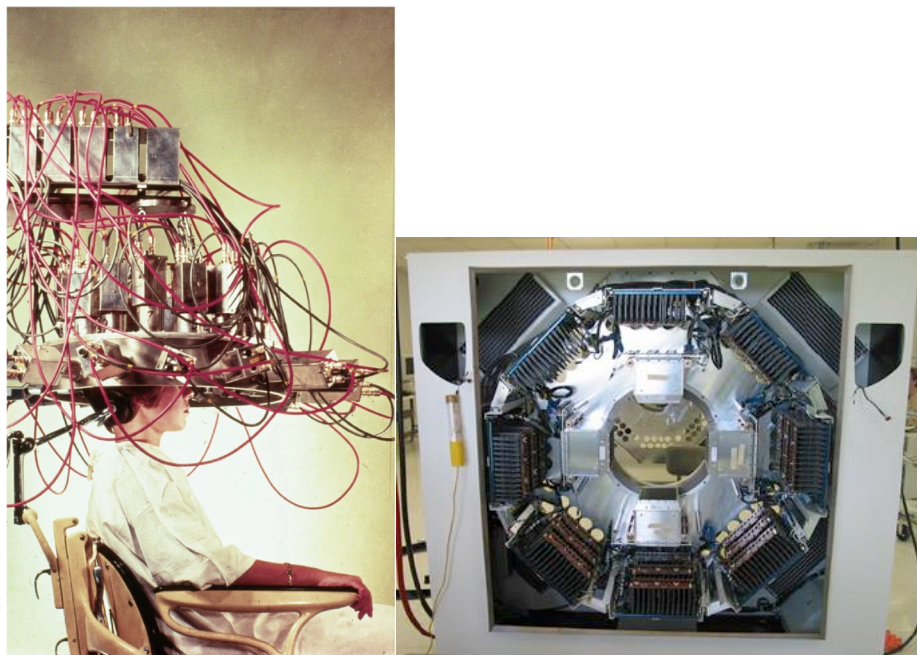


Figure 8
Première et
dernière génération
de caméra TEP

Ce chapitre expose la technique de tomographie par émission de positons d'un point de vue technologique et physique. Une référence précise, complète et incontournable à ce sujet est le livre de Bernard Bendriem et David Townsend (Bendriem and Townsend 1998).

I.2.1 Bases physiques

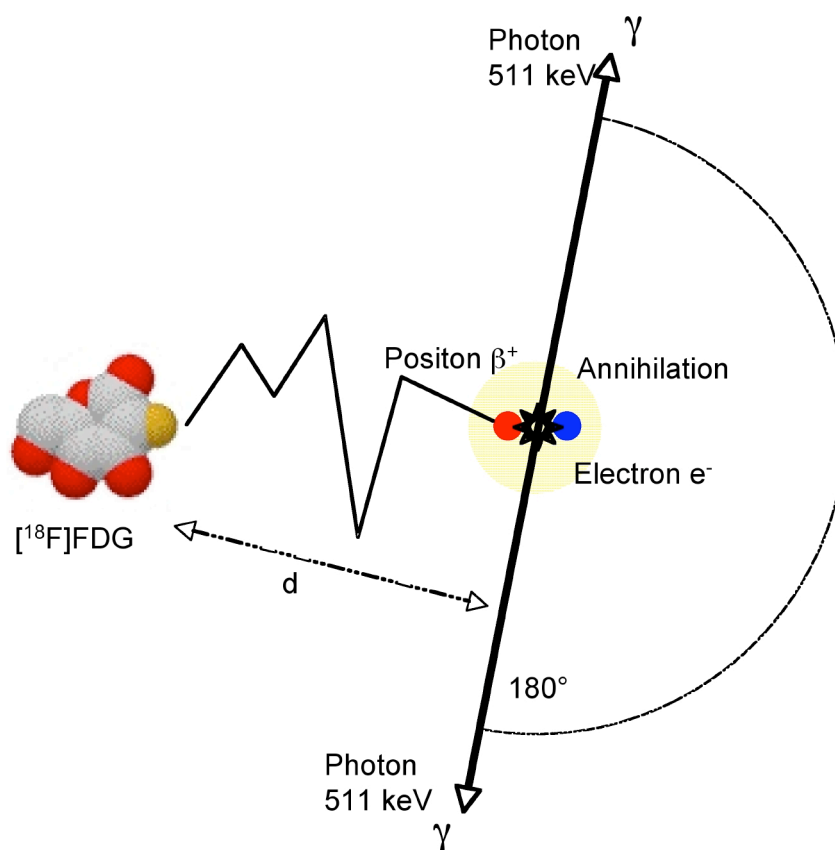
EMISSION DE POSITONS

Le principe fondamental de la TEP est d'utiliser des atomes émetteurs de positons liés à des molécules organiques comme traceurs d'une activité physiologique endogène. Les émetteurs de positons sont caractérisés par un excès de charges positives dans leurs noyaux. Ils se désintègrent vers un état stable, par une transformation d'un proton en un neutron qui conduit à l'émission d'un neutrino ν et d'un positon β^+ .



Celui-ci est de masse égale à celle d'un électron mais de charge opposée. Les émetteurs de positons utilisés en TEP (Tableau 1) sont l'oxygène 15 (^{15}O), l'azote 13 (^{13}N), le carbone 11 (^{11}C), et le Fluor 18 (^{18}F).

Figure 9
Émission du
positon, libre
parcours dans la
matière (d),
annihilation et
émission de la
paire colinéaire de
photons gamma
511 keV



Du fait de l'énergie libérée par la transition électronique, lors de son émission, le positon parcourt quelques millimètres dans les tissus, au cours desquels il dissipe presque toute son énergie cinétique. La perte énergétique continue jusqu'à ce que le positon atteigne un état d'équilibre thermique avec le milieu. Le positon interagit alors avec un électron du milieu, suivant une réaction d'annihilation au cours de laquelle la masse des deux particules se transforme en deux photons gamma de 511 keV, émis dans des directions quasiment ($\pm 0,5^\circ$) opposées (Figure 9). Le principe de base de la TEP consiste à détecter les deux photons de 511 keV pour déterminer le lieu de la réaction d'annihilation. L'information mesurée correspond au lieu d'annihilation et non à celui de l'émission du β^+ . La distance d entre ces deux lieux est caractérisée par libre parcours moyen du positon. Le positon, tout comme l'électron, suit un parcours sinueux dans le milieu traversé ponctué par de multiples interactions de type Coulomb, au cours desquelles son énergie cinétique se dissipe. Le libre parcours du positon dans la matière est fonction de l'énergie cinétique initiale du positon, et de ce fait du radioélément employé, et ainsi de la densité électronique de la matière traversée. Dans l'eau, constituant principal des tissus biologiques, le libre parcours du positon est de 1 à 2 mm selon le radioélément (Tableau 1). Cette distance constitue une limite intrinsèque de la technique. En effet, un tomographe idéal devrait précisément mesurer la distribution spatiale de l'activité dans le corps observé, alors que le tomographe TEP ne détecte que les lieux d'annihilation.

Radioélément	¹⁵ O	¹³ N	¹¹ C	¹⁸ F
Période (min)	2,1	10	20,4	109,8
Coefficient de branchement (%)	99	99	100	97
Energie cinétique maximale (Mev)	1,72	1,19	0,98	0,63
Libre parcours moyen dans l'eau (mm)	2,22	1,44	1,12	0,6

Tableau 1 – Propriétés élémentaires des radioisotopes émetteurs de positons les plus courants en TEP

Le Tableau 1 donne les propriétés des émetteurs de positons les plus utilisés en TEP : énergie cinétique maximale de libération, coefficient de branchement (taux de désintégration donnant lieu à l'émission d'un positon), libre parcours moyen du positon dans l'eau avant annihilation. On note que le ¹⁸F est donc le radioélément émettant des positons avec la plus faible énergie cinétique, et par conséquent ayant le plus faible parcours moyen dans l'eau. Ce radioélément donne une image TEP de meilleure qualité que le ¹¹C et *a fortiori* que l'¹⁵O. Cependant, le libre parcours moyen dépend de la densité de la matière organique traversée, et peut considérablement varier : par exemple, il sera très différent dans les poumons, de faible densité, et dans l'os, de densité plus forte que les tissus mous.

TRANSPORT DANS LA MATIERE

Les photons gamma de 511 keV émis lors de l'annihilation sont des rayonnements électromagnétiques. Ils sont donc soumis à des interactions avec la matière qu'ils traversent selon des lois d'interaction (section efficace) dépendant du milieu et de leur énergie.

Dans la plupart des cas, l'un ou les deux photons interagissent avec les particules du milieu et sont absorbés ou diffusés. L'absorption diminue la statistique de comptage et la qualité de l'image. Une correction de l'atténuation est souvent nécessaire pour obtenir une image quantitative (c.f. I.2.2). La diffusion entraîne un biais de localisation des événements et entraîne aussi une diminution de la qualité de l'image reconstruite. Dans la gamme d'énergie du rayonnement γ pour la TEP ($E < 511$ KeV), les photons interagissent selon trois mécanismes : par effet photoélectrique, Compton et Rayleigh.

Effet Photoelectrique

Au cours de cette interaction, le photon d'énergie e est complètement absorbée par un atome. Un électron, appelé photoélectron, est éjecté avec une énergie cinétique $e - b$, b étant l'énergie de liaison de l'électron dans l'atome.

Effet Compton

Au cours de cette collision de type élastique, le photon d'énergie E est dévié de sa trajectoire d'un angle θ par un électron externe, très faiblement lié à un atome. L'électron concerné est éjecté suivant un angle α par rapport à la direction du photon incident. L'énergie E' du photon diffusé est donnée par :

$$E' = \frac{E}{1 + \frac{E}{m_0 c^2} (1 - \cos \theta)} \quad \text{Eq. 5}$$

Dans cette équation, le terme $m_0 c^2$ représente l'énergie au repos de l'électron, soit 511 keV.

Effet Rayleigh

Dans cette collision élastique entre un photon et un atome, le photon est dévié de sa trajectoire d'un angle θ sans déposer d'énergie.

Atténuation linéique

La collision d'un photon avec un constituant de la matière revêt un caractère aléatoire, en ce sens qu'il existe une probabilité non nulle que le photon franchisse une distance, aussi grande soit-elle sans interagir. On représente cette probabilité d'interaction par une section efficace. L'atténuation d'un faisceau de photons γ dépend des propriétés physiques du milieu traversé, de l'énergie du photon et de la distance à parcourir dans ce milieu. La loi d'atténuation d'un faisceau monoénergétique du photon à travers un matériau d'épaisseur x est décrite par l'équation exponentielle suivante :

$$n(x) = n_0 e^{-\mu_l x} \quad \text{Eq. 6}$$

avec :

n_0 : nombre de photons incidents

$n(x)$: nombre de photons transmis à travers une couche d'épaisseur x

μ_l : coefficient d'atténuation linéique du matériaux (cm^{-1})

La section efficace totale d'absorption est la somme des sections efficaces de chacun des mécanismes interactionnels (photoélectrique, Compton, Rayleigh). Il en est de même pour le coefficient d'atténuation linéique μ_l

qui est la somme des coefficients d'atténuation dus à l'effet photoélectrique μ_p , Compton μ_c et Rayleigh μ_R . Plus le photon est énergétique, plus le coefficient d'atténuation linéique diminue, et donc moins le photon aura de chance d'interagir avec le milieu.

Les gamma de 511 keV ont un parcours moyen avant interaction de 10,4 cm dans les tissus biologiques (eau). Le cerveau et le thorax humains ont des dimensions de l'ordre de 20 cm à 40 cm. Ainsi, en imagerie TEP, selon l'organe seulement environ 15% à 40% des paires de photons émergent du corps humain sans avoir interagi.

DETECTION DES COÏNCIDENCES

Comme nous l'avons vu, toute désintégration d'un positon se caractérise par l'émission de deux photons gamma de 511 keV dans des directions opposées. Cette propriété est intrinsèquement utilisée par les tomographes TEP pour déterminer la projection du lieu d'émission du positon. En effet, la détection simultanée des deux photons de 511 keV par le tomographe suppose qu'une désintégration a eu lieu sur la ligne joignant les deux points de détection (Figure 12). On appelle ces lignes de détection les *lignes de réponse* (LOR en anglais). Nous savons déjà que ce n'est pas tout à fait exact à cause du libre parcours du positon dans la matière et de l'angulation entre les deux photons d'annihilation.

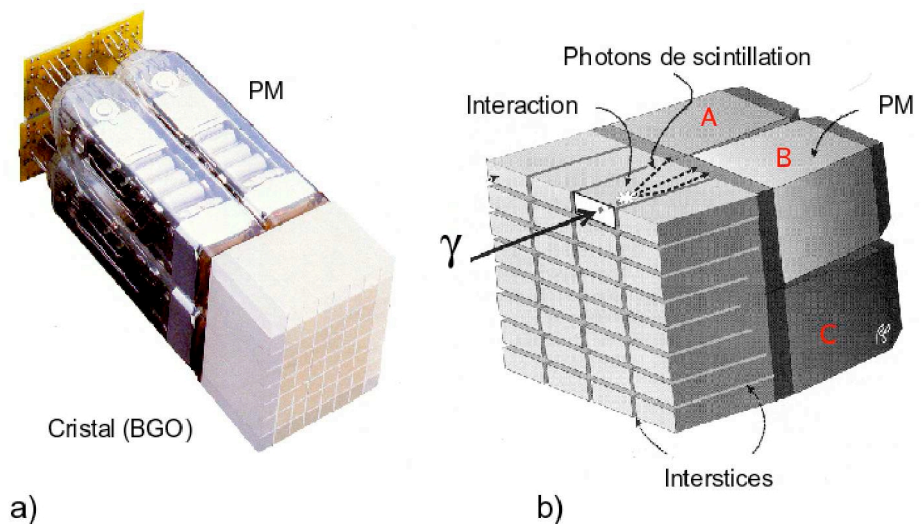
Un tomographe TEP est constitué de modules de détection. Ces derniers enregistrent les photons, déterminent leur énergie, leur position dans le module et leur temps d'arrivée. Ensuite des circuits électroniques, appelés circuits de coïncidence, comparent les temps d'arrivées des photons sur des modules de détecteurs en regard dans la caméra. Lorsque deux photons ont des temps d'arrivée suffisamment proches (entre 4 et 12 ns selon la performance du détecteur), ils sont supposés provenir de la même annihilation et un événement en coïncidence est enregistré. On réalise ainsi une *collimation électronique*.

ARCHITECTURE D'UNE CAMERA TEP

Les caméras de tomographie par émission de positons sont en général constituées d'une série de couronnes de modules de détection réparties autour du patient (Figure 7). Les dimensions du champ de vue varient d'un modèle à l'autre. Cependant, les tomographes pour humains offrent classiquement un champ de vue axial d'une quinzaine de centimètres, permettant ainsi l'exploration du cerveau dans son entier, et un champ de vue transverse d'une quarantaine de centimètres permettant les acquisitions de type corps-entier. Afin d'augmenter l'échantillonnage spatial, les événements dont les deux photons sont détectés par des couronnes adjacentes sont également permis. Cette détection tridimensionnelle permet d'augmenter l'échantillonnage spatial en créant des plans virtuels intercalés entre les plans directs. Un tomographe composé de N couronnes, permet l'acquisition des données sur $2 \times N - 1$ plans (N directs + $(N - 1)$ intercalés).

Le constituant élémentaire de la caméra TEP est son module de détection. Le rôle des modules de détection est d'absorber le rayonnement gamma, de déterminer l'énergie du photon incident et sa position dans le module et finalement l'instant où il a été détecté. Les modules de détection les plus couramment utilisés en TEP sont composés d'un bloc de cristal scintillant inorganique, découpé en détecteurs élémentaires (typiquement huit par huit cristaux), le tout couplé à typiquement quatre photomultiplicateurs (Figure 10).

Figure 10
Schéma d'un module de détection constitué d'un bloc de cristal scintillateur (a) et de quatre photomultiplicateurs (b)



Le rôle du cristal est de transcoder le rayonnement γ en un rayonnement lumineux moins énergétique. Les photomultiplicateurs recueillent l'énergie lumineuse, et la transforment en un signal électrique permettant de décodage de l'énergie et du lieu de localisation du photon γ .

Tout photon entrant dans la chaîne de détection est analysé individuellement. Il interagit avec le cristal par effet photoélectrique, Compton ou Rayleigh. L'énergie cédée déclenche la transition du cristal à un niveau énergétique plus élevé, à partir duquel il va décroître en émettant des photons d'énergie inférieure : les photons de scintillation (Figure 10 (b)). Les impulsions lumineuses sont caractérisées par une croissance rapide de l'intensité suivie d'une décroissance exponentielle dont la constante dépend du cristal mais aussi de la température. L'amplitude de l'impulsion est également un paramètre important qui caractérise le rendement lumineux obtenu avec le cristal. Un bon rendement lumineux assure une meilleure qualification de l'énergie. Les photons de scintillation sont ensuite dirigés vers la photocathode des tubes photomultiplicateurs au travers d'un guide de lumière. Le rôle de la photocathode est de convertir l'énergie lumineuse en électrons. Ces derniers sont accélérés et focalisés sur la première dynode, où le nombre d'électrons est multiplié par le facteur d'émission secondaire. Le signal en sortie du photomultiplicateur fournit une impulsion électrique mesurable, dont l'intégrale est proportionnelle au nombre de photons de scintillations et de ce fait à l'énergie déposée par le γ dans le cristal. La durée d'intégration dépend de la rapidité de la décroissance de la lumière au sein du cristal, et de la rapidité du système électronique d'amplification et de conversion numérique analogique : ce temps d'intégration est

responsable d'un temps mort au cours duquel toute arrivée d'un nouveau photon sur le système ne sera pas vue. Ce temps mort est proportionnel à l'activité présente dans le champs de vue.

Le scintillateur idéal posséderait les caractéristiques suivantes : forte résolution énergétique et temporelle, bon rendement lumineux et forte densité.

Scintillateur	Densité (g/cm ³)	Atténuation linéaire μ (cm ⁻¹)	Photo- fraction (%)	Décroissance de la scintillation (ns)	Rendement lumineux (% NaI)
NaI(Tl)	3,7	0,34	18	230	100
BGO	7,1	0,95	42	300	22
BaF ₂	4,9	0,45	19	0,8-630	5-21
LSO	7,4	0,86	33	40	75

Tableau 2– Propriétés des principaux scintillateurs utilisés en TEP

Efficacité de détection et densité

Les paramètres d'atténuation du rayonnement de 511 keV dépendent de la densité du matériau et de la densité d'électrons estimée par le numéro atomique effectif (Z_{eff}). L'épaisseur du scintillateur peut être d'autant moins importante que le coefficient d'atténuation (μ) est élevé. Cette propriété permet de diminuer la taille des détecteurs élémentaires, et donc d'améliorer la résolution spatiale du système.

Photofraction

La photofraction est le pourcentage d'effet photoélectrique par rapport aux interactions des photons de 511 keV dans le scintillateur. Ce paramètre est essentiel, puisque seules les interactions photoélectriques sont caractérisées par un dépôt d'énergie de 511 keV dans le détecteur en un seul lieu. Lorsque le photon incident subit une diffusion Compton dans le scintillateur, il en résulte un dépôt d'énergie inférieur à celui obtenu par effet photoélectrique. Cet événement peut être éliminé par la chaîne de mesure (c.f. fenêtre énergétique) il en résulte une perte en efficacité.

Temps de décroissance, rendement lumineux, résolution énergétique

Les caractéristiques de l'émission lumineuse des différents scintillateurs doivent être analysées en détail puisqu'elles conditionnent le temps mort du système et la résolution en énergie. La constante de décroissance influe sur le temps mort du détecteur élémentaire pendant lequel il lui est impossible de mesurer un autre événement. Par ailleurs, plus la surface utile du détecteur élémentaire est réduite, plus la probabilité de mesurer un autre photon est faible. Le rendement lumineux correspond au nombre de photons de scintillation émis par photon arrêté dans le scintillateur.

Cette caractéristique est souvent exprimée de manière relative par rapport à l'iodure de sodium dopé au thallium NaI(Tl), qui possède un rendement lumineux très important. Un rendement lumineux élevé permet une meilleure détection de l'interaction, et s'accompagne généralement d'une bonne résolution en énergie et spatiale. Une résolution en énergie limitée impose l'utilisation d'une fenêtre spectrométrique (c.f. fenêtre énergétique) plus ou moins large, qui entraîne l'enregistrement des photons ayant subi une interaction Compton au sein du patient.

Longueur d'onde des photons de scintillation

Les photons de scintillations émis peuvent être absorbés par le cristal, diminuant ainsi le rendement lumineux. Il est nécessaire que la bande d'émission et d'absorption du cristal ne se chevauchent pas trop.

Indice de réfraction

Pour minimiser les phénomènes de réfraction ainsi qu'une bonne transmission des photons à la photocathode, il est important que l'indice de réfraction du cristal et de la fenêtre d'entrée des photomultiplicateurs soient compatibles. Puisque l'indice de réfraction du verre de la fenêtre d'entrée est généralement 1,5, les cristaux offrant un indice moins élevé permettent un meilleur couplage cristal/photomultiplicateurs.

Disponibilité sur le marché

Les caractéristiques des cristaux les plus utilisés sont répertoriées dans le Tableau 2. Parmi les différents scintillateurs utilisés en TEP, le germanate de bismuth (BGO) est un des matériaux qui possède le plus grand pouvoir atténuant ($\mu_l = 0,95 \text{ cm}^{-1}$) et la plus grande photofraction (44%). Ainsi les photons pénétrant un bloc de BGO, interagissent sur une distance plus courte et plus souvent selon une absorption photoélectrique qu'avec les autres cristaux. Ces deux phénomènes associés garantissent une bonne efficacité de détection et une bonne résolution. Son faible rendement lumineux (15% du NaI(Tl)) ne permet pas l'obtention d'une bonne résolution énergétique (15%), et impose de ce fait l'utilisation de seuil énergétique bas (lId) peu élevé. Aussi, son temps de décroissance (300ns) contribue à la faible résolution énergétique. En effet, pour les scintillateurs à décroissance lente, il y a toujours un compromis à trouver entre résolution énergétique et temporelle. Réduire la période d'intégration du signal améliore la résolution temporelle, mais diminue l'amplitude du signal et de ce fait la résolution. Actuellement, l'orthosilicate de lutécium (LSO) s'approche des propriétés idéales pour la réalisation de tomographe haute résolution et haute sensibilité. Il offre un très bon pouvoir atténuant, un bon rendement lumineux et une décroissance rapide. Il équipe désormais la plupart des tomographes commerciaux humains et ceux dédiés à l'imagerie du petit animal.

La résolution spatiale d'un tomographe TEP varie de 5 à 12 mm selon le type et la géométrie du cristal employé, de la géométrie de l'imageur mais aussi des paramètres d'acquisitions et de reconstructions. L'un des imageurs TEP les plus utilisés est l'Ecat Exact HR+ fabriqué par CTI

(Knoxville, Tennessee, USA) et commercialisé en Europe par SIEMENS (Brix, *et al.* 1997). Il s'agit de l'imageur cerveau et corps entier humain dont dispose le CERMEP.

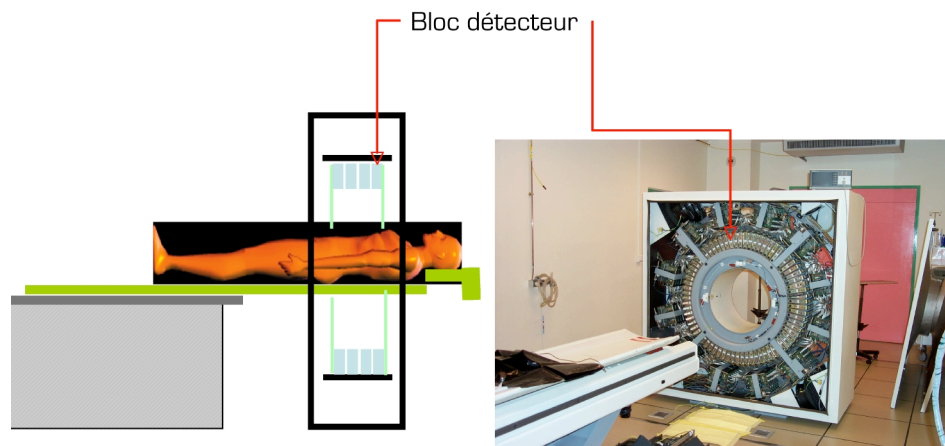


Figure 11
Caméra Siemens
HR+
576 cristaux par
couronne
288 blocs de 8x8
cristaux
Fenêtre de
coïncidence de
12 ns
Champ de vue :
axial 15,2 cm,
transverse 54 x
54 cm²

Suite à ces considérations d'instrumentation, et pour en revenir au signal élémentaire détecté par la TEP, il convient de décrire les types de coïncidences observées par le système de détection de la caméra TEP

TYPES DE COÏNCIDENCES DETECTEES

Coïncidences vraies

Deux photons détectés provenant de la même annihilation, aucun photon n'ayant subi d'interaction, donnent lieu à une *coïncidence vraie* (Figure 12, AB).

Coïncidences diffusées

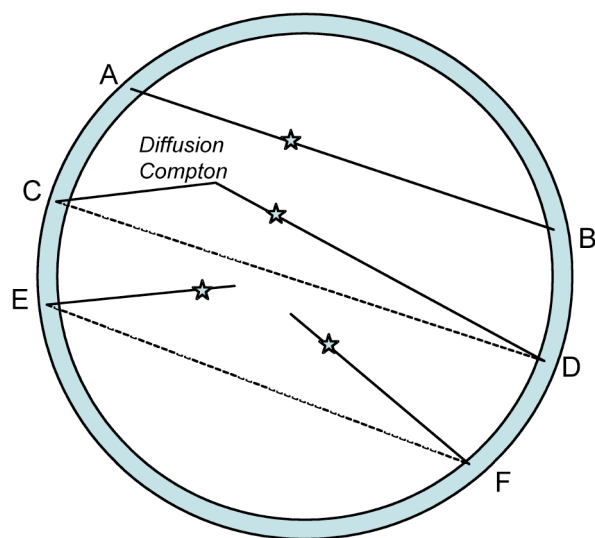
Deux photons détectés provenant d'une annihilation dont l'un des deux photons a subi une interaction de diffusion Compton donne lieu à une coïncidence appelée *coïncidence diffusée* (Figure 12, CD). L'annihilation du positon est assignée à une position incorrecte.

Coïncidences fortuites

Des photons provenant de l'annihilation de deux positons différents peuvent être détectés en coïncidence et donnent lieu à une *coïncidence fortuite* (Figure 12, EF). Ces coïncidences, dont le taux de comptage est proportionnel à la largeur de la fenêtre de coïncidence, ne sont pas corrélées à une désintégration radioactive unique et leur comptabilisation introduit un biais dans la mesure.

Nous aborderons dans le chapitre I.2.2 les méthodes de corrections des sources de bruit et les biais de quantification que représentent les coïncidences diffusées et fortuites.

Figure 12
 Etoile : lieux
 d'annihilation
 A-B : Coïncidence
 vraie
 CD : Coïncidence
 Diffusée
 EF :
 Coïncidence
 fortuite
 En pointillé, ligne
 de réponse
 localisée à tort.



STOCKAGE DES DONNEES BRUTES

Les évènements détectés par le scanner sont enregistrés soit sous forme de listes chronologiques (mode liste ou *list-mode*), soit sous la forme de sinogrammes. En mode liste, le scanner enregistre les coïncidences détectées, une à une, dans un fichier, en précisant au minimum pour chaque entrée, le temps d'arrivée ainsi que l'identifiant des cristaux impliqué dans la détection. Un sinogramme contient quant à lui, l'ensemble des éléments de projection d'une tranche de l'objet et pour une durée donnée (Figure 13). En effet, tous les éléments de projection, indexés par l'angle azimutal Φ et l'élément de projection r , d'une coupe p de l'objet d'angle polaire θ sont rangés dans une matrice appelée sinogramme $S_{p,\theta}(\Phi, r)$. Chaque ligne de cette matrice correspond à la projection monodimensionnelle de la coupe pour un angle azimutal particulier. Cette matrice possède autant de lignes que d'angles de mesure, et autant de colonnes que d'éléments de projection pour une position angulaire.

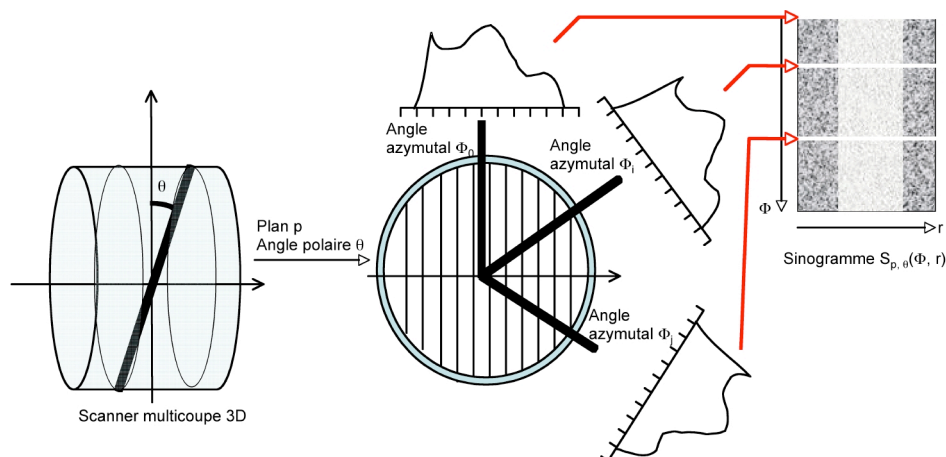


Figure 13
Sur une imageur TEP 3D, le plan oblique p d'angle polaire θ se projette sur r bins dans chaque directions azimutales Φ . Chacune constitue une ligne du sinogramme $S_{p, \theta}$

Un point du sinogramme correspond donc à une ligne de réponse (LOR) entre deux détecteurs élémentaires. L'information reportée dans un élément du sinogramme correspond à l'intégrale des émissions des paires de photons détectées suivant cette incidence, pour tous les points de l'objet situés sur la ligne de réponse. Chaque événement accepté par le circuit de coïncidence incrémente d'une unité le pixel du sinogramme correspondant à la ligne de réponse entre le ou les couples détecteurs élémentaires.

La plupart des imageurs récents enregistrent les événements en mode liste. Ce mode permet, entre autres, une plus grande flexibilité, en ce qui concerne les découpages temporels de l'information, que le mode sinogramme qui fixe la durée des séries (frames) temporelles avant l'acquisition. Cependant, encore peu d'algorithmes peuvent reconstruire l'image TEP directement à partir des données en mode liste et une étape de réorganisation des événements du fichier mode liste sinogrammes est souvent nécessaire.

ACQUISITION DE TRANSMISSION

Outre la mesure d'émission correspondant à la collecte des photons gamma provenant de la désintégration du radioélément injecté dans le corps, l'imageur TEP peut fonctionner en mode de mesure de transmission. Le but de l'acquisition de transmission est de mesurer pour chaque LOR l'atténuation linéaire des photons dans le corps du sujet. Cette mesure est nécessaire à la correction des données brutes pour une qualification homogène dans l'image puisque 20 à 80% des photons arrivent sur le système de détection après avoir subi une interaction dans le corps qu'ils traversent. L'effet de l'atténuation des données est un simple facteur multiplicatif.

$$g_{mes}(LOR) = g_0(LOR).a(LOR)$$

où

$$a(LOR) = \exp\left(\int_{LOR} \mu(l)dl\right)$$

g_0 représente la valeur intégrale des annihilations se produisant sur la LOR, g_{mes} est la valeur mesurée sur la LOR et a est la valeur d'atténuation sur la LOR (elle correspond à la valeur intégrale des coefficients d'atténuation linéaire le long de la LOR).

Pour estimer les facteurs d'atténuation $a(LOR)$, on mesure le flux de photons gamma émis par des sources radioactives externes ayant traversé le corps du sujet. Ces sources sont des lignes de germanium 68 (émetteur de positons) ou des sources ponctuelles de césium 137 (émetteur gamma). Elles sont stockées dans l'imageur TEP. Au moment de l'acquisition de transmission, les sources sortent et tournent autour du sujet pendant la mesure d'une durée de 2 à 15 minutes selon l'intensité des sources, et la qualité de la mesure de transmission que l'on souhaite. Pour chaque LOR, le rapport entre cette acquisition et une acquisition à blanc, mesurée sans le sujet fournit directement une estimation des facteurs $a(LOR)$. Cette mesure est analogue à la mesure de tomодensitométrie (TDM ou scanner X). La transmission au ^{68}Ge tend à être remplacée dans les appareils de TEP couplés à la TDM par une mesure de transmission de rayon X. Dans ce cas, il convient de transformer les valeurs d'atténuation linéaire obtenues pour l'énergie de la source de rayon X, en une valeur correspondant à une source de 511 keV, ce qui n'est pas trivial.

1.2.2 Correction des sinogrammes

BRUITS ET BIAIS DE LA MESURE

Les images obtenues en TEP résultent d'un comptage des coïncidences détectées sur chaque ligne de réponse. Du fait des phénomènes physiques d'interaction photon-matière et des caractéristiques de l'appareillage, l'information recueillie dans les projections est faussée, puisqu'elle ne correspond pas à l'intégrale des événements réellement émis dans la ligne de réponse. Ces pertes d'information sont généralement variables en fonction de la position des sources dans le champ de vue et au sein du patient. Nous avons vu précédemment que l'on pouvait limiter la contamination du signal dès l'acquisition en pratiquant par exemple une collimation électronique (temporelle et énergétique) pour limiter les événements fortuits. Cependant, le signal reste encore contaminé et une correction nécessaire.

On peut recenser les principales sources de bruit et les biais de comptage de l'acquisition TEP selon leur origine

- Phénomènes physiques
 - Coïncidences diffusées (bruit : mauvais positionnement)
 - Atténuation linéaire (biais : perte de signal)
- Instrumentation
 - Géométrie circulaire du système de détection (biais : mauvais positionnement, inhomogénéité)
 - Géométrie cubique du module de détection (biais : inhomogénéité)
 - Inhomogénéité des composants (cristaux, photomultiplicateurs) du modules de détection (biais : inhomogénéité)
 - Limite de bande passante du module de détection provoquant du temps morts (biais : perte de signal)
 - Coïncidences fortuites dues à la limite de résolution temporelle du module de détection (bruit : mauvais comptage)

Ces sources influent sur la résolution spatiale, la sensibilité, la qualité de l'image, et la qualité de la mesure quantitative. De ce fait, une correction et une normalisation préalables des sinogrammes sont indispensables. L'objectif de ce paragraphe est d'expliquer sommairement les différentes étapes qui permettent d'accéder à une image fidèlement représentative de la distribution radioactive au sein du patient.

CORRECTIONS

Coïncidences fortuites

La contamination due aux *coïncidences fortuites* est estimée de trois façons :

1. les coïncidences fortuites peuvent être directement mesurées dans une fenêtre temporelle décalée (delay window), présentant un retard suffisant pour que deux photons détectés ne puissent pas provenir de la même annihilation, mais assez petit pour que l'activité puisse être considérée constante. En effet, à activité constante, la probabilité de détecter de telles coïncidences est uniforme au cours du temps, puisqu'elles ne sont pas corrélées à l'annihilation d'un seul positon, mais résultent de l'annihilation de deux positons. Cette technique est la plus largement utilisée, et présente l'avantage de mesurer la distribution spatiale des coïncidences aléatoires. Cependant, la soustraction de cette distribution mesurée (par conséquent bruitée), a pour effet de

majorer le bruit. Il est possible de filtrer le sinogramme des événements fortuits pour réduire les fluctuations statistiques.

2. Elles peuvent être indirectement estimées à partir du nombre total de photons détectés par chaque détecteur. Dans ce cas, on utilise la relation

$$F_{d1,d2} = S_{d1} S_{d2} 2\tau$$

où

$F_{d1,d2}$ est le taux de coïncidences fortuites dans la LOR reliant les détecteurs d_1 et d_2 , S_{di} est le taux de détection simple (*singles*) dans le détecteur d_i , et τ est la largeur de la fenêtre de coïncidence. Ce taux est soustrait au taux de comptage de la LOR.

3. Enfin, elles peuvent être aussi corrigées en soustrayant un niveau constant, qui est estimé à partir de la distribution des coïncidences dans les projections, en dehors du patient. Cette méthode relativement simple à mettre en oeuvre, ne s'adapte pas aux variations locales des taux d'événements aléatoires observés dans des géométries complexes.

Coïncidences diffusées

Comme nous l'avons vu, une partie de ces coïncidences que l'on appelle coïncidences diffusées est éliminée en n'acceptant que les photons dont l'énergie, estimée par le détecteur, est supérieure à un certain seuil. Malheureusement, la discrimination entre photons diffusés et photons non diffusés est difficile, du fait de la faible résolution en énergie des détecteurs à scintillation (15 à 25% typiquement pour les systèmes commerciaux actuels). En mode 3D, ce taux peut excéder 50%. Au niveau des images, cela se traduit par une diminution du contraste, du rapport signal sur bruit, par une perte en résolution spatiale et une modification du nombre d'événements comptés par pixel. C'est certainement l'effet le plus difficile à corriger en TEP, surtout en mode d'acquisition 3D en raison de l'influence de l'activité en dehors du champ de vue.

On distingue trois catégories parmi les techniques de correction de cet effet :

1. Le premier type de techniques utilise l'information en énergie en combinant des données acquises dans au moins deux fenêtres en énergie. Ces méthodes validées dans des centres de recherches n'ont pas connu de développements sur des systèmes commerciaux, ceci en raison de la nécessité d'ouvrir plusieurs fenêtres en énergie, et des exigences en termes de calibration en énergie.
2. D'autres techniques exploitent l'information spatiale de localisation erronée des coïncidences diffusées. Ces méthodes ont l'avantage d'offrir un calcul simple et rapide de la distribution du

diffusé, valable dans le cas où l'activité est répartie dans tout l'objet. En revanche, ces algorithmes ne s'adaptent pas aux distributions complexes et à l'activité en dehors du champ de vue. Sur certains systèmes commerciaux, une correction systématique de bruit de fond réalise la soustraction simultanée des événements diffusés et aléatoires.

3. Les dernières méthodes se basent sur un calcul direct de la distribution du diffusé pour un patient donné, à partir de la section efficace de Klein-Nishina (Ollinger 1996) et/ou de simulations Monte Carlo (Levin, *et al.* 1995; Ljungberg and Strand 1990). Ces méthodes sont assez précises. En effet, l'information sur la détection de coïncidences diffusées provenant de sources radioactives en dehors du champ de vue des détecteurs est présente dans les acquisitions en corps entier. Elle présente en outre l'avantage de limiter le volume des données acquises par rapport aux acquisitions réalisées dans plusieurs fenêtres en énergie, et s'exécute en un temps compatible avec une reconstruction des données. Ce type de méthode est actuellement mis œuvre dans la dernière génération de caméra.

Atténuation tissulaire

L'atténuation est corrigée de manière directe en divisant les données par les facteurs d'atténuation $a(\text{LOR})$ mesurés pour chaque LOR lors de l'acquisition de transmission :

$$g_0(\text{LOR}) = g_{\text{mes}}(\text{LOR}) / a(\text{LOR})$$

Pour minimiser l'effet des erreurs de mesures sur les $a(\text{LOR})$, on applique souvent à ceux-ci un filtre passe-bas (Townsend, *et al.* 1989).

Géométrie, sensibilité et calibration

Ces phénomènes sont propres à l'architecture, aux composants et à l'organisation géométrique du systèmes de détection. Ils sont corrigés en blocs par une procédure de normalisation des sinogrammes.

Les procédures de normalisation dépendent du type de caméra, en particulier de sa géométrie. Elles varient également d'un constructeur à l'autre. On peut quand même distinguer deux approches pour déterminer les facteurs de normalisation :

- méthode directe

Les facteurs de normalisation des lignes de réponse sont obtenus par inversion des données acquises à partir d'une source irradiant uniformément toutes les lignes de réponse. Cela implique :

- que la source irradie uniformément toutes les lignes de réponse, pour tous les angles de projections,

- que la mesure soit réalisée pour chaque configuration d'acquisition (2D/3D).

Si ces conditions sont respectées, c'est la méthode qui permet la meilleure correction des données d'émission. Cette méthode est employée sur la caméra HR+ ((Casey and Hoffman 1986)).

- méthode indirecte

Les facteurs de normalisation sont déterminés à partir de mesures traitées par un modèle mathématique. Le facteur de normalisation N pour une ligne de réponse entre deux cristaux, indexés par leur numéro de couronne z et leur position dans la couronne n , peut être modélisé par le produit de l'efficacité intrinsèque des détecteurs ε et une fonction modélisant l'arrangement géométrique des détecteurs G .

$$N(n_1, z_1, n_2, z_2) = \frac{1}{\varepsilon(n_1, z_1) \cdot \varepsilon(n_2, z_2) \cdot G(n_1, z_1, n_2, z_2)} \quad \text{Eq. 7}$$

Avec cette méthode :

- Les facteurs géométriques G ne varient pas et peuvent être déterminés une fois pour toute.
- Les facteurs d'efficacité intrinsèques des détecteurs ε doivent être déterminés régulièrement du fait de la dérive de cette efficacité due à l'instabilité des photomultiplicateurs.
- Les mêmes facteurs peuvent être utilisés quel que soit l'échantillonnage des lignes de réponse dans le sinogramme, et donc de la configuration d'acquisition.
- Cependant, cette correction est approximative.

Temps mort

La méthode de correction du temps mort la plus utilisée consiste à calculer les facteurs (dt_k) pour chaque module de détection k , à partir de la quantité moyenne de photons simples enregistrés par seconde et par le module(s) au cours de l'acquisition ou frames temporelles (intervalles de temps). Le calcul découle d'une relation empirique entre taux de photons simples et facteur de temps mort. Dans le cas des scanners de la série HR+, la fonction est la suivante :

$$dt_k = 1 + A \times s + B \times s^2 \quad \text{Eq. 8}$$

Les constantes A et B sont déterminées expérimentalement pour chaque module.

L'activité du radioélément injecté décroît dans le temps. Pour une étude dynamique (multiframe) de 1h utilisant un traceur marqué au ^{11}C , l'activité diminue de moitié toutes les 20 minutes. Ainsi en fin d'examen, l'activité n'est plus qu'à 12,5% de l'activité initiale. L'analyse des données, qui inclut généralement l'étape de mesure de la concentration locale du traceur dans le temps, va être affectée par cette décroissance, et une partie de la variation observée en sera une conséquence. Afin que les données reconstruites ne rendent compte que de la variation biologique, et par conséquent de la concentration en traceur, une correction de la décroissance est réalisée afin de rapporter toutes les mesures de radioactivité au temps initial de l'acquisition.

L'ensemble de ces corrections constitue une étape essentielle pour la mise en oeuvre de la quantification des études.

I.2.3 Reconstruction

Il existe deux principales catégories d'algorithmes de reconstruction : la rétroprojection filtrée et la reconstruction itérative. La reconstruction 3D est coûteuse en terme de temps de calcul. Ceci est particulièrement vrai avec les méthodes itératives. Le surcoût de la reconstruction 3D par rapport à la reconstruction 2D est dû à l'augmentation de la taille des données brutes. Pour palier ce problème, des algorithmes de réarrangement des données 3D en données 2D ont été développés. Ces derniers permettent de bénéficier des avantages du mode de mesure 3D (sensibilité) tout en s'affranchissant du temps de reconstruction des données 3D. L'objectif de ces techniques est d'estimer un sinogramme droit (2D), qui correspond un angle d'inclinaison nul, à partir d'un ensemble de sinogrammes obliques. Les données réarrangées sont ensuite reconstruites par des algorithmes de reconstruction bidimensionnelle rapides et mieux maîtrisés. Les principaux algorithmes de réarrangement des données 3D en données 2D, à ce jour sont SSRB (single slice rebinning (Daube-Witherspoon and Muehllehner 1987)), MSRB (multi slice rebinning (Lewitt, *et al.* 1994)), FORE (Fourier rebinning (Defrise, *et al.* 1997)). L'algorithme FORE combiné à une reconstruction itérative OSEM constitue la méthode de reconstruction itérative la plus couramment utilisée en TEP car elle permet une reconstruction rapide des données 3D. Nous exposerons dans ce chapitre les formulations pour les cas de reconstruction 2D seulement.

PRINCIPES DE PROJECTION ET REPROJECTION

Projection

L'opération P de projection de la projection d'une distribution $f(x,y)$ - par exemple une image bi-dimensionnelle - selon un angle Φ peut s'écrire $p(r, \Phi)$. Pour chaque valeur de r , cette projection correspond à l'intégrale d'une ligne de l'image $f(x,y)$ dans la direction Φ . L'opération de projection peut donc s'écrire :

$$p(u, \Phi) = P(f(x, y)) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(x, y) dv \quad \text{Eq. 9}$$

où le couple (u, v) est donné par

$$\begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \Phi & -\sin \Phi \\ \sin \Phi & \cos \Phi \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u \\ v \end{bmatrix} \quad \text{Eq. 10}$$

Rappelons que dans le cas de la TEP l'intégrale d'une ligne d'un plan dans la direction Φ_i de l'espace est donnée par la ligne i du sinogramme correspondant. Le sinogramme est donc l'ensemble des projections de tous les plans 2D ou 3D rendus possibles par les LOR autorisées, dans toutes les directions considérées.

Les méthodes analytiques sont basées sur le principe de l'épandage ou rétroprojection des projections du sinogramme. Cette opération, dénotée RP, représente l'inverse de l'opération de projection. Elle permet d'obtenir l'image reconstruite f^* en fonction des projections p :

$$f^*(x, y) = RP(p(u, \Phi)) \quad \text{Eq. 11}$$

Rétroprojection simple, ou épandage

La première idée pour reconstituer la coupe tomographique à partir de l'ensemble des projections est d'épandre (ou de rétroprojeter) sur la portion de plan les valeurs de la projection. On fait l'hypothèse que la projection a été obtenue par une distribution uniforme par rapport à un axe perpendiculaire à l'axe de projection. On peut faire de même progressivement en sommant les différentes projections selon les différents angles de 0 à π selon la formule :

$$f^*(x, y) = \int_0^\pi p(u, \Phi) \quad \text{Eq. 12}$$

Au fur et à mesure des épandages, on voit s'ajouter sur la coupe, les zones où figurent de l'activité, mais également les résidus de l'épandage qui persistent dans les zones où n'existe aucune activité. Ces résidus constituent ce qu'on appelle les artefacts en étoile. Lorsque toutes les projections ont été effectuées, ces artefacts en étoile déforment énormément le résultat et il n'est pas possible d'obtenir une image correcte par simple rétroprojection. Pour obtenir une reconstruction tomographique, nous devons utiliser une méthode qui permette l'élimination de ces artefacts en étoile.

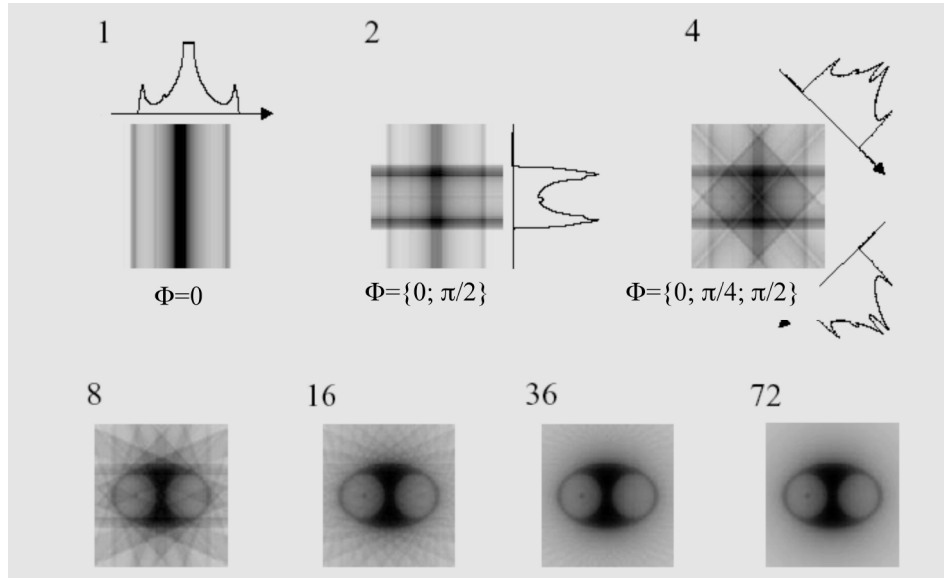


Figure 14
Epandage d'une
intégrale de ligne à
partir de 1, 2, 4, 8,
16 36 et 72
projection. L'image
se forme avec les
artéfacts en étoile,
caractéristique de
la rétroprojection

METHODE DE RETROPROJECTION FILTREE

La rétroprojection filtrée est une amélioration notoire de la rétroprojection qui repose sur le théorème de la coupe centrale .

Le théorème de la coupe centrale s'énonce ainsi :

La transformée de Fourier 1D d'une projection d'angle azimutal Φ correspond à la ligne de la transformée de Fourier 2D de l'image passant par l'origine, et d'angle Φ

Sous forme algébrique, le théorème s'écrit :

$$F_1\{p(u, \Phi)\} = F_2\{f(x, y)\} \quad \text{Eq. 13}$$

La transformée de *Fourier* étant inversible, on peut écrire :

$$f(x, y) = F_2^{-1}\{F_2\{f(x, y)\}\} \quad \text{Eq. 14}$$

En introduisant l'équation du théorème de la coupe centrale

$$f(x, y) = F_2^{-1}\{F_1\{p(u, \Phi)\}\} \quad \text{Eq. 15}$$

soit :

$$f(x, y) = \int_{-\infty}^{+\infty} P(v, \Phi) e^{i2\pi(x.v_x + y.v_y)} dv_x dv_y \quad \text{Eq. 16}$$

En faisant le changement de variable $v = \sqrt{v_x^2 + v_y^2}$ et $u = x.\cos\Phi + y.\sin\Phi$ le terme différentiel devient $dv_x dv_y = v dv d\Phi$, et les bornes d'intégration de la variable Φ deviennent 0 et π . L'équation précédente devient :

$$f(x,y) = \int_0^\pi \int_{-\infty}^{+\infty} P(v,\Phi) |v| e^{i2\pi v \cdot u} dv d\Phi \quad \text{Eq. 17}$$

L'intégrale interne $\int_{-\infty}^{+\infty} P(v,\Phi) |v| e^{i2\pi v \cdot u} dv$ n'est autre que la transformée de Fourier inverse de la transformée de Fourier de la projection, multipliée par la valeur absolue de v . Cette quantité est appelée une projection filtrée et est dénotée $\hat{p}(u,\Phi)$.

Ainsi, il est possible de reconstruire l'image $f(x,y)$ par :

$$f(x,y) = \int_0^\pi \hat{p}(u,\Phi) d\Phi \quad \text{Eq. 18}$$

qui n'est autre que la rétroprojection des projections filtrées.

Le principe de la rétroprojection filtrée nécessite de multiplier la transformée de Fourier des projections par la valeur absolue de v que l'on appelle filtre rampe. Ce filtre met à zéro la composante continue et introduit donc des valeurs négatives (la composante continue représente la moyenne du signal). Il amplifie de plus en plus les fréquences élevées et donc génère dans le signal des transitions rapides. En pratique, à partir d'un signal ponctuel ou non, le filtrage rampe introduit de part et d'autre de l'objet filtré des valeurs négatives. Le rôle de ces valeurs négatives est d'effacer progressivement les artefacts en étoile laissés par les autres projections lors de l'opération d'épandage. Il est possible d'éviter le calcul des transformées de Fourier des projections en utilisant le théorème de Plancherel qui spécifie que la transformée de Fourier d'un produit de convolution de deux fonctions est égal au produit simple de leur transformée de Fourier. Le filtrage rampe a pour inconvénient d'amplifier les hautes fréquences du signal. Pour réduire le bruit, le filtre Rampe est multiplié par une fenêtre dite d'apodisation, ou filtre passe-bas qui a pour effet de couper les hautes fréquences du filtre. Il existe de nombreuses fenêtres d'apodisation (Hanning, Hamming, Butherworth, ...) associées à des coupures plus ou moins brutales des hautes fréquences et par conséquent à un lissage plus ou moins important des coupes tomographiques. Le choix de la fenêtre peut s'avérer déterminant pour la quantification car elle conditionne à la fois la résolution spatiale et l'information quantitative contenue dans la coupe reconstruite. En résumé la rétroprojection filtrée fonctionne en 4 étapes. Pour chaque angle de projection Φ :

1. Transformation de Fourier de la projection $P(v,\Phi) = F_1\{p(u,\Phi)\}$ pour un Φ donné
2. Filtrage de la projection par le filtre rampe associé ou non à une fenêtre d'apodisation $\hat{P}(v,\Phi) = |v|P(v,\Phi)$
3. Transformation de Fourier inverse de la projection filtrée $\hat{p}(u,\Phi) = F_1\{\hat{P}(v,\Phi)\}$
4. Rétroprojection de la projection filtrée $f(x,y) = f(x,y) + \Delta\Phi \cdot \hat{p}(u,\Phi)$

Des étapes supplémentaires sont nécessaires à la reconstruction des données 3D, telles que le remplissage des données manquantes à partir des données existantes.

La rétroprojection filtrée présente l'avantage d'être rapide, facile et assez satisfaisante dans le cas de fixations de traceur relativement homogènes. Elle est en revanche connue pour amplifier le bruit statistique, inhérent aux données acquises. De plus, des artefacts en étoile sont générés par le filtre de reconstruction. Ces artefacts sont habituellement noyés dans le bruit.

METHODES ITERATIVES

L'émission et l'interaction d'un photon avec la matière sont régies par la statistique de Poisson. En tomographie par émission de positons, lorsque le nombre de coups enregistrés par projection est très faible, les méthodes de reconstruction de type Fourier sont inadaptées et fournissent des images souvent artefactées par l'inconsistance entre les projections. Pour contourner cette difficulté, on peut utiliser un algorithme itératif du type maximum de vraisemblance (Maximum Likelihood) développé par Shepp et Vardi (Shepp and Vardi 1982). Cette méthode utilise le fait que les données de projection p_k obtenues en TEP sont des variables aléatoires de Poisson de paramètres $\bar{p}_k$. L'expression de la vraisemblance de l'image f à maximiser est donc la suivante :

$$\text{prob}(p/f) = \prod_k e^{-\bar{p}_k} \frac{\bar{p}_k^{p_k}}{p_k!} \quad \text{Eq. 19}$$

Le schéma itératif (Figure 15) donnant l'estimation de l'image f à l'itération $n + 1$ en fonction de l'estimation précédente et des données mesurées est donné par

$$f_{n+1} = f_n \times s_n \quad \text{avec} \quad s_n = RP\left(\frac{p_k}{P(f_n)}\right) \quad \text{Eq. 20}$$

Où P est l'opérateur de projection et RP l'opérateur de rétroprojection. Le processus itératif commence à partir d'une image uniforme, à partir de laquelle une projection $P(f_0)$ est réalisée pour obtenir un sinogramme estimé.

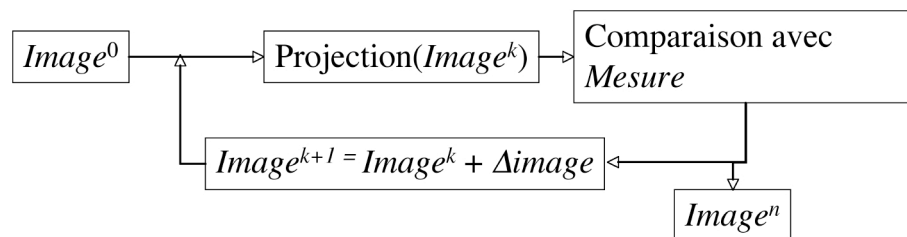


Figure 15
Principe de la
reconstruction
itérative

La rétroprojection du rapport entre le sinogramme mesuré et le sinogramme calculé produit une image de correction s_n , multipliée à l'estimation initiale et fournit l'itération suivante. L'algorithme se rapproche donc d'une technique de reconstruction algébrique (ART) multiplicative. A chaque itération la vraisemblance de l'image augmente et converge vers un maximum global. Avec cette technique, le nombre total de coups estimés dans l'image correspond au nombre de coups détectés dans les projections (auto-normalisation). De plus, elle assure la positivité des valeurs estimées pour chaque pixel. Les inconvénients de cette méthode sont cependant :

- la lenteur de la convergence et sa non-uniformité
- la propagation du bruit
- l'absence de critère objectif pour stopper le processus itératif

Pour palier ces inconvénients, on peut utiliser la technique des sous-ensembles ordonnés de projections (Ordered Subset Expectation Maximization, OSEM) développé par Hudson et Larkin (Hudson and Larkin 1994). Cet algorithme accélère la convergence proportionnellement à nombre de sous-ensembles utilisés. Pour limiter la propagation du bruit, on peut utiliser des techniques de régularisation qui forcent la résolution du système à être uniforme, ce qui permet d'augmenter le nombre d'itérations et permet donc d'atteindre la convergence pour des fréquences plus élevées. Alternativement, on peut lisser les projections *a priori* pour imposer une fréquence de coupure similaire à celle de la rétroprojection qui correspondrait à la statistique du problème. L'absence de fréquences supérieures à une limite choisie permet d'obtenir la convergence dans tout le domaine fréquentiel en un nombre fini d'itérations. Finalement on peut lisser les images *a posteriori* pour augmenter la corrélation entre les pixels. Comme cette technique de reconstruction est non linéaire, les résultats ne sont pas rigoureusement équivalents, mais suffisamment proches pour leur utilisation pratique.

1.2.4 Correction des images

L'image TEP reconstruite est le fruit d'une série d'opérations de traitement visant à reconstituer un volume tridimensionnel de la distribution d'une radioactivité. Ces opérations intègrent des corrections fondées sur la physique du phénomène enregistré, qui prennent en compte la performance et la configuration des composants du système de détection, et se terminent par une opération finale de reprojection : l'objectif de ces opérations est de conserver la quantité et la nature du signal recueilli. Néanmoins, certaines sources limitant la qualité du signal ne sont pas intégrées dans cette chaîne. En particulier, l'organe imagé est considéré comme immobile, ce qui n'est pas le cas malgré les systèmes de contention utilisés pour limiter les mouvements de la tête du sujet dans les acquisitions cérébrales par exemple. Ces mouvements de l'organe sont source de bruit qui se traduit dans l'image par un flou (perte de résolution) et par un biais de quantification.

Par ailleurs, on peut noter dans les mesures de performance d'un imageur (norme NEMA, Brix, *et al.* 1997; Daube-Witherspoon, *et al.* 2002) que la résolution finale mesurée dans l'image reconstruite est inférieure à la résolution intrinsèque du système de détection. Il est donc concevable et parfois nécessaire de prévoir au niveau de l'image une chaîne de traitements complémentaires intégrant des améliorations de la qualité de l'image.

MOUVEMENT

La qualité des données issues des tomographes par émission de positons peut être sévèrement affectée par les mouvements du patients durant l'acquisition des données. Premièrement, les décalages spatiaux entre frames temporelles d'émission altèrent la forme des courbes d'activités temporelles mesurées sur chaque voxel ou dans les régions d'intérêts. Ces biais affectent la quantification des paramètres physiologiques estimés par la modélisation des cinétiques (voir paragraphe 1.4). De même, un mauvais alignement entre données d'émission et de transmission entraîne des erreurs additionnelles lors de la correction de l'atténuation des frames d'émission.

Deux approches ont été explorées pour corriger les données TEP des conséquences de ces mouvements. La première consiste à mesurer ces mouvements lors de l'enregistrement des données à l'aide d'un système optique externe, et d'utiliser ces mesures pour réaligner les données avant la reconstruction. L'idée consiste à former les sinogrammes d'émission à partir des données brutes enregistrées au format mode liste et en tenant compte des mouvements détectés (Bloomfield, *et al.* 2003; Buhler, *et al.* 2004; Montgomery, *et al.* 2006). Bien qu'attrayante, puisqu'elle permet la correction intra- et inter-frame, cette méthode nécessite l'installation d'appareils supplémentaires, et le développement d'algorithmes dédiés pour la création des sinogrammes corrigés. En outre, cette approche ne permet pas la correction rétroactive de données. Les méthodes de correction algorithmiques, cherchant à réaligner chaque frame d'émission sur une cible, constituent la seconde catégorie de correction, et du fait de leur simplicité d'implémentation, elles sont plus utilisées.

Cette deuxième classe de méthode que nous avons utilisée, repose sur des algorithmes itératifs comprenant

- une phase d'initialisation, ou image *source* et image *cible* sont définies, et la transformation recherchée est initialisée,
- une phase d'optimisation basée sur un algorithme de minimisation d'une fonction de similarité,
- un critère d'arrêt des itérations,
- l'application de la transformation à l'image source.

Les méthodes de recalage varient par le choix des types de transformation applicables, des algorithmes d'optimisation, de la métrique de similarité et

des critères d'arrêt. Il s'avère que les recalages les plus efficaces en TEP multiframe sont les méthodes basées sur un critère de similarité appartenant à la classe des critères conservant l'intensité, ou tout au moins considérant une relation linéaire entre les intensités des images à recalcr. C'est de cas de la somme des différences au carré (SDC), du coefficient de corrélation (Brown 1992) mis en application dans (Andersson and Thurfjell 1997; Andersson 1998), d'une variant de la SDC proposé par (Alpert, *et al.* 1990), du critère de Woods (Woods, *et al.* 1992) et de ses variantes. L'introduction de la notion d'information mutuelle (Collins, *et al.* 1998) et l'information mutuelle normalisée (Studholme, *et al.* 1998) a permis d'assurer la robustesse des critères de similarité qui résistent à la dispersion d'intensité même en cas de recalage multimodal. Ces critères sont calculés à partir de l'histogramme conjoint des deux images, dans l'objectif de réduire la dispersion de cet histogramme. On trouve dans un article de Jenkinson et Smith une évaluation de la robustesse de ces critères dans les différents cas de recalage rigide et affine permettant d'optimiser le choix d'une métrique adéquate selon les applications (Jenkinson and Smith 2001).

Les algorithmes d'optimisation ont pour but de proposer la stratégie de recherche de minima du critère de similarité. Les méthodes standard du simplex ou de Powel sont fréquemment utilisées dans les méthodes de recalage (Alpert, *et al.* 1990; Collins, *et al.* 1994) mais ont le défaut de pouvoir converger parfois vers des minima locaux sub-optimaux, dépendant de la position initiale des deux images. Les algorithmes dits « de descente de gradient » (quasi-Newton, Levenberg-Marquardt) permettent de construire rapidement une suite d'approximations de la solution pour laquelle on est pratiquement certain que la valeur du critère de similarité diminue à chaque itération. Ils supposent néanmoins de savoir dériver la mesure de similarité. Ils ont été employés avec profit par (Maes, *et al.* 1999), dans le logiciel AIR (Automated Image Registration, (Woods, *et al.* 1998a; Woods, *et al.* 1998b), et dans le logiciel SPM (Ashburner and Friston 1997), en utilisant les techniques d'intégration d'équations aux dérivées partielles pour résoudre l'équation d'Euler-Lagrange associée au problème de minimisation.

En pratique le recalage basé sur le critère de Woods (Woods, *et al.* 1998a) ou coefficient de corrélation (Andersson 1998; Ashburner and Friston 1997; Collins, *et al.* 1998) est satisfaisant, mais dépendant de la statistique de comptage de l'image (donc de la durée des frames), et surtout de la qualité de la correction de l'atténuation. En effet, comme cette correction dépend également du mouvement potentiel entre la mesure de transmission et la mesure d'émission, nous verrons qu'une méthode plus efficace a été récemment proposée (Sechet, *et al.* 2002), et assure une amélioration de la quantification de paramètres de fixation d'un traceur évalué par TEP.

EFFET DE VOLUME PARTIEL

L'effet de volume partiel (EVP) est la conséquence de la résolution spatiale limitée du système de détection et de l'échantillonnage choisi. En effet, en termes de traitement du signal, la formation d'une image peut être vue comme la convolution spatiale de l'objet imagé f par la fonction de transfert de l'imageur h .

$$g(x,y,z) = f(x,y,z) \otimes h(x,y,z) + b(x,y,z) \quad \text{Eq. 21}$$

Dans cette équation, le bruit dû au processus d'acquisition et de reconstruction est modélisé par une fonction b qui s'ajoute au produit de convolution de la distribution f par la fonction de réponse impulsionnelle h du système d'acquisition (Pulse Response Function, PSF).

Le lissage spatial introduit par h induit une diminution de la qualité visuelle de l'image qui se traduit par un recouvrement spatial des différentes structures imagées. Cet effet induit une sous-estimation de la concentration dans les petites structures (*spill-out effect*) puisque sur l'image finale, une partie de l'activité se trouve située en dehors de la structure du fait de la résolution spatiale du système. En dehors de la structure, l'effet de volume partiel entraîne une surestimation des concentrations due à la contamination des structures voisines (*spillover effect*). Ces effets sont représentés par la Figure 16 montrant le vrai signal et le signal détecté en TEP.

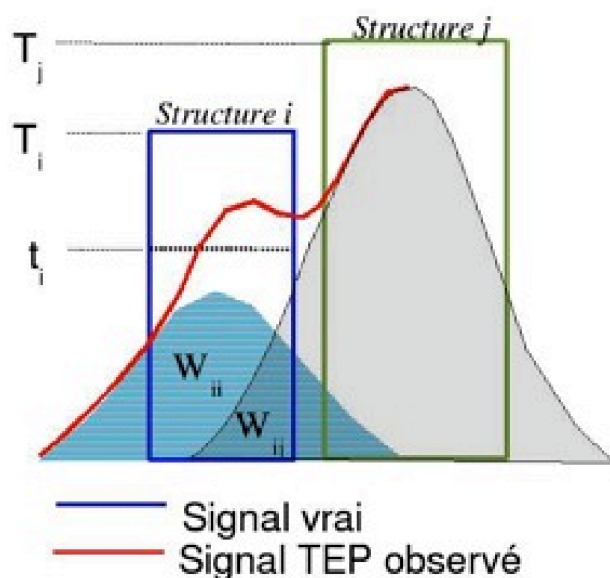


Figure 16
Effet de la résolution - L'image des structures i et j d'activité réelle T_i et T_j donne à l'emplacement de i , une activité résultante t_i , composée d'une fraction de la vraie activité ($w_{ii} \cdot T_i$) et d'une contamination ($w_{ij} \cdot T_j$).

Les biais de quantification observés sont fortement dépendants de la taille des structures émettrices et de la résolution spatiale du système. L'effet de volume partiel se traduit par une sous-estimation des concentrations radioactives mesurées pour toutes les structures dont la taille est inférieure à deux ou trois fois la résolution spatiale du système (Hoffman, *et al.* 1990).

En TEP cérébrale, l'effet de volume partiel se traduit notamment par :

- une contamination des régions cérébrales de forte radioactivité sur les régions cérébrales de faible radioactivité, comme à l'interface entre matière grise et matière blanche,
- une mesure de radioactivité abaissée dans les structures cérébrales de faible volume comme les noyaux gris centraux, l'amygdale, les noyaux du raphé.

Pour pouvoir effectuer une comparaison de valeur de fixation d'un traceur indépendamment de la taille de la structure cérébrale, (notamment en cas de lésion ou d'atrophie), il est nécessaire de procéder à une correction de l'effet de volume partiel (EVP) (Aston, *et al.* 2002). Ce phénomène peut entraîner des distorsions des courbes d'activités temporelles, avec des erreurs allant jusqu'à 50% (Rousset, *et al.* 1998).

Correction de l'effet de volume partiel

Plusieurs méthodes de correction ont été mises au point.

La plus ancienne est basée sur la déconvolution de l'image par la fonction de réponse du tomographe estimée par mesure sur fantôme (Kessler, *et al.* 1984) ou par simulation (Videen, *et al.* 1988). Le problème réside dans le fait qu'il y a une amplification inacceptable du bruit dû à la restauration des fréquences spatiales élevées. Pour éviter ce phénomène, l'opération de déconvolution est limitée à une certaine bande de fréquences et implique une perte de l'information.

Le deuxième type d'approche s'effectue dans le domaine spatial. Connaissant la fonction de réponse h de l'imageur dans le domaine spatial et les contours des objets fixants dans l'image f (déterminé au moyen d'une image anatomique IRM ou TDM recalée sur la TEP), il est possible de restituer une image corrigée de l'effet de volume partiel. Cette méthode, connue sous le nom de Geometric Transfer Matrix (GTM). Elle a été initialement proposée pour corriger uniquement de la contamination entre matière blanche et matière grise (Labbe, *et al.* 1996; Muller-Gartner, *et al.* 1992), puis s'est généralisée pour prendre en compte de l'ensemble des structures émettrices de cinétique différente. Cette forme a été proposée par (Rousset, *et al.* 1998) et implémentée pour des données TEP 2D, puis en 3D (Frouin, *et al.* 2000; Reilhac, *et al.* 2000). La correction se déroule en 4 étapes :

1. L'IRM du patient est segmentée en autant de structures i que l'image TEP présente de contrastes différents.
2. L'acquisition TEP de chaque structure i est simulée à l'aide d'une méthode analytique.
3. Les interactions géométriques entre le système TEP et la carte des structures (facteurs w_{ij} de la figure) sont déterminées à l'aide des images simulées, créant ainsi la matrice de transfert géométrique $GTM = [w_{ij}]$.

4. Enfin, les courbes d'activité temporelles sont mesurées (t_i) et corrigées de l'effet de volume partiel à l'aide de facteurs dérivés des interactions géométriques selon :

$$[T_i] = [w_{ij}]^{-1} \cdot [t_i] \quad \text{Eq. 22}$$

L'efficacité de cette technique repose sur la précision du recalage multimodal de l'IRM ou du TDM sur le volume TEP et de la qualité de la segmentation des structures. Nous verrons dans le chapitre III la mise en œuvre, la validation et l'évaluation de cette technique dans le cas de mesure des paramètres de fixation d'un traceur cérébral sur des structures anatomiques atrophiées.

I.3 Traceurs TEP et fonctions

I.3.1 Notion de traceurs

Un traceur est un composé chimique incorporé dans l'organisme, aisément identifiable par des méthodes physico-chimiques, permettant de suivre les déplacements de matières dans une réaction chimique ou dans l'environnement, sans pour autant influencer cette réaction. Par définition donc le traceur, injecté en quantité infinitésimale (trace), ne doit pas se comporter comme agent pharmacologique déclencheur d'une réaction de l'organisme. Le traceur se comporte comme une sonde qui a la propriété de contenir un élément détectable par une mesure physique. En TEP, cet élément détectable est l'atome émetteur de positons (Tableau 1) qui marque la sonde.

EMETTEURS DE POSITONS POUR LA TEP

Les isotopes émetteurs de positons les plus utilisés en TEP peuvent être répartis en trois groupes, en fonction de leurs caractéristiques physiques et de leur période radioactive.

Les radio-isotopes à demi-vie courte appartiennent au premier groupe, c'est le cas de l'oxygène 15 (^{15}O), l'azote 13 (^{13}N) et le carbone 11 (^{11}C) dont les périodes respectives sont de 2, 10 et 20 minutes. Ils sont très utilisés en TEP et permettent le marquage d'un grand nombre de molécules. Compte tenu de leur courte durée de vie, leur production ainsi que la synthèse du traceur doivent être réalisées rapidement et à proximité du lieu de réalisation des examens TEP. Ces productions et manipulations de traceur nécessitent la présence d'une équipe technique compétente et qualifiée composée de radiochimistes, de radiopharmaciens, de biologistes, d'ingénieurs et de médecins.

On trouve dans le second groupe, les émetteurs dont la période varie de une à plusieurs heures. Dans ce cas, la production et le marquage peuvent être réalisés par un laboratoire radio pharmaceutique distant et disposant d'un cyclotron. Le traceur est alors ensuite distribué aux différents centres disposant d'un imager TEP. L'isotope le plus utilisé dans ce groupe est le Fluor 18 (^{18}F) d'une durée de vie de 109,8 minutes.

La troisième catégorie regroupe les isotopes de durée de vie longue comme le germanium 68 (^{68}Ge) de période respective 271 jours; ils sont utilisés en TEP non pas sous forme de traceurs, mais sous forme de source de positons externe dans les caméras TEP pour la calibration, la normalisation et les mesures d'atténuation tissulaire des données.

TRACEURS TEP

Parmi les composés chimiques utilisés comme traceurs TEP, on peut distinguer cinq grandes catégories :

- Les substances endogènes marquées, comme l'eau marquée à l'oxygène 15. Ces molécules sont naturellement présentes dans l'organisme. Le marquage par un isotope émetteur de positons est possible et n'affecte pas leur site fonctionnel, elle se comporte donc comme l'élément endogène.
- Les analogues de substances endogènes marquées, comme le Fluoro-désoxy-glucose marqué au fluor 18 ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$), analogue du glucose endogène. Ces substances se comportent comme la molécule endogène du point de vue de leur site actif ou de leur métabolisme, dans la limite de leur similitude avec la molécule endogène.
- Les molécules présentant une affinité pour un système de neurotransmission, comme le raclopride marqué au carbone 11 ($[^{11}\text{C}]\text{Raclopride}$) par exemple, choisi pour son affinité sélective pour le récepteur dopaminergique D_2 . Le Raclopride n'est pas un analogue de la dopamine, mais possède un site actif pouvant s'associer au récepteur D_2 . Ces traceurs sont utilisés en réceptologie.
- Les marqueurs d'enzymes comme le deprenyl marqué au carbone 11 ($[^{11}\text{C}]\text{Deprenyl}$). Ils sont composés d'une molécule dont la métabolisation engage une enzyme particulière qui se trouve ainsi tracée.
- Les marqueurs de gène rapporteur. Ils ciblent, par exemple, une protéine générée par l'expression d'un gène rapporteur, introduit dans l'organisme en vue de d'une thérapie génique. On peut citer le $[^{18}\text{F}]\text{FGCV}$, ou Ganciclovir marqué au fluor 18. Ce traceur marque de la kinase virale créée par le gène HSVtk que l'on introduit dans les tumeurs. Cette kinase est la seule capable d'exprimer ce gène générant l'enzyme destructrice.

Ces marqueurs permettent de suivre de façon non invasive un phénomène endogène sans le perturber, et offrent la possibilité de localiser ce phénomène et de le quantifier avec une précision nano-, voire pico-molaire (Heiss and Herholz 2006). Il s'agit là de l'aspect fondamental et inégalable de la TEP qu'aucune technique d'imagerie à ce jour ne permet de réaliser.

Néanmoins les conditions que doit remplir un traceur de TEP sont chimiquement, physiquement et biologiquement très contraignantes, ce qui explique la difficulté de leur mise au point.

CONDITIONS D'UN TRACEUR TEP

L'article de revue de (Mason and Mathis 2003) présente clairement les contraintes radiochimiques et biologiques imposées par la fabrication et l'utilisation d'un traceur de TEP. Elles sont les suivantes :

Le marquage doit être chimiquement possible par un émetteur de positons.

Un site récepteur de la molécule doit pouvoir accueillir un ^{13}N , un ^{11}C un ^{18}F . Les composés méthyles sont par exemple de bons candidats pour un marquage au carbone 11.

Le marquage doit être stable.

Le lien chimique entre l'isotope et la molécule traceuse doit résister aux réactions chimiques possibles lors de l'injection dans le sang et doit, au minimum, durer le temps d'utilisation du traceur, c'est-à-dire plusieurs heures parfois.

Le marquage ne dégrade pas le site actif de la molécule.

La présence de l'isotope ne doit en effet pas modifier les propriétés du site actif pour lequel la molécule traceuse a été choisie.

La molécule marquée doit passer la barrière hémato-tissulaire.

La molécule doit pouvoir être librement perfusée à travers les tissus. De plus cet échange doit être rapide pour ne pas devenir une étape limitante dans l'utilisation de la molécule par l'organisme.

La toxicité de la molécule doit être nulle.

Cette propriété est vérifiée aux doses injectées, c'est-à-dire en général à des doses très faibles, loin de toute toxicité avérée.

La cinétique de dégradation ne doit pas être trop rapide.

Le processus de métabolisation doit laisser à la molécule la possibilité d'être transportée aux sites récepteurs et doit permettre que les équilibres de fixations se produisent.

Les métabolites marqués doivent être rapidement éliminés.

De plus pour ne pas interagir sous une forme dégradée avec d'autres molécules de l'organisme (protéines), il est nettement préférable que les métabolites ne franchissent pas la barrière hémato-tissulaire,

Le traceur doit présenter une affinité suffisante pour son récepteur.

Ceci afin de ne pas être masqué par les molécules endogènes.

Le traceur doit présenter des faibles liaisons non-spécifiques.

Que ce soit dans les tissus cibles ou dépourvus de récepteurs, les fixations non-spécifiques doivent être minimales et de cinétiques rapides.

La molécule ne doit pas provoquer d'effet pharmacologique.

Il est préférable qu'elle soit antagoniste, agoniste partiel ou en tout cas agoniste sans effet notoire aux doses délivrées.

Sur des centaines de marquages de molécules réalisés au carbone 11, oxygène 15, fluor 18 ou Azote 13 dans les tentatives de création de nouveaux traceurs, peu ont survécu aux phases de sélection drastique imposées par les conditions énoncées. Néanmoins certains traceurs ne remplissant pas la totalité de ces conditions sont utilisés en imagerie TEP. En général, cette utilisation, qui fournit une visualisation adéquate du phénomène cible visé, se fait au détriment de la quantification. C'est la raison pour laquelle même sur un système bien exploré comme le récepteur dopaminergique D₂, on trouve une certaine redondance de traceurs, la faiblesse de l'un étant palliée par un autre. Exemples : [¹¹C]Pe2i et [¹¹C]CFT pour les transporteurs de la dopamine, [¹¹C]NMSP, [¹¹C]FESP, [¹¹C]Raclopride et [¹¹C]Fallypride pour le récepteur D₂ (Elsinga, *et al.* 2006; Thobois, *et al.* 2001).

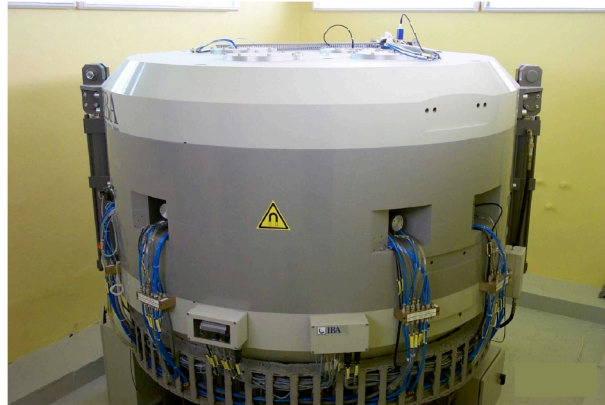
Isotope	Période min	Cible et réaction	Forme chimique
¹⁵ O	2	¹⁴ N(d,n) ¹⁵ O	¹⁵ O ₂ , C ¹⁵ O, H ₂ ¹⁵ O, C ¹⁵ O ₂
¹³ N	10	¹⁶ O(p,α) ¹³ N	¹³ N ₂ , ¹³ NH ₃
¹¹ C	20	¹⁴ N(p,α) ¹¹ C	¹¹ CO, ¹¹ CO ₂ , ¹¹ CH ₄ , ¹¹ C ₂ H ₂
¹⁸ F	110	²⁰ Ne(d,α) ¹⁸ F	H ¹⁸ F, ¹⁸ F ₂
¹⁸ F	110	¹⁸ O(p,n) ¹⁸ F	¹⁸ F ⁻

Tableau 3 - Isotopes émetteurs de positons utilisés en TEP et méthode de production

1.3.2 Production radiochimique et radiopharmaceutique

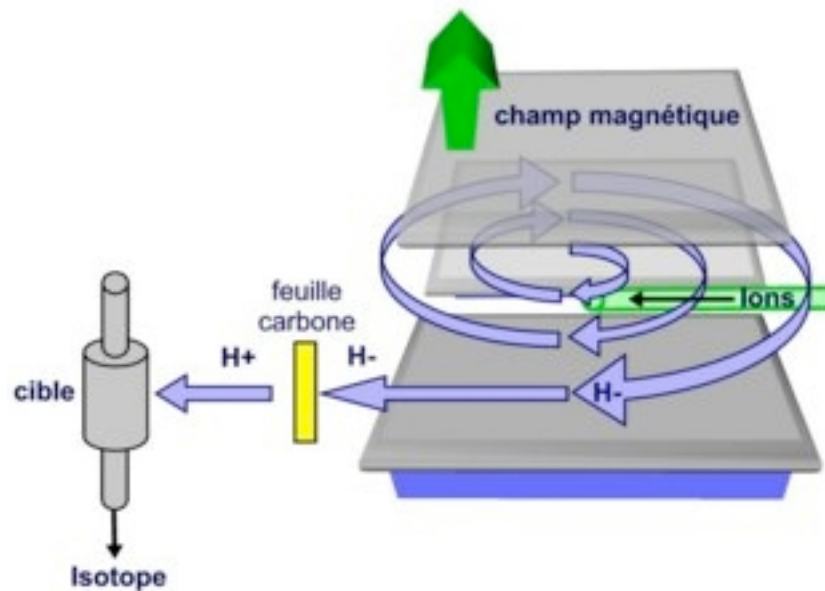
La chaîne de synthèse débute par la production des isotopes émetteurs de positons à demi-vie courte, ce qui nécessite la présence d'un cyclotron sur le site (Figure 18).

Figure 18
Cyclotron installé
au CERMEP, IBA
18/9 Cyclone (Ion
Beam Application,
Louvain-la-Neuve,
Belgique).



Plusieurs machines très différentes permettent d'accélérer des particules légères à des énergies suffisantes pour créer, par bombardement de cibles, ces isotopes. Le cyclotron est un accélérateur de particules qui utilise la combinaison d'un champ magnétique (circularisation de la trajectoire), d'un champ électrique (accélération électrostatique) et d'une radiofréquence (synchronisation des accélérations).

Figure 17
Principe du
cyclotron,
accélérateur
circulaire de
particule protons et
deutons



Le cyclotron du CERMEP (Figure 18) produit des faisceaux de protons et de deutons, à des énergies de 18 et 9 MeV (très inférieures aux énergies de la physique nucléaire). Le bombardement de noyaux ciblés par les particules accélérées va créer des isotopes excédentaires en protons, isotopes émetteurs de positons à très courte période (Figure 17). Le CERMEP produit 4 isotopes, ^{15}O , ^{11}C , ^{18}F et ^{13}N . Le Tableau 3 donne les réactions nucléaires de production de ces isotopes.

La radioactivité ainsi produite est incorporée dans la molécule traceuse par une synthèse réalisée en cellule blindée, milieu confiné protégeant de la radioactivité. Dans la mesure du possible les synthèses sont réalisées par des automates (Figure 19) ce qui permet de limiter l'intervention humaine et assurer la reproductibilité de la pureté et du rendement de la radiosynthèse. Par ailleurs, la fabrication de ces molécules injectables à l'homme suit les règles de l'industrie pharmaceutique et se réalise dans un environnement contrôlé de type salle blanche.

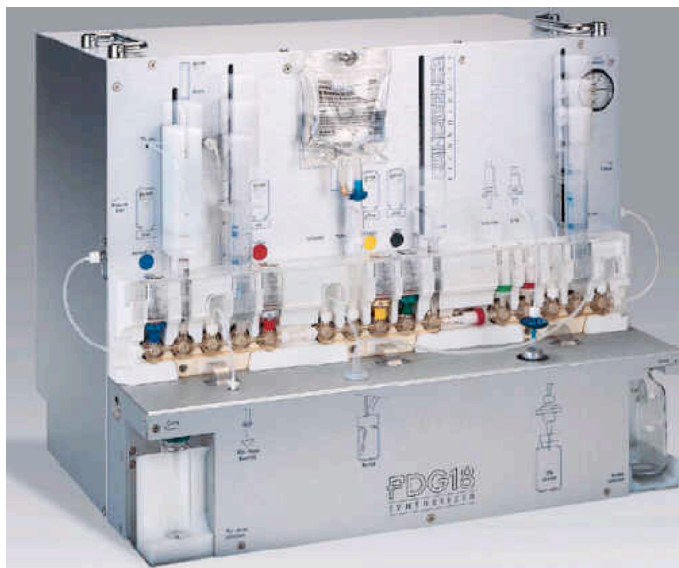


Figure 19
Automate de
synthèse
radiochimique

La salle blanche est une pièce à atmosphère et à empoussièrement contrôlés, en légère surpression par rapport à l'extérieur. Tous les produits entrants sont soumis à des conditions d'hygiène et de stérilité très strictes. Tout au long des diverses opérations (synthèse par automates, répartition en flacons...), des filtres assurent une hygiène parfaite. L'ensemble des paramètres climatiques de la salle blanche (température, pression, hygrométrie, particules) est mesuré, analysé et archivé. La traçabilité de chaque lot produit est donc assurée conformément aux normes de l'industrie pharmaceutique (Bonnes Pratiques de Fabrication).

Le traceur produit subit finalement un contrôle de qualité qui va déterminer et vérifier ses caractéristiques, autorisant son injection au sujet.

I.3.3 Fonctions et traceurs

Les grands types de fonctions que la TEP peut explorer rejoignent la classification que nous avons établie sur les grandes catégories de traceurs. La base de données en ligne MICAD constituée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) au sein du National Institutes of Health (NIH) recense aujourd'hui 152 traceurs TEP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=micad.TOC>).

Pour chacun d'entre eux une carte d'identité donne un commentaire et la bibliographie de :

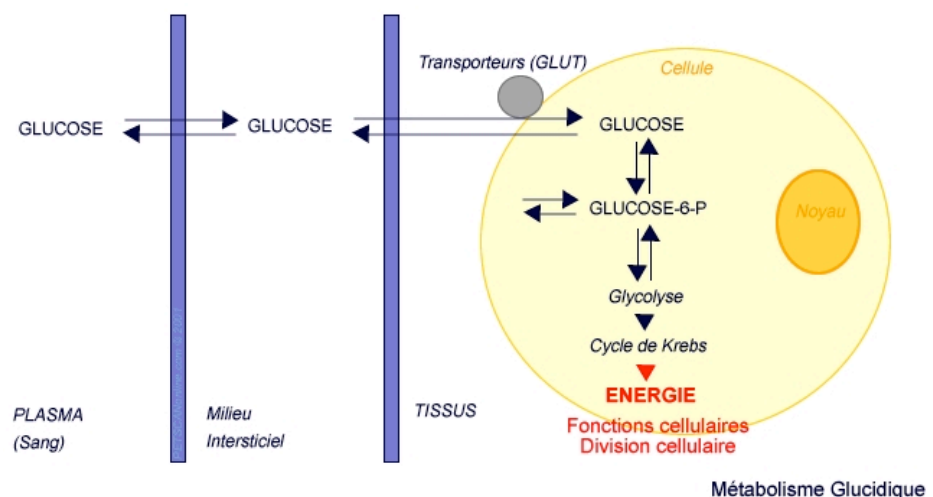
- la structure chimique du traceur et de son marqueur,
- la voie de synthèse radiochimique,
- les expériences *in vitro* réalisées,
- les expériences *in vivo* réalisées chez l'animal
- les expériences *in vivo* réalisées chez l'Homme

Cette base de données, continuellement mise à jour, est une référence. Elle met en évidence que l'utilisation d'une petite dizaine de traceurs dans un usage clinique et une trentaine dans un usage régulier en recherche représente une faible proportion des sondes radiochimiques effectivement testées mises au point à ce jour.

METABOLISME ET DEBIT SANGUIN

L'application principale de la TEP dans son utilisation clinique est l'exploration du métabolisme glucidique grâce au $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, analogue du glucose. Lors de sa métabolisation par le cycle de Kreps, le glucose est phosphorylé par l'enzyme hexokinase et dégradé en glucose-6-P avant sa dégradation complète dans la glycolyse et son utilisation énergétique (Figure 20). A la différence du glucose original, la dégradation du FDG est stoppée à l'étape FDG-6-P et s'accumule donc dans la cellule (Figure 21). Empruntant le même transporteur membranaire, le glucose et le FDG ont les mêmes caractéristiques de perfusion et de transport dans la cellule, la quantité accumulée de FDG-6-P est relative à la quantité réellement consommée par la cellule. Ainsi le $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ est un traceur direct de la consommation de glucose.

Figure 20
Métabolisme du
glucose dans le
cellule



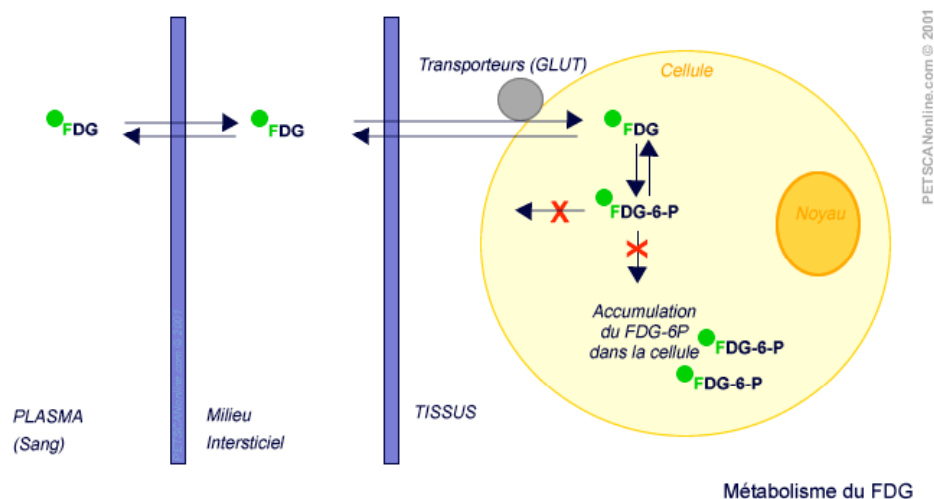


Figure 21
Métabolisme du
Fluorodésoxygluco
se bloqué dans la
cellule à l'étape
FDG-6-P

De nombreux autres métabolismes peuvent être tracés en TEP, on citera entre autres le $[^{11}\text{C}]$ Acetate, marqueur du métabolisme oxydatif, utilisé en cardiologie (Brown, *et al.* 1987) et en détection tumorale, notamment pour le cancer de la prostate (Dimitrakopoulou-Strauss and Strauss 2003). La $[^{18}\text{F}]$ Fluorothymidine permet de tracer la prolifération cellulaire (Been, *et al.* 2004; Krohn, *et al.* 2005) ; la synthèse protéique est tracée par la $[^{11}\text{C}]$ Methionine ou la $[^{18}\text{F}]$ fluoroethyl-L-tyrosine ($[^{18}\text{F}]$ FLT) (Weber, *et al.* 2000). Le champ d'examen et l'affinage des métabolismes spécifiques constituent aujourd'hui des applications cliniques potentielles de la TEP. En effet la sensibilité de détection d'anomalies du métabolisme peut être renforcée par une spécificité accrue grâce différents traceurs. On citera par exemple le $[^{18}\text{F}]$ NaF qui augmente la sensibilité de détection des métastases ostéolitiques et ostéoblastique (Schirrmeister, *et al.* 1999), la $[^{18}\text{F}]$ Dopa qui, dans l'évaluation des tumeurs carcinoïdes, permet d'affiner le diagnostic et de prédire l'efficacité d'un traitement (Koopmans, *et al.* 2006).

Perfusion et débit sanguin local ont été parmi les premières applications de la TEP. D'une part, en cardiologie, notamment avec la $[^{13}\text{N}]$ Ammoniaque (Hutchins 1997) mais également avec la simple molécule d'eau marquée à l'oxygène 15 ($[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$). Cette dernière molécule traceuse a remporté un succès important entre les années 80 et 90 : la plupart des études d'activation cérébrale ont en effet utilisé la méthode du débit sanguin cérébral régional (DSCr) à l' $[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ comme reflet de l'activité synaptique (Frackowiak, *et al.* 1980; Jueptner and Weiller 1995), avant l'avènement de la méthode BOLD (blood oxygène level dependant) en IRM fonctionnelle.

RECEPTOLOGIE

L'article de revue (Heiss and Herholz 2006) présente une synthèse générale des grandes fonctions de neurotransmissions explorables à ce jour par la TEP. Par ailleurs (Laruelle, *et al.* 2002) en fixe les objectifs, les principes et les limites. Le travail présenté dans cette thèse s'inscrit fondamentalement dans ce cadre, mais le restreint, en termes d'applications, au sous-système sérotoninergique 5_{HT1A} .

À titre d'illustration, l'exemple de l'exploration du système de neurotransmission dopaminergique avec la TEP, exposé dans (Elsinga, *et al.* 2006) et (Ravina, *et al.* 2005), montre la nécessité d'aborder l'étude d'un même système avec de multiples traceurs.

En effet, pour le cas de la transmission dopaminergique, le système est complètement caractérisé par des traceurs :

- du niveau présynaptique avec les marqueurs de synthèse [¹⁸F]L-DOPA et [¹⁸F]dopamine, du transporteur avec le [¹¹C]β-CIT ou le [¹¹C]WIN35428,
- du niveau synaptique avec le [¹¹C]deprenyl, marqueur inhibiteur de la monoamine oxydase B (MAO-B), enzyme responsable de la dégradation de la dopamine extracellulaire,
- du niveau postsynaptique avec les marqueurs du sous-récepteur D1, le [¹¹C]SCH23390 et du sous-récepteur D2, le [¹¹C]raclopride, le [¹¹C]methyl-spiperone et le [¹¹C]nemonapride (Ishiwata, *et al.* 1999). Ces marqueurs divergent dans leur affinité pour le récepteur D2, et pourront donc être employés à des fins différentes en fonction du besoin de quantification de récepteur (traceur de forte affinité) ou de mise en évidence des variations de dopamine endogène (traceurs de faible affinité).

En dehors des études physiopathologiques des systèmes de neurotransmission, les traceurs TEP permettent l'étude des médicaments et drogues exogènes et de leurs interactions (Hartvig, *et al.* 2002; Talbot and Laruelle 2002).

Le chapitre I.1.2 a permis de présenter le système sérotoninergique, son rôle dans la régulation de fonctions vitales de l'organisme, et les conséquences que son altération ou son dysfonctionnement pouvait entraîner. Il est donc d'un intérêt tout particulier de pouvoir explorer *in vivo* le fonctionnement de ce système grâce à la TEP (Moresco, *et al.* 2006). Étant donnée la complexité de ce système représenté, entre autres, par un nombre important de sous-récepteurs, les efforts pour synthétiser et valider des traceurs TEP et TEMP ont été largement mis en œuvre par (Crouzel, *et al.* 1992).

La base de données MICAD signale l'existence de 25 traceurs du système sérotoninergique.

Tableau 4 – Traceurs TEP du système sérotoninergique

Cible	Nom	In vitro	In vivo rongeurs	In vivo primate	In vivo humain
Synthèse	[¹¹ C]AMT	X	X	X	X
SERT	[¹⁸ F]Altanserin	X	X	X	X
	[¹¹ C]DASB	X	X	X	X
	[¹¹ C]ACF	X	X		
	[¹¹ C]Sme-ADAM	X	X		
	[¹¹ C]MADAM	X	X	X	X
	[¹¹ C]AFE	X	X	X	
	[¹¹ C]AFA	X	X	X	
	[¹¹ C]AFM	X	X	X	
	[¹¹ C]nor-beta-CIT	X	X	X	
	[¹¹ C]RTI357	X		X	
	[¹¹ C]McN5652	X	X	X	X
5-HT _{2A}	[¹¹ C]NMSP	X	X	X	X
	[¹¹ C]MDL100907	X		X	
	[¹⁸ F]setoperone	X	X	X	X
	[¹⁸ F]Altanserin	X	X	X	X
5-HT _{1A}	[¹¹ C]WAY100635	X	X	X	X
	[¹¹ C]JWAY	X		X	
	[¹¹ C]DWAY	X	X		X
	[¹¹ C]NAD-299	X			X
	[¹⁸ F]MPPF	X	X	X	X
	[¹⁸ F]Mefway	X	X		
	[¹⁸ F]FPWAY	X	X	X	
	[¹⁸ F]6FPWAY	X		X	
5-HT _{2A} D ₂	[¹¹ C]NMSP	X	X	X	X
	[¹⁸ F]FESP	X	X	X	X

Le Tableau 4 donne un aperçu des traceurs actuellement utilisés. Il montre

que la partie présynaptique (synthèse et transport) est correctement couverte, que certaines sous-classes de récepteurs sont également accessibles avec des traceurs de différentes affinités, mais qu'il reste des champs encore difficiles à explorer. Les efforts se condensent actuellement sur la production de traceurs spécifiques des récepteurs 5-HT₆ (Tang, *et al.* 2007b) et 5-HT₇ (Tang, *et al.* 2007a).

Ces efforts sont récompensés par une connaissance physiopathologique approfondie dans des champs médicaux concernés par la sérotonine, comme l'épilepsie (Chugani and Chugani 2005; Mauguier and Ryvlin 2004), l'autisme (Chugani 2002), la dépression (Dhaenen, 2001), le lien entre dépression et âge (Meltzer, *et al.* 1998), les troubles alimentaires (Kaye, *et al.* 2005a), entre autres.

Nous verrons dans le chapitre I.5 le cas particulier des traceurs du système sérotoninergique 5HT_{1A} qui illustre l'étude méthodologique développée dans ce travail.

I.4 La modélisation des échanges ligand-récepteurs en TEP

Cette partie fait référence à différents articles de synthèse de la littérature : (Delforge, *et al.* 1990; Gunn, *et al.* 2001; Ichise, *et al.* 2001; Laruelle, *et al.* 2002).

I.4.1 Cadre général expérimental : le modèle compartimental

CADRE DE LA MESURE *IN VIVO* EN TEP

Effectuer une mesure en TEP consiste à réaliser une acquisition continue de signal radioactif émis par l'organisme sur une durée de 30 à 120 minutes post-injection. Nous enregistrons ainsi la cinétique régionale du traceur avec des mesures de concentration de quelques pmol/ml. La résolution spatiale élémentaire de cette mesure recouvre un échantillon tissulaire correspondant à la taille du voxel (quelques mm³). La Figure 22 représente différentes cinétiques des mesures extraites de régions d'intérêts cérébrales de caractéristiques variées. Ces courbes de concentration en fonction du temps sont issues des courbes d'activité temporelle (TAC) fournies par la mesure TEP. Les TACs montrent l'évolution au cours du temps de la concentration de radioactivité locale dans l'organe étudié. Elles sont corrigées de la décroissance radioactive naturelle de l'isotope afin de rapporter toutes les mesures au temps d'injection. Elles sont données en unité de radioactivité sur un volume (Bq/cm³; kBq/cm³; mCi/cm³). Les valeurs de concentration molaire du produit injecté sont déduites du rapport entre la concentration radioactive mesurée et la radioactivité spécifique du traceur au moment de l'injection.

En effet, de la définition de la radioactivité spécifique (nombre de désintégrations par unité de temps et par mole d'un composé marqué donné), on déduit la concentration de ligand :

$$AS = \frac{[A^*]}{[A]} \quad \text{Eq. 23}$$

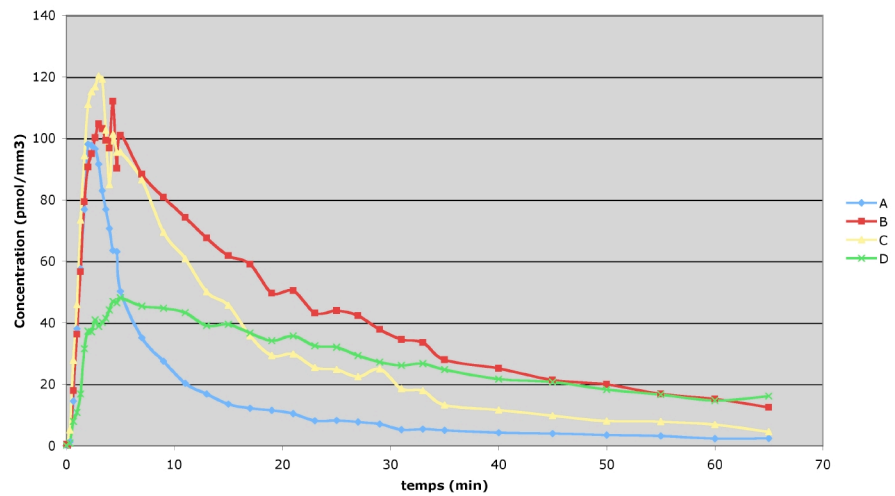
où

AS est la radioactivité spécifique mesurée en GBq/μmol.

[A*] est la concentration de ligand A, marqué par un émetteur de positons, il s'agit donc d'une concentration de radioactivité mesurée en Bq/cm³, au temps de mesure de la radioactivité spécifique.

[A] est la concentration de ligand A, mesuré en pmol/mm³.

Figure 22
Courbes de
concentration
régionale en ligand
issues de la mesure
TEP sur 4 régions
d'intérêts



On remarque sur les cinétiques de la Figure 22 que :

- La région A montre une entrée rapide et une sortie rapide du traceur dans la région.
- Les régions B et C montrent une entrée aussi rapide que la région A, mais une rétention plus longue dans la région. Cependant la région C montre une réduction plus rapide que la région B.
- La région D subit une tout autre cinétique, avec une montée plus lente, un maximum (moins élevé que les régions A B C) atteint au bout de 5 minutes.

L'objectif premier de la modélisation est de trouver une explication à ces différentes cinétiques, de trouver le lien entre cette mesure dynamique et la fonction étudiée, c'est-à-dire l'association du ligand pour un récepteur spécifique. L'objectif second, mais pas des moindres, est de donner une valeur quantitative aux paramètres d'un modèle de fixation que l'on puisse rapprocher des valeurs biologiques régissant la fonction : vitesse de transport, la concentration locale des récepteurs, les constantes d'association et de dissociation.

On revient donc à la modélisation d'une interaction ligand récepteur exposé dans le cadre *in vitro* du chapitre I.1 avec les particularités suivantes : la mesure TEP *in vivo* recouvre la mesure globale de l'échantillon tissulaire, avec sa composante vasculaire et avec la présence du ligand sous différentes formes dans le milieu.

La particularité de la mesure *in vivo* par rapport à la mesure *in vitro*, se situe entre autres aux niveaux suivants :

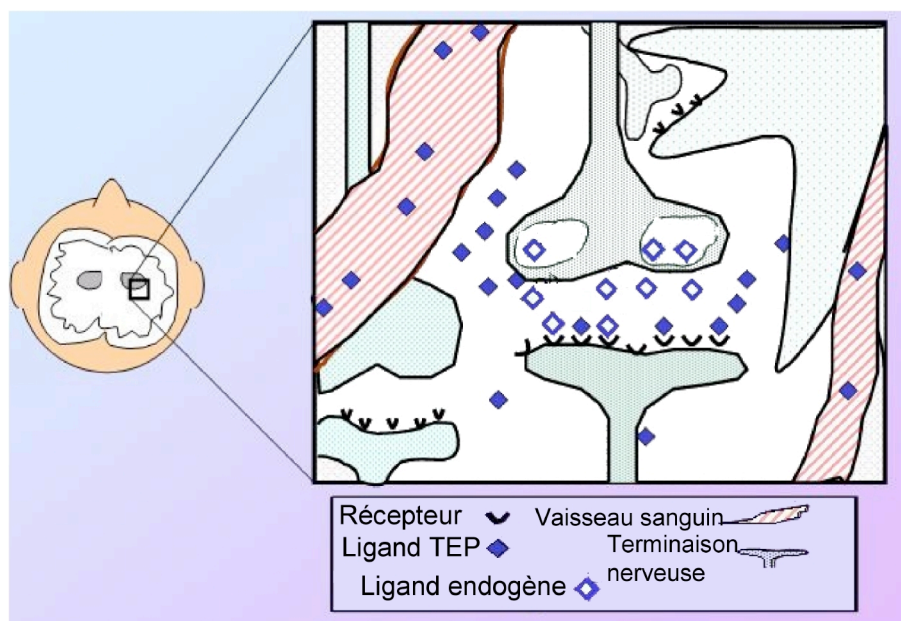
- L'apport du ligand s'effectue par voie intraveineuse. Elle n'est donc pas directe et constitue en cela une fonction d'entrée dans le milieu de réaction particulière.
- La concentration du ligand libre (F) au cours de l'expérience n'est pas constante. La réaction a lieu en milieu ouvert.
- La concentration du ligand sous forme liée (B) n'est pas accessible directement par la mesure.
- Une partie du ligand est métabolisée, la mesure intègre donc une proportion de ligand sous une forme dégradée.
- Le système ne contient plus un seul compartiment cible mais éventuellement d'autres compartiments non-spécifiques.

De là, il convient d'adapter le modèle simple d'une réaction ligand récepteur en milieu *in vitro*, tenant compte de ces considérations. Pour cela, on peut lister les différents états dans lesquels le ligand peut se trouver dans un échantillon tissulaire mesuré *in vivo* par la TEP. Le ligand peut se trouver :

- circulant dans le réseau vasculaire,
- libre dans l'espace interstitiel fluide et éventuellement le cytoplasme intracellulaire,
- en cours de dégradation dans son cycle de métabolisation,
- fixé à son récepteur,
- dégradé par rapport à sa forme chimique initiale et séparé du site actif marqueur de la fonction étudiée.

La Figure 23 illustre ce premier constat qui mène à la définition du modèle compartimental et des paramètres qui le régissent.

Figure 23
Illustration de la
mesure TEP d'une
région cible d'un
ligand marquant un
récepteur cérébral



LE MODELE COMPARTIMENTAL *IN VIVO*

La mesure TEP permet d'accéder à la concentration locale de substance radioactive, mais comme dans toute méthode utilisant un traceur, ce que l'on cherche à mesurer *in fine*, ce sont les paramètres biologiques du processus tracé. Cette dernière étape dans la chaîne d'acquisition et d'analyse de données qui consiste à passer de la mesure physique à la mesure biologique repose sur l'établissement d'un modèle qui décrit le devenir de la molécule injectée dans le tissu.

La considération des différentes formes prises par le traceur et des échanges possibles entre ces états dans le milieu donne naissance au modèle compartimental. Dans ce modèle, on représente les concentrations du ligand dans différents états (libre, lié spécifiquement ou non, ...), et les probabilités de passage d'un état à l'autre.

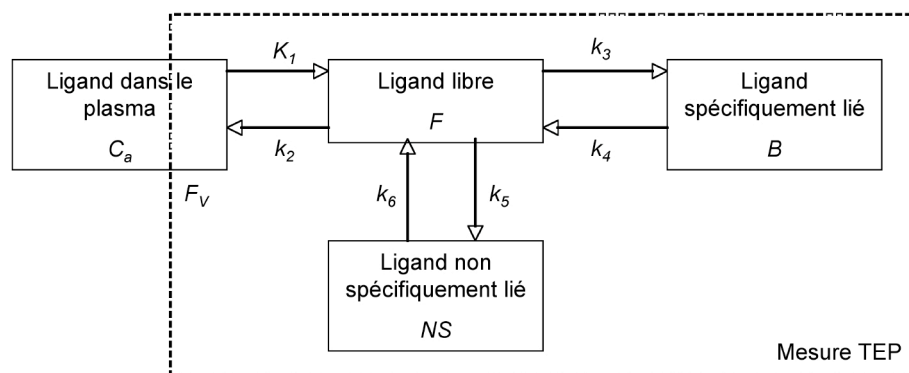


Figure 24
Modèle à quatre
compartiments des
interactions ligand-
récepteur *in vivo*

Dans la Figure 24, un modèle à quatre compartiments établit les relations entre les concentrations locales dans chaque compartiment :

$C_a(t)$: concentration artérielle plasmatique du ligand (pmol.cm^{-3}),
 $F(t) = C_f(t)$: concentration de ligand libre dans le tissu (pmol.cm^{-3}),
 $NS(t) = C_{ns}(t)$: concentration de ligand lié de manière non-spécifique et non-déplaçable (pmol.cm^{-3}),
 $B(t) = C_s(t)$: concentration de ligand lié au neurorécepteur spécifique (pmol.cm^{-3}).

Les échanges sont régis par des constantes, représentatives des vitesses de transfert entre compartiments (K_1, k_2), des constantes d'association et de dissociation avec le récepteur (k_3, k_4) ainsi que la densité locale de récepteurs (B_{max}).

K_1 : constante de transfert ligand libre plasmatique artériel vers le compartiment tissulaire ($\text{ml.min}^{-1}.\text{ml}^{-1}$),

k_2 : constante de transfert du tissu au sang (min^{-1}),

k_3 : constante d'association ligand récepteur (min^{-1}),

k_4 : constante de dissociation (min^{-1}),

k_5 : constante de transfert du compartiment libre au compartiment non-spécifique (min^{-1}),

k_6 : constante de transfert du compartiment non-spécifique au compartiment libre (min^{-1}),

F_v : fraction vasculaire (fraction de sang présente dans la région mesurée) ($\text{cm}^3.\text{pmol}^{-1}$).

Pour établir le lien entre les constantes d'association et de dissociation *ex vivo*, il est nécessaire d'introduire deux variables supplémentaires. Il s'agit de la fraction f_1 de ligand plasmatique libre susceptible de traverser la BHE et la fraction f_2 de ligand du compartiment libre disponible pour effectuer la fixation spécifique du ligand sur son récepteur.

f_1 et f_2 représentent des fractions de volume. Ils sont sans unité mais de dimension ml.ml^{-1} .

Ces deux fractions ont été introduites par (Mintun, *et al.* 1984). On peut alors établir le lien entre les constantes du modèle compartimental *in vivo* et *ex vivo* :

$$\left. \begin{aligned} K_1 &= f_1.k_1 \\ k_2 &= k_2 \\ k_3 &= f_2.k_{on}B'_{max} \\ k_4 &= k_{off} \end{aligned} \right\} \quad \text{Eq. 24}$$

où

k_{on} : constante d'association ligand récepteur ($\text{cm}^3.\text{pmol}^{-1}.\text{min}^{-1}$),

k_{off} : constante de dissociation (min^{-1})

B'_{max} : concentration de récepteurs spécifiques disponibles (pmol.cm^{-3}).

L'introduction de ces fractions prendra son sens lors de l'établissement du modèle compartimental simplifié.

MISE EN EQUATION

Pour caractériser la dynamique de ce modèle, on peut écrire un système d'équations différentielles du second ordre liant les concentrations dans les compartiments et leurs dérivées.

Le bilan de masse du compartiment artériel donne :

$$\frac{dC_a}{dt} = k_2C_f - K_1C_a \quad \text{Eq. 25}$$

Le bilan de masse du compartiment libre donne :

$$\frac{dC_f}{dt} = K_1C_a - k_2C_f - k_3C_f + k_4C_s + k_6C_{ns} - k_5C_f \quad \text{Eq. 26}$$

Le bilan de masse du compartiment spécifique donne :

$$\frac{dC_s}{dt} = k_3C_f - k_4C_s \quad \text{Eq. 27}$$

Le bilan de masse du compartiment non-spécifique donne :

$$\frac{dC_{ns}}{dt} = k_5C_f - k_6C_{ns} \quad \text{Eq. 28}$$

Comme la mesure TEP est la somme des concentrations locales dans ces compartiments, il convient d'introduire la dernière équation opérationnelle utilisable pour résoudre le modèle.

$$TEP = (1 - F_v)(C_f + C_s + C_{ns}) + F_vC_b \quad \text{Eq. 29}$$

où

$C_b(t)$: concentration artérielle totale sanguine (ligand marqué et ses métabolites) (pmol.cm^{-3}).

En réalité les mesures TEP ne sont pas continues, et en tenant compte du fait que F_v est une valeur petite, les mesures TEP entre t_{i-1} et t_i s'expriment ainsi :

$$TEP(t_i) = \frac{1}{t_i - t_{i-1}} \int_{t_{i-1}}^{t_i} (C_f(t) + C_s(t) + C_{ns}(t) + F_v C_b(t)) dt \quad \text{Eq. 30}$$

La mesure TEP et les concentrations sanguines et plasmatiques sont les seules concentrations mesurables dans ce modèle. Pratiquer une modélisation consiste à trouver une solution à ce système d'équation en connaissance des mesures accessibles afin de déterminer les paramètres ou une composition des paramètres régissant le modèle.

La résolution numérique de ce système d'équation est délicate. Avec une injection unique à dose traceuse, le système fonctionnel n'est pas assez modulé pour ne fournir une solution unique pour l'ensemble $(K_1, k_2, k_3, k_4, k_5, F_v)$. De plus, le bruit de la mesure TEP introduit une grande variabilité des paramètres identifiés. Dans la pratique, on a recours à une expérience à injections multiples, comme il sera précisé dans le paragraphe suivant.

Cette solution n'est cependant pas envisageable cliniquement et force à s'orienter vers une diminution de l'ordre du modèle, en recherchant une identification basée sur des indices simplifiés du modèle, comme nous le verrons aussi dans les paragraphes suivants.

I.4.2 Solution numérique pour la résolution du modèle

CONDITION DE RESOLUTION NUMERIQUE DU MODELE

Il a été montré dans (Delforge, *et al.* 1989) et (Delforge, *et al.* 1990) que la meilleure méthode pour résoudre le système et accéder ainsi à une quantification relative ou absolue des indices du modèle (potentiel de liaison, densité des récepteurs ...) est de réaliser un protocole expérimental TEP comportant plusieurs injections (expérience multiinjection)

- l'une du ligand injecté à dose traceuse,
- une seconde dite de déplacement où, injecté seul, du ligand non marqué a pour effet de déplacer les molécules marquées fixées sur leurs récepteurs,
- et une troisième, dite de co-injection, où les proportions de ligand marqué et non marqué sont telles que les récepteurs sont saturés par le ligand non-marqué.

Ces trois injections caractérisent les modes de transport du ligand par convection et par diffusion, ainsi que le processus de captation.

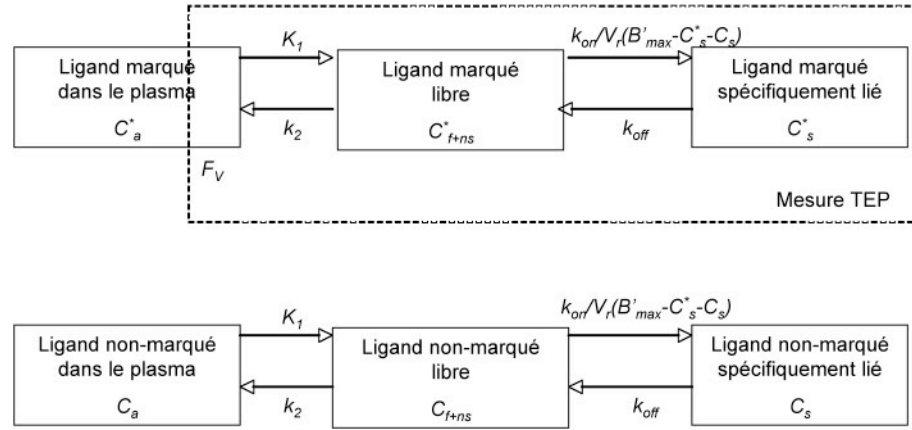
Avec la connaissance de la fonction d'entrée, les paramètres sont estimés par ajustement entre la valeur prédite par les équations décrivant le modèle et la ou les valeurs mesurées par TEP.

RESOLUTION NUMERIQUE

En réalité, dans la résolution numérique complète du modèle compartimental, on ne tient pas compte seulement du ligand marqué, mais également du ligand non-marqué. Le modèle est en fait dédoublé comme il est montré dans la Figure 25. Il est réduit à trois compartiment par un souci de lisibilité, mais peut également s'écrire avec un compartiment libre indépendant du compartiment de liaison non-spécifique. On remarque dans ce schéma complet le développement du terme d'association k_3 en un produit $k_{on}/V_r B_{max}$. Le paramètre V_r introduit dans (Delforge, *et al.* 1990) n'est pas identifiable indépendamment de k_{on} . Appelé *volume de réaction*, il s'apparente à la fraction f_2 de ligand du compartiment libre et non-spécifique susceptible d'être fixée au récepteur (Delforge parle d'espace, là où Laruelle envisageait une simple fraction de volume). (Wong, *et al.* 1998) établit le lien entre ces deux notions.

Nous emploierons dans le paragraphe la notation de Delforge.

Figure 25
Modèle à trois
compartiments des
interactions ligand-
récepteur *in vivo*,
haut : ligand
marqué par
l'émetteur de
positons, *bas* :
ligand non-marqué



Le système d'équations différentielles est également doublé du fait de la prise en compte des concentrations de ligand non-marqué interagissant avec le même récepteur. En revanche, les paramètres de transport et de fixation sont considérés comme identiques pour le ligand marqué et le ligand non-marqué.

Le système d'équation devient alors, pour le ligand marqué :

$$\left. \begin{aligned} \frac{dC_a^*}{dt} &= k_2 C_{f+ns}^* - K_1 C_a^* \\ \frac{dC_{f+ns}^*}{dt} &= K_1 C_a^* - k_2 C_{f+ns}^* - \frac{k_{on}}{V_r} (B'_{max} - C_s^* - C_s) C_{f+ns}^* + k_{off} C_s^* \\ \frac{dC_s^*}{dt} &= \frac{k_{on}}{V_r} (B'_{max} - C_s^* - C_s) C_{f+ns}^* - k_{off} C_s^* \end{aligned} \right\} \text{Eq. 31}$$

À ces équations s'ajoutent les mêmes équations écrites pour le ligand non-marqué ainsi que l'équation 30 (où figure F_v) qui représente toujours la mesure TEP. Le système d'équation devient non-linéaire du fait de la prise en compte de la partie non-marquée du ligand dans la capacité d'association du ligand au récepteur.

En augmentant le nombre d'équations, en conservant le nombre de paramètres à identifier, et en forçant le système à « fonctionner » dans des modes les plus caractéristiques (saturation, saturation partielle, déplacement, blocage), on optimise la convergence de l'algorithme de résolution et l'on minimise l'incertitude sur l'identification des valeurs.

Les algorithmes de résolution numérique de système d'équations différentielles aux dérivées partielles de type Runge-Kutta (Cartwright and Piro 1992) et minimisation de l'erreur quadratique permettent d'identifier les inconnues du modèle (K_1 , k_2 , k_{on}/V_r , k_{off} , F_v et B_{max}). Par extension, on peut alors calculer la constante de dissociation apparente K_d , V_r , inverse de l'affinité du traceur pour le récepteur ($K_d = k_{off}/k_{on}$).

Pratiquement, le traçage de volumes d'intérêt (VOI) permet d'extraire des courbes d'activité temporelles (Figure 22). Pour chaque cinétique extraite des VOIs, la résolution numérique des équations différentielles fournit une valeur quantitative des paramètres du modèle.

MESURE DE LA FONCTION D'ENTREE

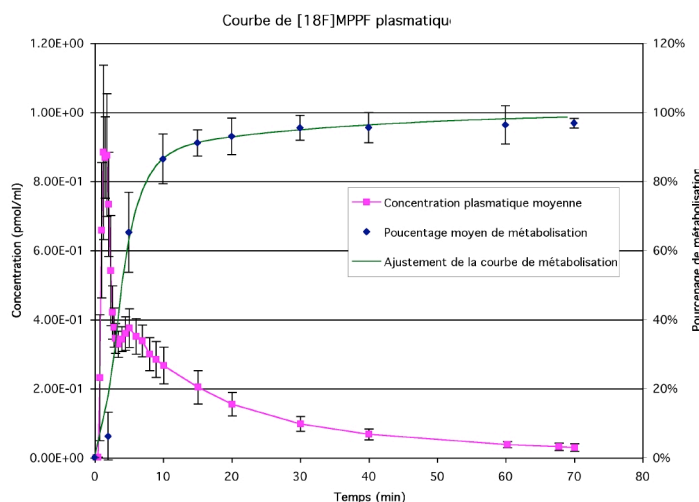
Prélèvement sanguin

Les équations différentielles issues du modèle compartimental comportent deux fonctions d'entrée : la courbe plasmatique artérielle corrigée des métabolites (C_a^*) et la courbe artérielle totale (C_b^*).

En pratique, ces courbes sont mesurées à l'aide de prélèvements sanguins réalisés dans l'artère radiale. Les échantillons sanguins prélevés à des temps espacés de quelques dizaines de seconde en début d'expérience, puis quelques minutes par la suite subissent une centrifugation permettant de séparer le plasma. La radioactivité des échantillons plasmatiques est ensuite mesurée par un compteur externe, cross-calibré avec la caméra TEP. Sur certains échantillons, la fraction de ligand non-métabolisé est analysée par radio-chromatographie en phase liquide (radio-HPLC). La fraction de ligand non-lié aux protéines plasmatiques est mesurée par filtration.

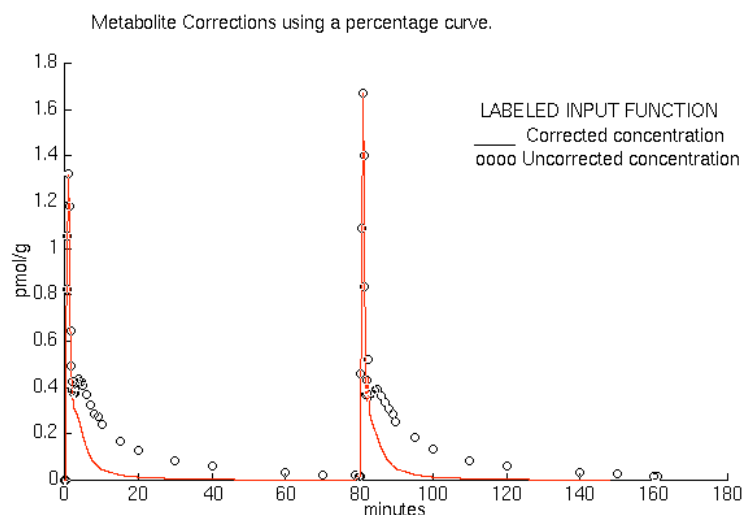
On peut ainsi établir, la courbe plasmatique totale, la fonction de métabolisation (Figure 26) et par multiplication la courbe artérielle de ligand libre non-métabolisé (Figure 27).

Figure 26
Courbe de concentration plasmatique moyenne (5sujets), de la fonction de métabolisation moyenne et de son ajustement par une fonction bi-exponentielle



La fonction de métabolisation étant particulièrement reproductible, il arrive qu'elle soit ajustée à l'aide de prélèvements pratiqués chez quelques sujets par une fonction analytique, exponentielle, ou biexponentielle.

Figure 27
Courbe plasmatique avant et après correction pour une expérience de double injection (0 et 80 minutes) de $[^{18}\text{F}]$ MPPF



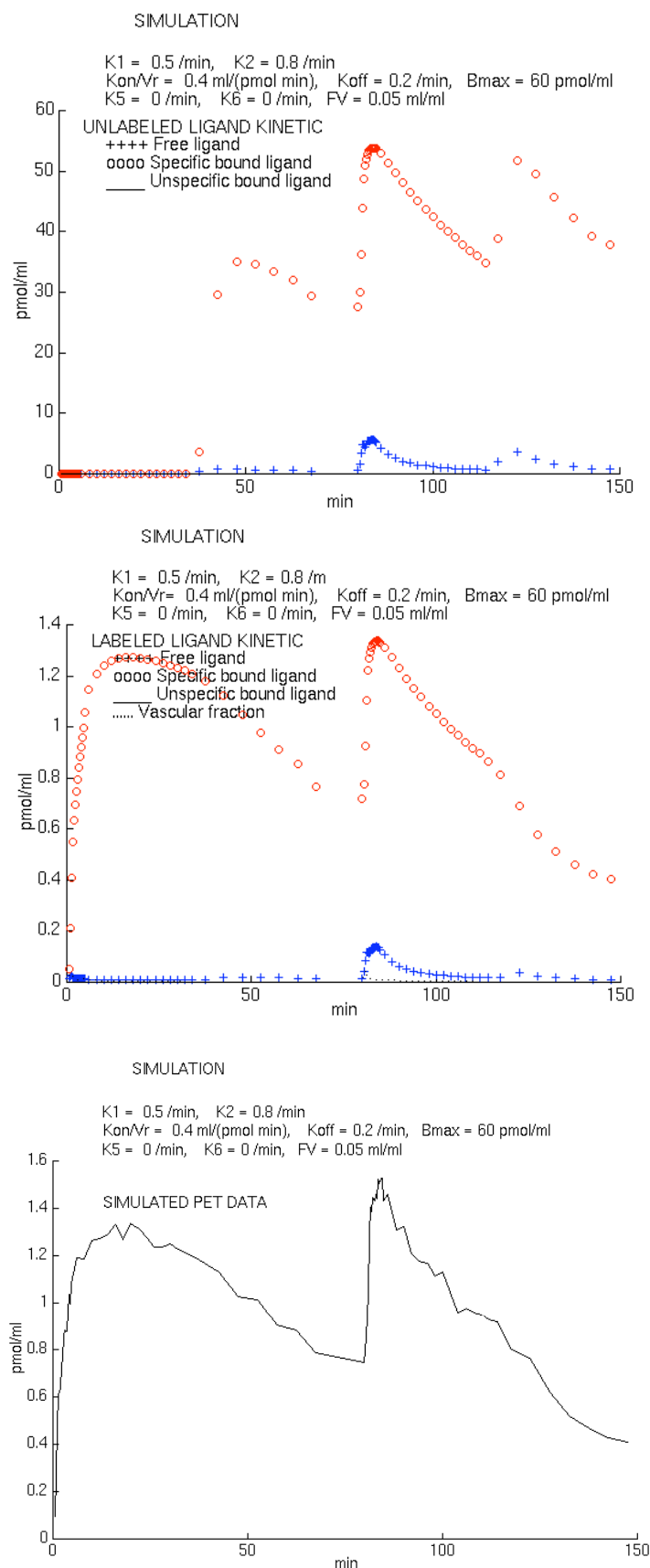
RESULTATS

L'identification de tous les paramètres du modèle par la pratique d'une expérience de multiinjection et de mesure directe de la fonction d'entrée fournit des résultats riches en renseignements. Elle peut être reproduite chez un petit nombre de sujet, permettant de déterminer la variabilité interindividuelle des paramètres. Pratiquement, la réalisation d'injections multiples, le prélèvement d'échantillon de sang artériel, le comptage de la fonction plasmatique du ligand pur et de ses métabolites n'est pas envisageable dans le cadre d'une exploitation clinique d'un traceur. En effet, l'expérience multiinjection induit un temps d'examen particulièrement long (entre 100 et 180 minutes) et la pose d'un cathéter artériel (geste invasif). Elle engage aussi un nombre de personnes

important pour la réalisation de l'examen, le traitement et le comptage des échantillons.

En revanche, ce type d'expérience réalisée chez un échantillon réduit de sujets sains permet de quantifier l'ensemble des paramètres qui régissent le modèle compartimental et donc, par la suite, de simuler les cinétiques TEP obtenues dans des conditions expérimentales variées.

Figure 28
 Courbes simulées à partir de paramètres identifiés d'un modèle tri-compartimental, pour une expérience à quatre injections. 0 min : injection traceuse, 40 min : déplacement par 200 nmol de ligand froid, 80 min : co-injection de 10 nmol de chaud et 200 nmol de froid, 110 min : déplacement par 200 nmol de froid. Haut : courbe simulée du ligand non-marqué, en rouge partie liée $B(t)$, en bleu, partie libre $F(t)$, Milieu : courbe simulée du ligand marqué, en rouge partie liée $B^*(t)$, en bleu, partie libre $F^*(t)$, Bas : courbe TEP résultant avec adjonction de 3% de bruit gaussien PET(t)



Ainsi, il devient possible de vérifier ou même de forcer la réalisation d'un certain nombre d'hypothèses de simplification du système d'équation qui permettront l'identification d'un nombre plus réduit de paramètres ou d'index liés aux paramètres du modèle.

I.4.3 Principe de modélisation simplifiée

La modélisation simplifiée consiste avant tout à vérifier des hypothèses permettant de contraindre la résolution du modèle compartimental de manière à ne pas devoir identifier toutes ses inconnues. Typiquement, l'identification des index dérivés est suffisante pour qualifier le comportement du traceur.

HYPOTHESES

Dans la résolution d'un modèle compartimental en imagerie des récepteurs, six hypothèses peuvent être formulées afin de réduire le nombre de paramètres à identifier. Le radioligand provient d'une source unique : le compartiment vasculaire.

1. Le radioligand s'échange librement entre le compartiment vasculaire et le compartiment libre.
2. Les échanges entre compartiments sont régis par des cinétiques de premier ordre : les paramètres de vitesse d'échanges entre compartiments sont constants au cours de l'expérience.
3. Les échanges entre compartiments libre et non spécifiquement lié s'équilibrent rapidement.
4. La fraction non métabolisée du radioligand dans le plasma s'équilibre rapidement avec les protéines du plasma. La fraction libre du radioligand dans le plasma est constante au cours de l'expérience.
5. Le volume de distribution dans le compartiment libre des régions riches en récepteur est identique au volume de distribution dans le compartiment libre des régions dépourvues de récepteurs.

Les hypothèses 1 à 4 doivent être vérifiées pour procéder à la résolution numérique évoquée dans le paragraphe précédent. L'hypothèse 5 introduit la notion de volume de distribution. Au sens pharmacologique du terme, le volume de distribution correspond au volume théorique dans lequel le ligand est distribué de façon homogène dans les tissus, à concentration équivalente à sa concentration plasmatique, et à l'équilibre.

En pratique pharmacocinétique TEP, on parle de volume de distribution dans les différents compartiments, comme rapport des concentrations tissulaire et plasmatique.

Les méthodes simplifiées de modélisation reposent sur les hypothèses 3, 4 et 5 :

- Les hypothèses 3 et 4 permettent de réduire le nombre de compartiments à trois, en supposant que l'équilibre de la liaison non-spécifique est très rapide par rapport à l'équilibre qui s'établit après fixation au récepteur cible. Auquel cas, on ne peut pas distinguer le ligand sous sa forme libre de sa forme non-spécifiquement lié, $C_{f+nf} \approx C_f + C_{ns}$.
- L'hypothèse 5 signifie qu'il existe dans le cerveau une région de référence dépourvue du récepteur spécifique. Elle suppose que cette région possède les mêmes propriétés de distribution dans le compartiment libre et non-spécifique que celle d'une région cible, soit $B_{max}=0$.

Pour réduire l'ordre du modèle à estimer, on peut également ne considérer, qu'un compartiment tissulaire, de concentration $C_T(t) = C_{f+ns}(t) + C_s(t)$ et écrire l'équation différentielle monocompartimentale suivante :

$$\frac{dC_T(t)}{dt} = k_1 C_a(t) - k_{2a} C_T(t) \quad \text{Eq. 32}$$

où

k_{2a} est une vitesse de transfert intégrant les paramètres de fixation spécifique et de transfert de la barrière hémato-encéphalique.

Cette dernière équation est à la base des modélisations simplifiées ; leur indice de fixation principal, relatif au volume de distribution total du ligand dans les tissus est à l'équilibre, lorsque le $dC_T/dt = 0$

$$DV_t = \frac{C_T}{C_a} = \frac{k_1}{k_{2a}} \quad \text{Eq. 33}$$

INDEX DE LA MODELISATION SIMPLIFIEE

On peut en outre introduire des indices simplifiés sous-jacents au volume de distribution total que la modélisation simplifiée va tâcher d'identifier. Pour cela, on se sert des équations 25, 26 et 27 écrites pour un modèle à trois compartiment, où les fractions libre et non-spécifiquement lié sont réunies.

On peut définir :

Volume de distribution dans le compartiment libre et non-spécifique, à l'équilibre lorsque $dC_a/dt = 0$ dans l'équation 25 donne

$$DV_{f+ns} = \frac{C_{f+ns}}{C_a} = \frac{K_1}{k_2} \quad \text{Eq. 34}$$

Volume de distribution dans le compartiment spécifique,

à l'équilibre $dC_s/dt = 0$ dans l'équation 27 donne

$$C_{f+ns} = \frac{k_4}{k_3} C_s$$

introduit dans l'équation 26 et à l'équilibre lorsque $dC_{f+ns}/dt = 0$

$$DV_s = \frac{C_s}{C_a} = \frac{K_1}{k_2} \cdot \frac{k_3}{k_4} = \frac{K_1}{k_2} \cdot f_2 \frac{k_{on} B_{max}}{k_{off}} \quad \text{Eq. 35}$$

D'où le *Volume de distribution total* identique à celui l'équation 33

$$DV_t = DV_f + DV_s = \frac{K_1}{k_2} \left(1 + \frac{k_3}{k_4} \right) = \frac{K_1}{k_2} \left(1 + \frac{f_2 k_{on} B_{max}}{k_{off}} \right) \quad \text{Eq. 36}$$

On voit ici apparaître le terme $f_2 k_{on} B_{max}/k_{off}$ appelé *potentiel de liaison* et noté *BP* pour le terme anglais Binding Potential (Laruelle, et al. 2002)

$$BP = \frac{k_3}{k_4} = \frac{f_2 k_{on} B_{max}}{k_{off}} = f_2 \frac{B_{max}}{K_d} \quad \text{Eq. 37}$$

Le potentiel de liaison apparent représente le paramètre le plus pertinent à identifier dans un modèle simplifié : il rend compte de la densité de récepteur rapportée à l'affinité du ligand.

Ce potentiel de liaison *in vivo* est à rapprocher du potentiel de liaison *in vitro* défini par (Mintun, et al. 1984)

$$BP_{in vitro} = \frac{k_{on} B_{max}}{k_{off}} \quad \text{Eq. 38}$$

Bien que $BP_{in vivo} = f_2 \cdot BP_{in vitro}$, le terme f_2 n'est pas identifiable isolément, sans la connaissance de la fonction d'entrée artérielle. En conséquence, les méthodes simplifiées reposant sur une région de référence ne permettent d'identifier que $BP_{in vivo}$.

La nomenclature internationale n'a pas réussi à homogénéiser ces notations, les notations BP' , BP_2 ou V''_3 sont parfois utilisées pour le potentiel de liaison *in vivo* (Laruelle, et al. 2002).

1.4.4 Identification des index simplifiés avec région de référence

REGION DE REFERENCE

Une méthode de modélisation complète avec expérience de multiinjection permet d'identifier les paramètres K_1 et k_2 dans différentes régions cérébrales, ainsi que les paramètres de fixation spécifique (k_{on}/V_r , k_{off} , et B_{max}).

Il faut alors rechercher une région qui serve de référence et remplisse la condition 6 évoquée plus haut. Dans cette région dépourvue de récepteur l'équation 32 devient :

$$\frac{dC_{ref}(t)}{dt} = K'_1 C_a(t) - k'_2 C_{ref}(t) \quad \text{Eq. 39}$$

où

$C_{ref}(t)$ est la concentration TEP mesurée localement,

K'_1 et k'_2 sont les valeurs k_1 et k_2 de la région de référence.

Dans une région riche en récepteurs (région cible), de concentration locale $C_{roi}(t)$ les paramètres K'_1 , k'_2 , k_{on}/V_r , k_{off} et B_{max} pourront également être quantifiés.

Il est possible de vérifier que si le réseau vasculaire de la région de référence et de la région cible présentent des perméabilités au traceur analogues, la relation $K_1/k_2 = K'_1/k'_2$ est vérifiée.

METHODE GRAPHIQUE DE LOGAN

(Logan 2000)

Dans les conditions de choix d'une région de référence que nous venons d'évoquer, on peut montrer que, par un changement de variable, le graphe paramétrique de Logan, construit avec les courbes de concentrations de traceur dans une région cible $C_{roi}(t)$ et dans une région de référence $C_{ref}(t)$ (Figure 29), devient linéaire et tend vers une droite asymptotique (Logan 2000).

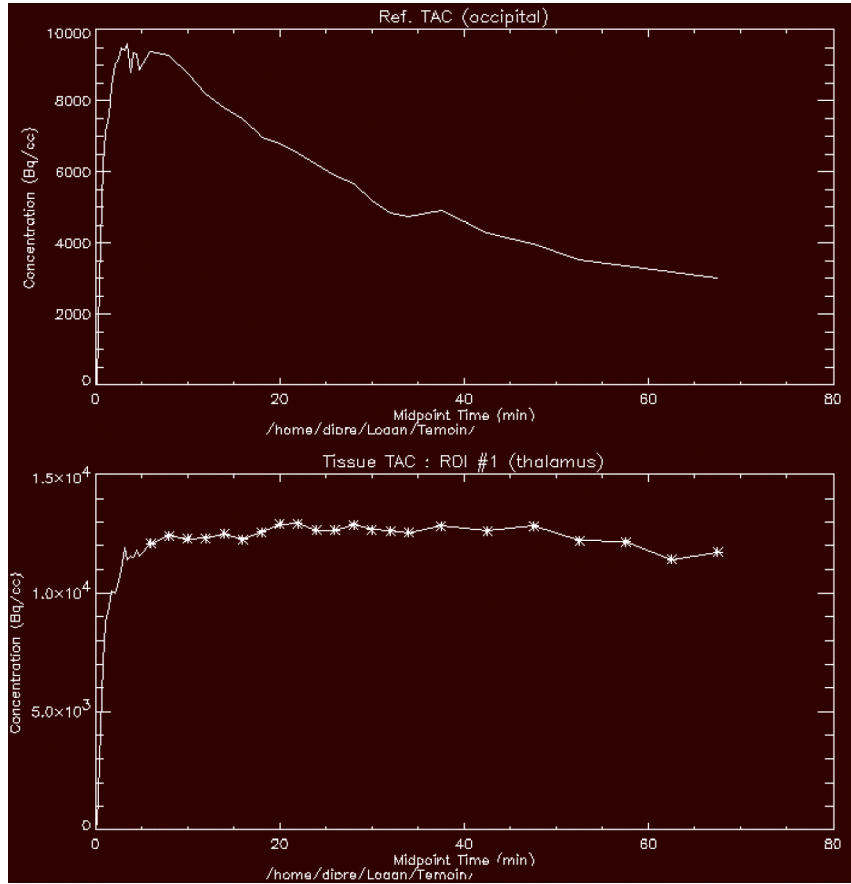


Figure 29
Courbes d'activité temporelle d'une région de référence (occipital), $C_{ref}(t)$ et d'une région cible (Thalamus), $C_{roi}(t)$ extraite d'une acquisition dynamique TEP au $[^{11}\text{C}]\text{DPN}$ (diprénorphine, marqueur des récepteurs opiacés). Le graphe Logan est construit à partir de ces courbes.

Le graphe de Logan se construit avec l'équation paramétrique :

$$\left. \begin{aligned} X &= \frac{\int_0^t C_{ref}(t) dt}{C_{ref}(t)} \\ Y &= \frac{\int_0^t C_{roi}(t) dt}{C_{roi}(t)} \end{aligned} \right\} \quad \text{Eq. 40}$$

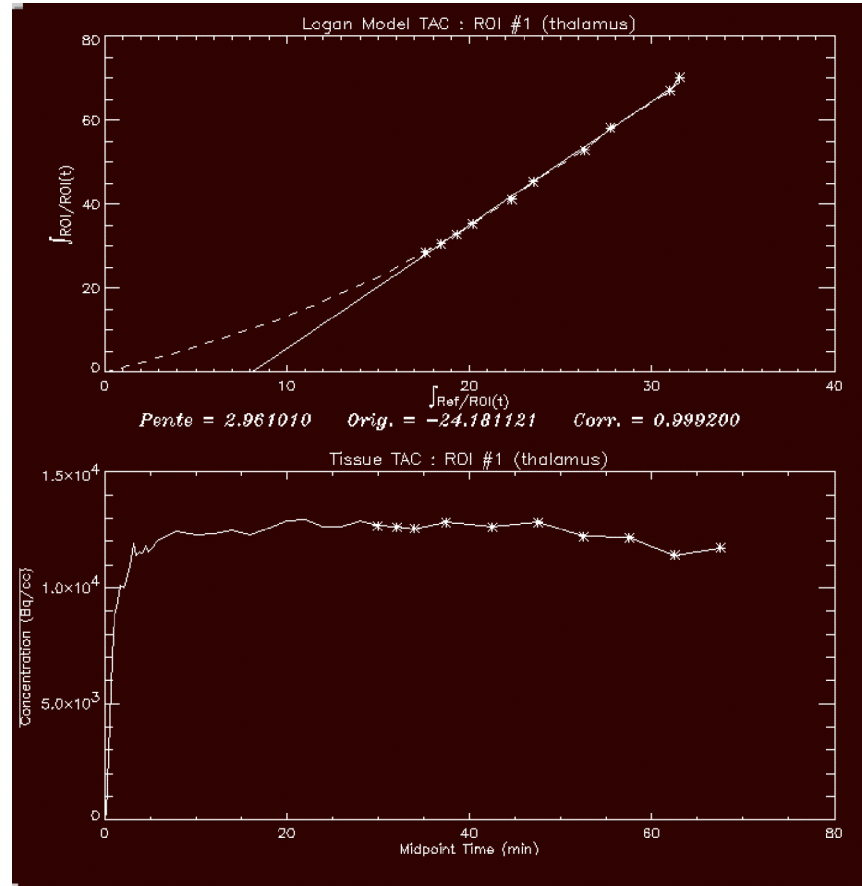
Ce graphe paramétrique se linéarise (Figure 30) après un temps d'équilibre et prend la forme

$$Y = aX + b \quad \text{Eq. 41}$$

avec

$$a = \frac{DV_{roi}}{DV_{ref}} \quad \text{Eq. 42}$$

Figure 30
 Graphe
 paramétrique de
 Logan, construit à
 partir des courbes
 de référence et de
 région d'intérêt.
 L'asymptote
 d'équilibre est
 calculée entre 30
 et 70 minutes. La
 pente de cette
 droite donne le
 volume de
 distribution relatif
 entre région
 d'intérêt et région
 de référence (DVR).



soit l'équation fonctionnelle

$$\int_0^T C_{roi}(t)dt / C_{roi}(t) = (DV_{troi} / DV_{tref}) \left[\int_0^T C_{ref}(t)dt / C_{ref}(t) \right] + b \quad \text{Eq. 43}$$

où

DV_{troi} est le volume de distribution total dans la région cible contenant des récepteurs spécifiques

DV_{tref} est le volume de distribution total dans la région de référence

On appelle DVR_{roi} le volume de distribution relatif de la région de cible par rapport à la région de référence. Il est égal à la pente de l'asymptote que l'on peut identifier après équilibre sur le graphe de Logan

$$DVR_{roi} = DV_{troi} / DV_{tref} \quad \text{Eq. 44}$$

On montre aisément que, avec l'hypothèse $K_{1roi}/k_{2roi} = K_{1ref}/k_{2ref}$ (hypothèse qui fait partie du choix de la région de référence), le terme $DVR_{roi} - 1$ est égal au potentiel de liaison (BP).

La méthode Logan permet donc d'estimer le BP d'un traceur réversible avec une bonne fiabilité.

METHODE SRTM

Le nom de la méthode SRTM provient de l'anglais, pour Simple référence Tissu Model (Lammertsma and Hume 1996).

Dans cet article introductif, il est démontré, par une manipulation mathématique (transformation de Laplace), qu'une expression de la fonction d'entrée peut être dérivée de la fonction $C_{ref}(t)$ et substituée dans le système d'équation différentielles du modèle compartimental.

Avec les hypothèses de simplification énoncées, Lammertsma *et al.* ont montré que l'équation 32 possédait une solution analytique non linéaire de la forme :

$$C_{roi}(t) = \frac{k_{1roi}}{k_{1ref}} C_{ref}(t) + \left[k_2 - \frac{k_{1roi}}{1 + BP} k_2 \right] C_{ref}(t) \otimes e^{-\frac{k_2}{1+BP}t} \quad \text{Eq. 45}$$

où

$$BP = BP_{Gum} = V_3 = f_2 \frac{B_{max}}{K_d (1 + \sum \frac{f_i}{K_i})} \quad \text{Eq. 46}$$

L'équation 46 représente la formule complète du BP , conforme à la définition de l'équation 37 dans laquelle f_i et K_i sont les concentrations libres et les constantes de dissociation à l'équilibre des ligands endogènes compétitifs au ligand TEP.

Dans le cas d'un ligand de forte affinité pour son récepteur le terme f_i/K_i est négligeable devant K_d , et le BP prend la forme de l'équation 37.

Si on définit le rapport R_1 , comme étant le rapport de perfusion relatif du traceur entre région d'intérêt, et région de référence avec la formule suivante :

$$R_1 = \frac{k_{1roi}}{k_{1ref}} \quad \text{Eq. 47}$$

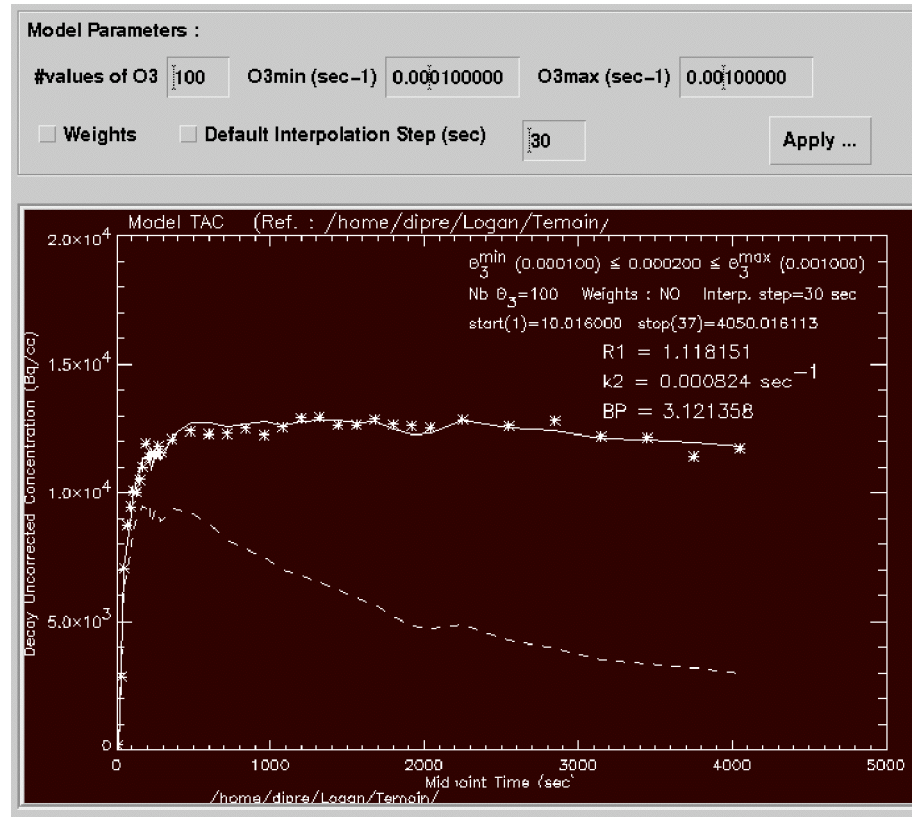
Alors l'équation fonctionnelle du modèle SRTM devient :

$$C_{roi}(t) = R_1 C_{ref}(t) + \left[k_2 - \frac{R_1 k_2}{1 + BP} \right] C_{ref}(t) \otimes e^{-\frac{k_2}{1+BP}t} \quad \text{Eq. 48}$$

Les paramètres à estimer dans cette solution numérique sont réduits à trois : BP , k_2 et R_1 . La solution n'est pas triviale puisque l'équation comporte une opération de convolution.

L'ajustement de cette fonction avec les données expérimentales ($C_{roi}(t)$) permet de trouver une solution optimale sous forme d'un triplet par itération et minimisation d'une distance des moindres carrés (Figure 31).

Figure 31
Modèle SRTM pour le [^{18}F]MPPE.
Pointillés : courbe de référence, $C_{ref}(t)$
Etoiles : points de mesure dans une région d'intérêt, $C_{roi}(t)$,
Ccd ..
Trait plein : ajustement optimal par le modèle SRTM, avec l'équation 42.



Cunningham *et al.* ont amélioré la robustesse de cette identification par une méthode d'analyse spectrale (Cunningham and Jones 1993). Par la suite Gunn *et al.* a introduit une méthode astucieuse utilisant une base de fonction de projections.

Dans cette méthode, l'équation fonctionnelle est écrite sous la forme :

$$C_{roi}(t) = \theta_1 \cdot C_{ref}(t) + \theta_2 \otimes e^{-\theta_3 t} \quad \text{Eq. 49}$$

où

$$\left. \begin{aligned} \theta_1 &= R_1 \\ \theta_2 &= k_2 - \frac{R_1 \cdot k_2}{1 + BP} \\ \theta_3 &= \frac{k_2}{1 + BP} \end{aligned} \right\} \quad \text{Eq. 50}$$

Un ensemble de fonctions de base exponentielle $e^{-\theta_3}$ est créé (Figure 32) avec une centaine de valeurs de θ_3 dans la gamme de valeurs physiologiques possibles. Pour chaque valeur de θ_3 , des valeurs du couple $(\theta_1; \theta_2)$ sont identifiées par régression au moindre carré avec les courbes $C_{roi}(t)$ et $C_{ref}(t)$. Le triplet donnant une erreur résiduelle d'ajustement minimale est choisi. Il conduit à la solution optimale de BP , k_2 et R_1 . Cette

méthode offre une vitesse de résolution et une robustesse accrue. Elle constitue la méthode de résolution usuellement utilisée pour la méthode SRTM.

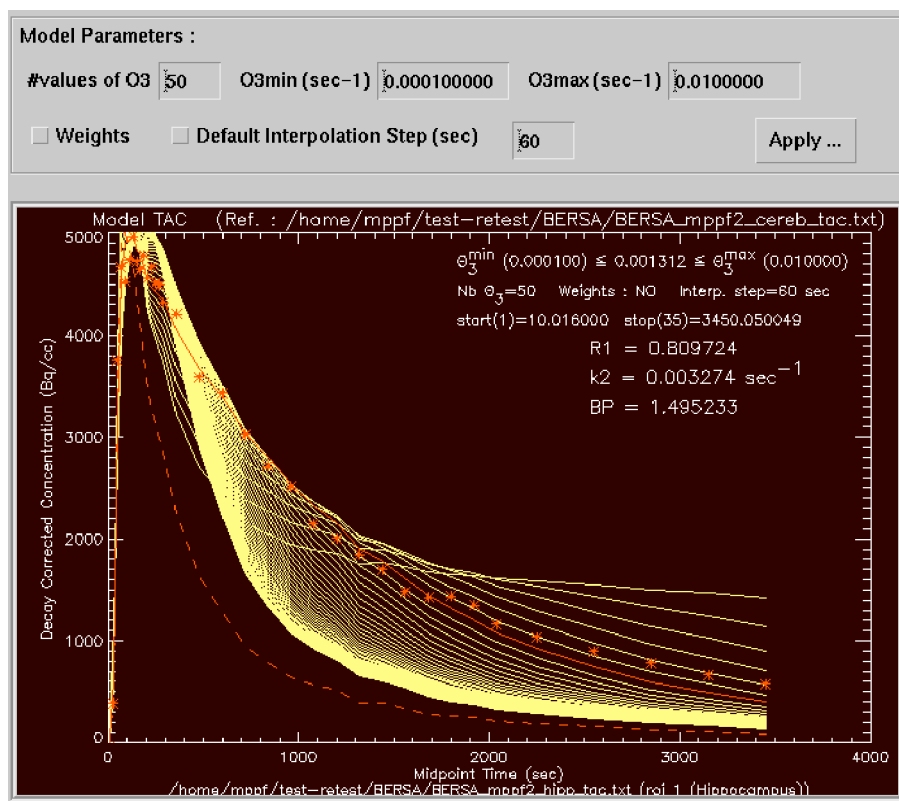


Figure 32
Modèle SRTM avec fonctions de base (Gunn) pour le $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$.
Pointillés : courbe de référence, $C_{\text{ref}}(t)$
Etoiles rouges : points de mesure de région d'intérêt, $C_{\text{roi}}(t)$,
Trait plein jaune : 50 courbes de bases créées pour 50 valeurs θ_3 ,
Trait plein rouge : meilleur ajustement par le modèle SRTM, avec l'équation 43.

Cette méthode fournit des résultats fiables et quantitatifs qui autorisent le calcul d'images paramétriques de BP , k_2 et R_1 (cf. Figure 37, Figure 36, Figure 34) dans des expériences à une seule injection, sans prélèvement artériel, avec un biais sur l'estimation de BP inférieur à 10% de la valeur identifiée par une méthode multiinjections. C'est maintenant une méthode de référence qui a trouvé quelques améliorations pour la réduction de bruit en fixant des contraintes sur l'identification de k_2 (Wu and Carson 2002) ou des contraintes d'homogénéité spatiale (Zhou, *et al.* 2003).

1.4.4 Imagerie paramétrique

En règle générale, les méthodes d'identification de paramètres d'échanges et de fixation des échanges ligand-récepteurs en TEP s'appliquent à des cinétiques régionales. Une TAC régionale étant la moyenne de quelques dizaines à centaines de mesures élémentaires (le voxel), le niveau de bruit est divisé par à la racine carré du nombre de voxels inclus dans la région.

Cette analyse régionale fondée sur la délimitation de *régions d'intérêt* (region of interest, *ROI*) applique les hypothèses de modélisation sur des groupements de voxels tracés manuellement à partir de la connaissance anatomique des régions fonctionnelles (Evans, *et al.* 1988; Roland and Zilles 1994), ou déduites par segmentation automatique des données de l'IRM individuelle, en référence à un atlas (Atkins and Mackiewicz 1998; Clarke, *et al.* 1995; Collins, *et al.* 1999; Collins, *et al.* 1998). La difficulté

réside dans le fait qu'il faut, d'une part, disposer d'une IRM de l'individu, d'autre part, qu'elle soit parfaitement recalée avec l'image fonctionnelle TEP, et enfin, que la structure cérébrale d'intérêt présente un contraste de gris identifiable dans l'IRM. Ces trois conditions n'étant pas systématiquement réunies, une alternative consiste à appliquer le modèle au niveau de chaque voxel élémentaire.

Cette deuxième approche permet de créer des images paramétriques dans lesquelles les valeurs des paramètres d'un modèle compartimental, complet ou simplifié, sont calculées au niveau de chaque voxel. Les mêmes formulations sont utilisées dans le calcul : les cinétiques de chaque voxel entrent dans le calcul de l'identification des paramètres du modèle, avec soit la fonction d'entrée artérielle pour un modèle complet, soit une fonction tissulaire de référence pour un modèle simplifié.

En général, l'incertitude de la convergence du modèle est plus grande que dans l'identification d'une ROI, mais elle est suffisamment stable, par exemple pour le modèle SRTM, pour être pratiquée avec la plupart des traceurs.

Le résultat est une image tridimensionnelle du paramètre d'intérêt DVR (Figure 35) pour Logan, BP , k_2 et R_1 (Figure 37, Figure 36, Figure 34) pour le modèle SRTM. Un masque binaire ou adaptatif est parfois appliqué sur le niveau d'intensité des voxels de l'image brute originale de radioactivité, afin de calculer le modèle uniquement sur une sous population de voxels pertinents (par exemple situés dans la substance grise cérébrale et laissant de côté les voxels de la substance blanche).

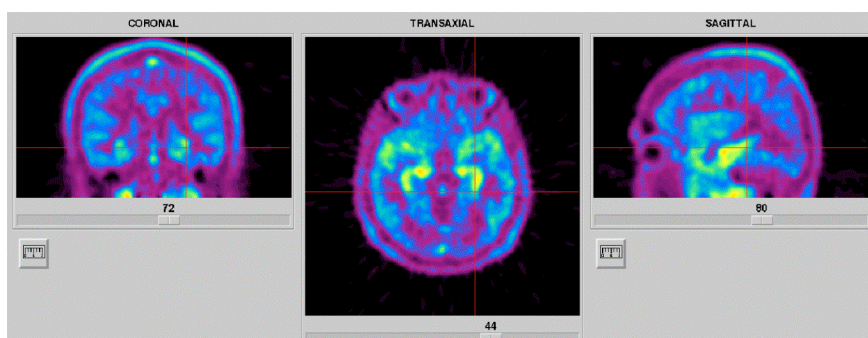


Figure 33
Image somme de 0
à 60 minutes post
injection de
[^{18}F]MPPF

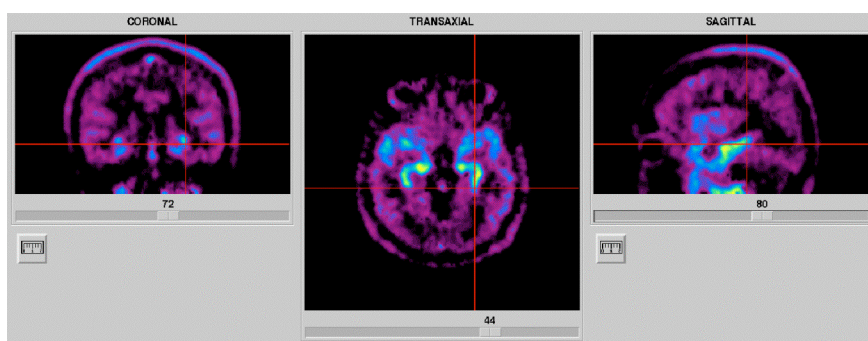


Figure 37
Image
paramétrique de
potentiel de liaison
(BP) du [^{18}F]MPPF
calculée par un
modèle SRTM

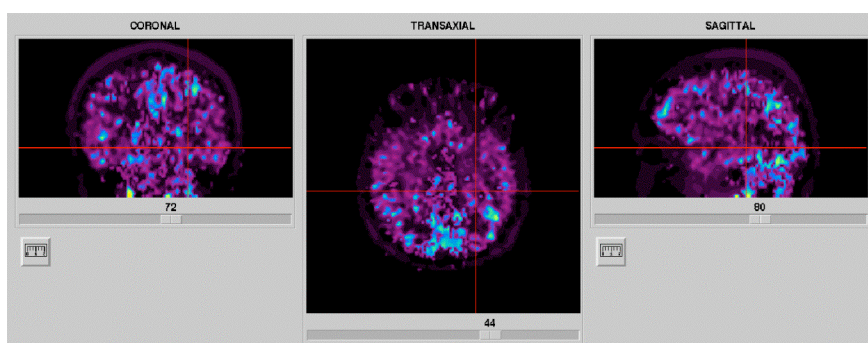


Figure 36
Image
paramétrique de k_2
du [^{18}F]MPPF
calculée par un
modèle SRTM

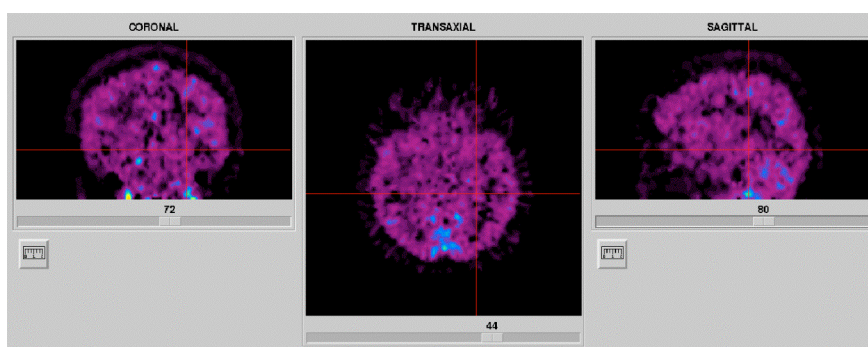


Figure 34
Image
paramétrique de R_1
du [^{18}F]MPPF
calculée par un
modèle SRTM

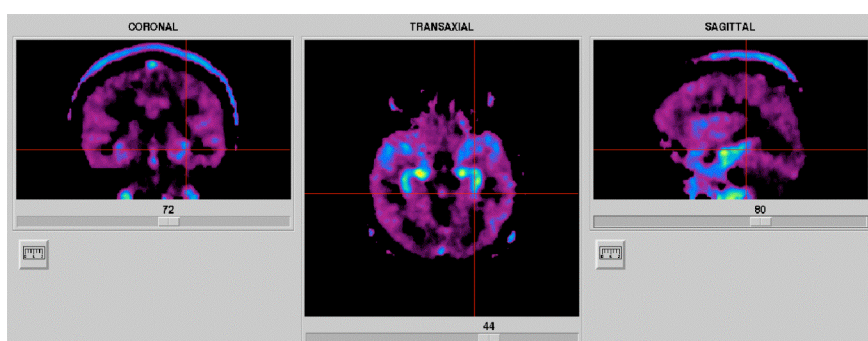


Figure 35
Image
paramétrique de
DVR du [^{18}F]MPPF
calculée par un
modèle Logan

1.4.5 Analyse statistique paramétrique

L'analyse statistique est l'étape ultime du traitement des données d'imagerie fonctionnelle des échanges ligands récepteurs en TEP. Elle peut être pratiquée au niveau des régions d'intérêts définies lors de la modélisation. Dans ce cas, la délimitation arbitraire des zones d'intérêt risque de masquer des modifications paramétriques qui se situeraient en dehors des ROIs, ou à une résolution inférieure à celle des ROIs. Les méthodes ROI ont, de plus, l'inconvénient d'être dépendantes de l'opérateur de la segmentation lorsque celle-ci est manuelle, ou dépendantes de l'atlas utilisé dans la segmentation manuelle.

Une alternative offerte par les images paramétriques consiste à se placer dans un espace stéréotaxique et à pratiquer une analyse paramétrique voxel-à-voxel.

NORMALISATION

Dans ce cas, la normalisation spatiale, qui consiste à replacer les volumes individuels dans un espace stéréotaxique standard, constitue l'étape préalable indispensable à la comparaison statistique des données paramétrique interindividuelles.

L'algorithme de normalisation a pour but de minimiser les différences de recalage et de forme entre l'image et un modèle de cerveau stéréotaxique (le « template »). Plus exactement, il minimise la différence mesurée par un critère de similarité entre l'image de l'individu et un template.

Cette normalisation a trois objectifs :

1. Se placer dans un espace de référence pour repérer plus spécifiquement les lieux de modification de paramètres de fixation du traceur.
2. Pouvoir superposer les images voxel à voxel de sujets d'anatomie différente, de manière à ce qu'une coordonnée de l'espace stéréotaxique corresponde à un voxel de la même structure cérébral chez chacun des sujets.
3. Assurer cette superposition, de manière à pouvoir pratiquer une analyse statistique sur un champ tridimensionnel et réaliser des cartes statistiques paramétriques

L'objectif est très ambitieux étant données les différences anatomiques interindividuelles. Néanmoins, il est montré que la précision des méthodes automatiques de normalisation spatiale est supérieure à la résolution de la TEP (aux environs de 6 mm dans les trois directions).

Les méthodes de normalisation (Ashburner and Friston 1999; Collins, *et al.* 1994) reposent généralement sur un algorithme en deux étapes :

- Une première série d'itérations recherchant les paramètres de transformation rigide (3 translations, 3 rotations, 3 changements

d'échelle), permettant de replacer le cerveau individuel dans l'espace standard.

- Une deuxième boucle itérative cherchant à identifier les paramètres de transformation élastiques, permettant de transformer un cerveau individuel vers un cerveau standard de taille et forme correspondant au cadre stéréotaxique.

La communauté internationale des neuroimageurs a opté pour le cadre stéréotaxique de Talairach et Tournoux (Talairach and Tournoux 1988) (Figure 38), dont l'implémentation numérique en IRM a été réalisée par le consortium ICBM (International Consortium for Brain Mapping, (Mazziotta, *et al.* 2001) <http://www.loni.ucla.edu/ICBM/>)

L'espace d'arrivée est conforme aux origines et axes définis par Talairach. Il représente un volume de 91 coupes de 2 mm d'épaisseur, constitué de plans transverses de 128x128 voxels de taille 2 mm x 2 mm (Friston, *et al.* 1994).

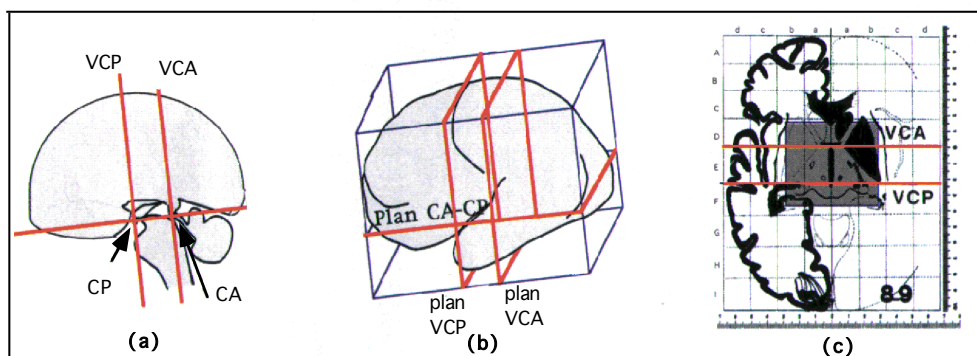


Figure 38
Normalisation
stéréotaxique : Les
images de chaque
individu sont
réorientées dans le
référentiel basé sur
la commissure
antérieure CA et la
commissure
postérieure CP. Ce
référentiel est
formé de 3 plans :
un plan horizontal
CA-CP, et 2 plans
verticaux VCA et
VCP. Dans ce
système, chaque
voxel de l'image
est repéré par ses
coordonnées (x, y,
z). L'atlas de
Talairach permet
de trouver la
correspondance
entre les
coordonnées (x, y,
z) et une structure
cérébrale.

La normalisation se pratique avec l'IRM anatomique ou avec une image fonctionnelle contenant le maximum d'informations anatomiques. Une image somme de l'acquisition dynamique TEP présente souvent des caractéristiques suffisantes à la normalisation car elle résume tout le parcours du traceur dans le réseau vasculaire et tissulaire.

Dans une démarche d'utilisation nouvelle d'un traceur TEP, nous verrons qu'il convient de réaliser un template pour chaque nouvelle molécule, selon la méthodologie définie dans (Meyer, *et al.* 1999).

CARTES STATISTIQUES PARAMETRIQUES, LE MODELE LINEAIRE GENERALISE

Les données expérimentales formées par une série d'acquisitions peuvent être statistiquement analysées par une régression multiple, dans laquelle la covariation des voxels est évaluée selon des facteurs paramétriques.

Pratiquée au niveau de chaque voxel, l'analyse statistique paramétrique évalue dans une analyse *post-hoc* les différences factorielles par un test de différence de moyennes. Dans cette optique (Friston, *et al.* 1994) ont implémenté le modèle linéaire généralisé dans un logiciel quasi unanimement utilisé, SPM (Statistical Parametric Mapping, du Wellcome

Le modèle linéaire généralisé lie la valeur d'un voxel à une somme de termes représentant les sources de variation de la mesure (les facteurs) et d'un terme d'erreur résiduel. Dans le cas de la quantification des échanges ligand récepteur, la valeur d'un voxel correspondant à une valeur d'indice d'un modèle. Le terme d'erreur est supposé indépendant et identiquement distribué selon une loi normale de variance égale sur toutes les conditions d'une étude.

La valeur du voxel j , lors de la condition de mesure i pour K facteurs s'exprime donc par :

$$x_{ij} = \sum_{k=1}^K g_{ik} \times \beta_{kj} + e_{ij} \quad \text{Eq. 51}$$

de façon matricielle

$$X = G.B + e \quad \text{Eq. 52}$$

La matrice X est la matrice des mesures, elle comporte autant de colonnes qu'il y a de voxels analysés, et autant de lignes qu'il y a de mesures expérimentales (N).

La matrice $G = [g_{ij}]$ est la matrice de dessin expérimental. Elle est connue avant l'expérience. Elle représente le dessin expérimental qui a donné lieu à l'ensemble des mesures $X=[x_{ij}]$. C'est une extension de la matrice d'expérience : elle contient autant de ligne qu'il y a d'acquisitions dans l'expérience (N) et autant de colonnes que d'effet.

Les K coefficients g peuvent être de deux types : continus, ils reflètent la valeur d'un paramètre physique au cours de l'acquisition (débit sanguin global, temps, performance du sujet), ou discrets, ce sont les variables muettes qui prennent des valeurs entières indiquant la présence ou le niveau d'un facteur (condition, sujet, présence d'une drogue...).

La matrice B est appelée matrice des effets. Elle est formée par les facteurs β_{kj} qui représentent la part proportionnelle de la mesure dont l'origine est due au paramètre g_k .

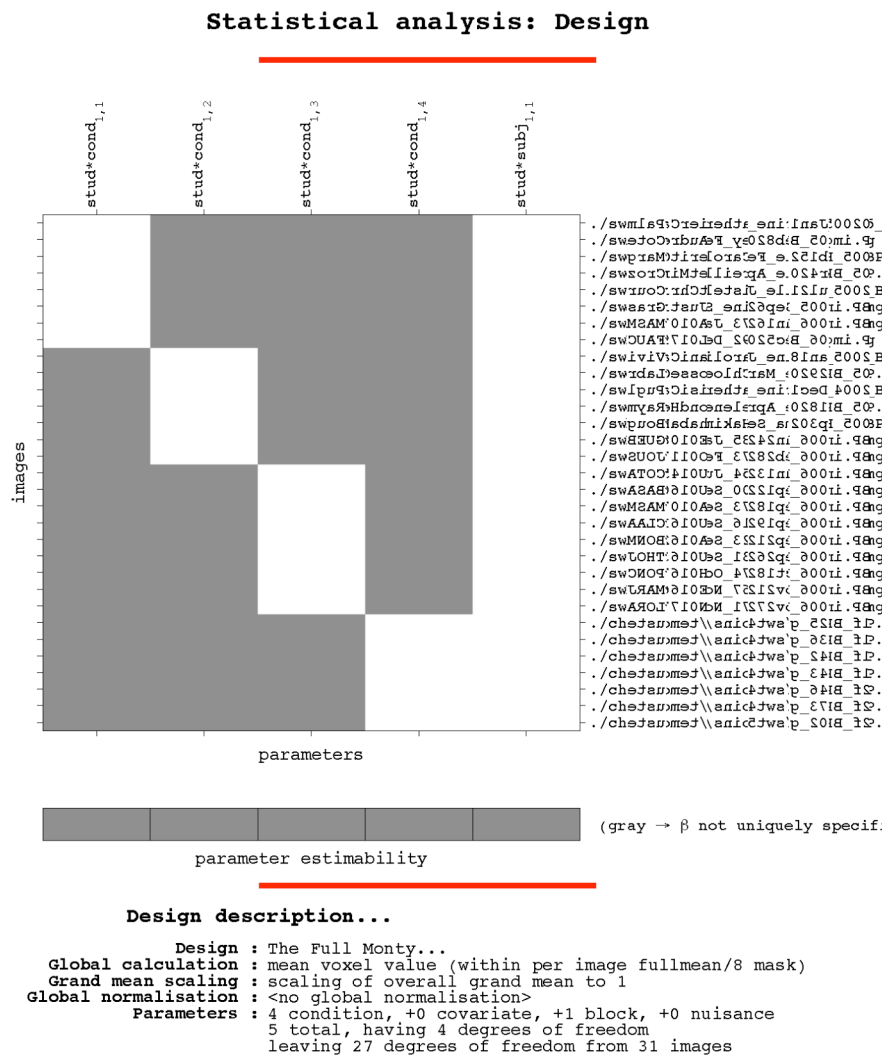


Figure 39
Matrice de dessin
expérimental
pour une
expérience
réalisée sur 4
groupes de sujets.
Chaque ligne
correspond à une
image, chaque
colonne à une
condition
(groupe).
Le bas de page
indique un degré
de liberté
résiduel de 27,
car 4 facteurs
sont estimés à
partir de 31
mesures.

La résolution du système d'équation linéaire par inversion de l'équation 46 et estimation par la méthode des moindres carrés permet d'obtenir une estimation $b = [b_{kj}]$ des coefficients β_{kj}

$$b = (G^t G)^{-1} G^t X \quad \text{Eq. 53}$$

où t représente l'opération de transposition.

Les facteurs de variation modélisés sont séparés entre facteurs d'intérêt (conditions expérimentales) et de non-intérêt (effet sujet, âge...), ce qui revient à fragmenter la matrice des effets en deux :

$$G = [G_{int} | G_{non int}] \quad \text{Eq. 54}$$

Il est donc possible de calculer une valeur résiduelle du vecteur de mesure X , ayant retiré pour chaque voxel l'estimation des effets de non-intérêt.

$$X_{res} = X - G_{non int} b_{non int}^t \quad \text{Eq. 55}$$

Un test F peut être alors effectué entre la variance des effets d'intérêt et la variance résiduelle pour répondre à la question initiale, l'hypothèse nulle étant que la variance des effets d'intérêt ne varie pas au cours des conditions de mesures expérimentales.

Écartant ainsi les voxels qui ne varient pas avec les facteurs d'intérêt retenus, on crée alors un contraste *post-hoc* regroupant les comparaisons à effectuer entre les conditions. On calcule une carte statistique t résultant du produit du facteur de contraste et de l'activité résiduelle estimée, divisée par une estimation de l'erreur standard à chaque voxel.

Chaque comparaison est donc illustrée par une carte statistique paramétrique (CSP) de t , puis transformée en une distribution Z (Figure 40).

La difficulté d'interprétation des CSP vient du fait qu'elles sont le résultat de plusieurs centaines de milliers de tests (autant que de voxels inclus dans la carte statistique), qui ne sont pas totalement indépendants. Leur degré de dépendance est fonction de la corrélation spatiale entre voxels voisins et plus généralement des caractéristiques de forme (taille, convexité, ...) du volume dans lequel s'effectuent les tests. L'enjeu est de déterminer le seuil de confiance de rejet l'hypothèse nulle, puis de caractériser, en termes d'intensité et de taille, les zones de l'image présentant un rejet significatif de l'hypothèse nulle.

NIVEAU DE PROBABILITE

Probabilité d'obtenir un pic de hauteur Z_{max}

L'objectif est de repérer dans la CSP les régions dans lesquelles la variation de mesure a été significative. Une solution est de trouver le seuil Z au-dessus duquel ce risque réel est suffisamment bas. L'hypothèse sous-jacente à la recherche de ce seuil critique est que la distribution Z obtenue est dérivée de la théorie des champs gaussiens stochastiques, stationnaires et continus. Cette hypothèse est acceptable pour un nombre de degrés de liberté relativement élevé (>15), dès lors que le treillis de représentation du champ (= l'échantillonnage) est raisonnablement supérieur à la résolution du champ gaussien. Le principe de l'expression établie par (Worsley, *et al.* 1995b) est le suivant : la probabilité de trouver un voxel de valeur Z , supérieur ou égal à un seuil u , dans un volume de recherche S ($P(Z > u)$) est la même probabilité que la valeur maximale Z soit supérieure à u ($P(Z_{max} > u)$). Ce qui revient à la probabilité de trouver une région supérieure à u . Or, on montre que cette probabilité tend vers l'espérance mathématique du nombre de régions supérieures à u . Une bonne approximation de cette espérance est la caractéristique d'Euler de la région d'excursion dont on connaît une formule littérale de calcul.

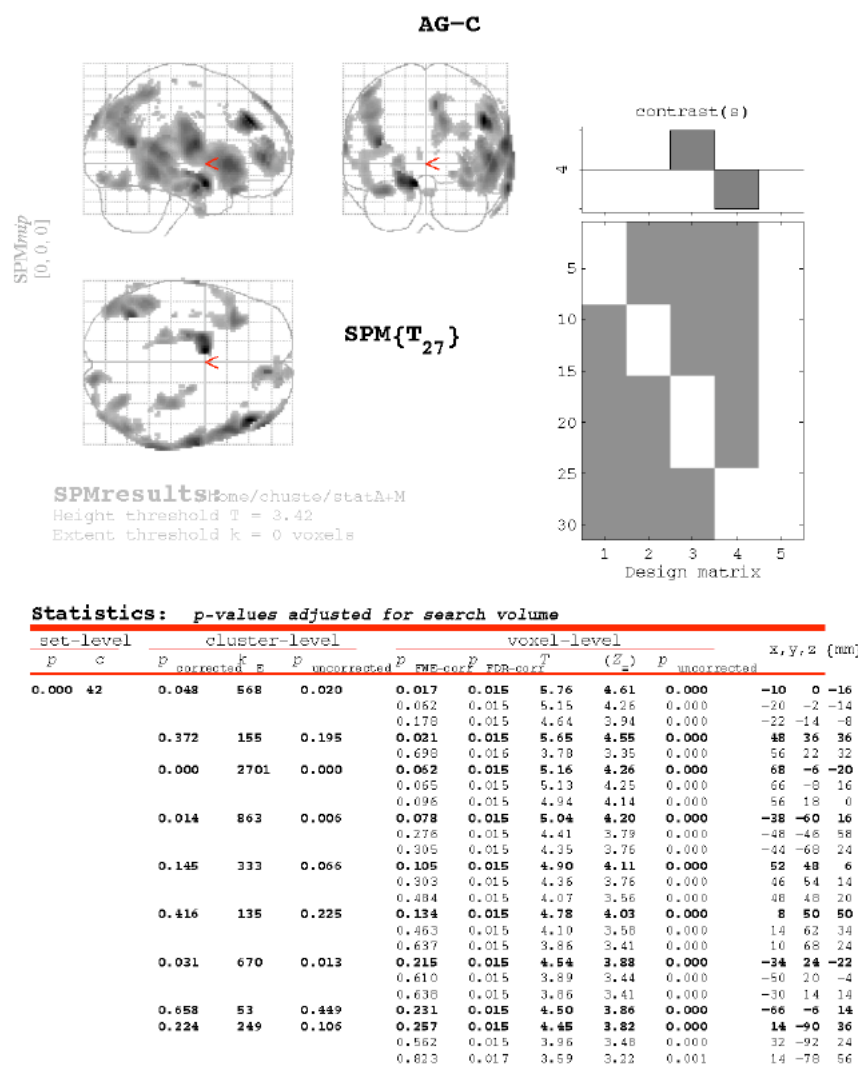


Figure 40
Feuille de résultat
SPM d'un test post-
hoc de
comparaison de
moyennes de 2
groupes.
L'image est une
projection du
maximum dans
chacune des trois
directions de
l'espace.
Le tableau donne
pour chaque
groupement :
Au niveau du voxel
(voxel-level) la
coordonnée du
maximum (x, y, z),
le score t et Z du
maximum, la
probabilité non-
corrigée $P_{uncorrected}$ et
corrigée P_{FWE} du
score du
maximum,
Au niveau du
groupement de
voxel (cluster-
level), la taille (k),
la probabilité du
groupement
 $P_{uncorrected}$ et la
probabilité
conjointe du
cluster et du Z score
de son pic
($P_{corrected}$).

Ainsi en trois dimensions (Worsley 1995),

$$P(Z \max > u) \approx \frac{Volume}{FWHM^3} \frac{(4 \ln 2)^{3/2}}{(2\pi)^2} (u^2 - 1) e^{-\frac{u^2}{2}} \quad \text{Eq. 56}$$

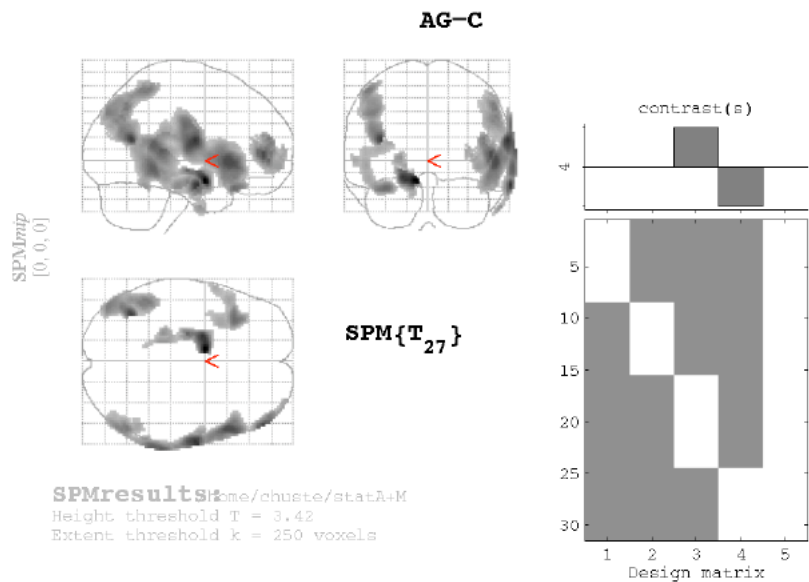
où FWHM est la largeur à mi hauteur de la fonction de réponse impulsionnelle (la résolution du signal).

La taille des régions significatives a aussi son importance. Pour évaluer son influence on estime la probabilité qu'un groupement de n voxels contigus (cluster), individuellement significatifs, existe dans le champs gaussien. D'une manière plus empirique (Worsley, et al. 1996), on peut aussi établir aussi la probabilité d'occurrence d'une telle région de taille n supérieure à un seuil u .

$$P(n > u) \quad \text{Eq. 57}$$

L'exploration de la CSP revient donc à fixer un seuil de sélection des tests individuels de chaque voxel ($p > 0,001$), non-corrigé pour des tests multiples, et à calculer la probabilité du maximum de cette région (Equation 56), la probabilité de la taille de la région (Equation 57), et la probabilité conjointe des deux (Figure 41).

Figure 41
Feuille de résultat
SPM de la même
comparaison que
la Figure 40. La
CSP a été seuillée
pour ne conserver
que les clusters de
plus de 250 voxels.
En conséquence
seule la probabilité
conjointe du
cluster et du Zscore
de son pic
($P_{corrected}$), change.



Statistics: p-values adjusted for search volume												
set-level		cluster-level			voxel-level					x, y, z (mm)		
p	c	p _{corrected}	k	p _{uncorrected}	p _{FWB-corr}	p _{SPR-corr}	T	(Z _{max})	p _{uncorrected}			
0.000	5	0.048	568	0.020	0.017	0.015	5.76	4.61	0.000	-10	0	-16
					0.062	0.015	5.15	4.26	0.000	-20	-2	-14
					0.178	0.015	4.64	3.94	0.000	-22	-14	-8
					0.065	0.015	5.13	4.25	0.000	66	-6	16
0.000	2701	0.000	2701	0.000	0.062	0.015	5.16	4.26	0.000	68	-6	-20
					0.065	0.015	5.13	4.25	0.000	66	-6	16
					0.096	0.015	4.94	4.14	0.000	56	18	0
					0.078	0.015	5.04	4.20	0.000	-38	-60	16
0.014	863	0.006	863	0.006	0.276	0.015	4.41	3.79	0.000	-48	-46	58
					0.305	0.015	4.35	3.76	0.000	-44	-68	24
					0.105	0.015	4.90	4.11	0.000	52	48	6
					0.303	0.015	4.36	3.75	0.000	46	54	14
0.145	333	0.066	333	0.066	0.484	0.015	4.07	3.56	0.000	48	48	20
					0.215	0.015	4.54	3.88	0.000	-34	24	-22
					0.610	0.015	3.89	3.44	0.000	-50	20	-4
					0.638	0.015	3.86	3.41	0.000	-30	14	14

L'ensemble de cette procédure de recherche est implémenté dans le logiciel SPM (MRC Cyclotron Unit, London, UK)(Friston, *et al.* 1997).

1.5 Application aux traceurs du 5HT_{1A}

1.5.1 Les traceurs du 5-HT_{1A}

Le récepteur 5HT_{1A} possède une haute affinité pour la sérotonine endogène ainsi que pour de nombreux composés chimiques synthétiques agonistes et antagonistes. Certains ont pu être utilisés en imagerie. L'un des agonistes les plus répandus est l'aminotétraline 8-OH DPAT (Gozlan, *et al.* 1983), utilisée dans les études pharmacologiques (Hjorth and Sharp 1991; Johnson, *et al.* 1997). D'autres composés montrent des profils pharmacologiques d'interactions avec le 5-HT_{1A} plus complexes. Parmi les antagonistes à forte affinité, le WAY-100635 est apparu comme étant un des ligands les plus prometteurs (Cliffe, *et al.* 1993). Ce dérivé de la piperazine a été identifié comme étant hautement sélectif de 5-HT_{1A}, tant sur les sites présynaptiques que postsynaptiques. Plusieurs dérivés ont été marqués au carbone 11 et évalués comme traceurs TEP potentiels (voir (Pike, *et al.* 2000) et (Lang, *et al.* 2000) pour une revue). Le [O-méthyl-¹¹C]WAY100635 a initialement été identifié comme traceur *in vivo* du 5-HT_{1A} chez le rongeur et le singe (Mathis, *et al.* 1994), puis chez l'humain (Pike, *et al.* 1996). Cependant, chez l'humain et le primate, les métabolites du [O-méthyl-¹¹C]WAY100635 traversent la barrière hémato-encéphalique et affectent la pureté du signal TEP par une fixation non-spécifique. Le marquage de composés a donc été chimiquement modifié en [carbonyl-¹¹C]WAY100635, pour générer un traceur se dégradant en métabolites radioactifs polaires ne traversant pas la BHE (Pike, *et al.* 1996). Ce traceur a largement été utilisé dans les études physiopathologiques humaines (Cliffe, *et al.* 1993), pour caractériser les modifications de densité de récepteurs dans différentes pathologies et conditions pharmacologiques. Néanmoins la haute affinité du WAY-100635 pour les récepteurs 5-HT_{1A} empêche les études compétitives entre traceur et ligand endogène. C'est pourquoi l'intérêt des radiochimistes s'est porté sur de nouveaux dérivés de présentant une bonne sélectivité, mais une affinité moyenne pour les 5-HT_{1A}. Dans un premier temps la phényl-piperazine iodée p-MPPI dont l'affinité *in vitro* a été évaluée à $3,3 \pm 0,8$ nM (Ki) chez le rat (Kung, *et al.* 1994; Zhuang, *et al.* 1994). Puis le p-MPPF qui s'est avéré être un ligand très sélectif des récepteurs 5-HT_{1A} pré- et postsynaptiques (Thielen and Frazer 1995). Son traceur, marqué au tritium (³H) a été évalué *in vivo*, révélant une affinité importante et sélective au 5-HT_{1A}, avec une constante de dissociation (Kd) de 0,34 nM, permettant de mesurer une densité de récepteurs (B_{max}) de 145 fmol/mg protéine dans une membrane d'hippocampe de rat (Kung, *et al.* 1996). Ces résultats ont encouragé le marquage du MPPF par un isotope émetteur de positons, le fluor 18 (Shiue, *et al.* 1997).

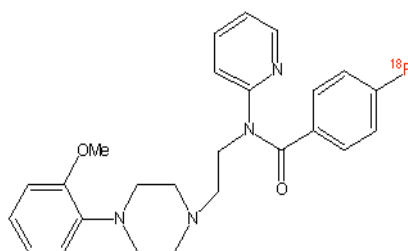
1.5.2 Le [^{18}F]MPPF

Parmi les radioligands sérotoninergiques spécifiques des récepteurs 5HT_{1A} , le 2'-methoxyphenyl-(N-2''-pyridinyl)-p-fluorobenzamido-ethyl-piperazine ou MPPF (Figure 42) marqué au Fluor 18 offre à la fois une affinité proche de celle de la sérotonine vis à vis de ses récepteurs et une demi-vie assez longue. La radiosynthèse initiale reposait sur une substitution nucléophile aromatique d'un précurseur nitro. Elle a été optimisée par (Le Bars, *et al.* 1998) conduisant à une procédure en une seule étape de synthèse, ce qui a permis l'automatisation du marquage et assure une haute activité spécifique du traceur (Le Bars, *et al.* 2001).

PRODUCTION DU [^{18}F]MPPF

Au CERMEP, la synthèse du [^{18}F]MPPF (Figure 42) est réalisée par un automate placé en cellule blindée (Figure 19). La production du fluor-18 est assurée par le cyclotron (cyclone 18/9, Ion Beam Application, Louvain-la-Neuve, Belgique) (Figure 18) avec la réaction nucléaire : $^{18}\text{O} (p,n) ^{18}\text{F}$. Le fluor est rendu anhydre avant la réaction de marquage sur le précurseur. Cette réaction consiste en une substitution nucléophile en présence d'un catalyseur, le Kryptofix 2.2.2, à 170 °C dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pendant 10 minutes (Le Bars, *et al.* 1998). Une pré-purification de ce produit est réalisée sur colonne afin d'éliminer les matières hydrophiles, puis une chromatographie liquide haute performance (HPLC) est effectuée afin d'obtenir la purification du radiopharmaceutique. Le [^{18}F]MPPF est finalement collecté, conditionné en vue d'une administration par injection intraveineuse et contrôlé pharmaceutiquement (HPLC avec double détecteur : UV + radioactivité). L'activité spécifique du produit fini est comprise entre 37 et 111 GBq/ μmol et la pureté radiochimique est de 99%.

Figure 42
Formule
topologique de la
molécule de
[^{18}F]MPPF,
le fluoro2'-
methoxyphenyl-(N-
2''-pyridinyl)-p- ^{18}F -
fluoro-
benzamidoethylpip-
erazine.



1.5.3 Démarche méthodologique pour la validation d'un nouveau traceur : le [^{18}F]MPPF

La mise au point radiochimique d'un nouveau traceur est le point de départ d'une série de caractérisations et d'évaluations qui conduisent radiopharmaceutique de l'étape moléculaire vers une utilisation clinique.

L'objet de cette thèse est de présenter les expérimentations nécessaires à la modélisation, à la quantification, à la paramétrisation, à l'évaluation

métrologique et à l'optimisation d'une imagerie quantitative TEP au [^{18}F]MPPF pratiquée chez l'homme.

Au démarrage de ces travaux l'état d'avancement de la question était la suivante.

CARACTERISATION *IN VITRO*

Une première caractérisation par autoradiographie *ex vivo* sur cerveau de rat a montré une capture rapide du [^{18}F]MPPF dans toutes les structures cérébrales, suivie d'une décroissance rapide de la radioactivité. Cependant, les cinétiques de décroissance variaient selon les structures, avec des vitesses les plus élevées au niveau du striatum et du cervelet, puis dans les régions corticales et enfin des cinétiques plus lentes dans les régions reconnues riches en récepteur 5-HT_{1A}, telles que l'hippocampe (Plenevaux, *et al.* 2000b; Shum, *et al.* 1994). Trente minute après injection, le rapport d'activité entre hippocampe et cervelet atteignait la valeur de 5. La liaison carbone-fluor s'est avérée stable et la métabolisation par défluorination n'était pas la voie prioritaire. La portion de [^{18}F]MPPF distribuée dans le cerveau représentait environ 0,05% de la dose injectée, ce qui est relativement faible par rapport au [O-méthyl- ^{11}C]WAY100635, pour lequel elle atteignait 0,46% (Mathis, *et al.* 1994). Les premières études autoradiographiques de (Kung, *et al.* 1996) au [^3H]MPPF avaient montré un marquage du cortex entorhinal, du septum latéral et du noyau dorsal du raphé (NRD). Cette distribution a été confirmée par l'étude de (Plenevaux, *et al.* 2000b), et coïncidait avec les études immunocytochimiques de (Kia, *et al.* 1996). Ces premières études ont donc confirmé la sélectivité du [^{18}F]MPPF pour les récepteurs 5-HT_{1A}.

CARACTERISATION *IN VIVO* CHEZ L'ANIMAL

Chez l'animal vivant anesthésié (rat, singe), les études microTEP au [^{18}F]MPPF ont confirmé le marquage sélectif de l'hippocampe et du raphé dorsal (Plenevaux, *et al.* 2000b). Par la suite, les études pré-cliniques de validation ont été menées chez le chat et comparées avec les données d'autoradiographie *in vitro* au [^3H]MPPF, [^3H]8-OH-DPAT et [^3H]Paroxétine (Ginovart, *et al.* 2000; Le Bars, *et al.* 1998). Elles confirment la distribution spécifique du [^{18}F]MPPF dans les structures riches en 5-HT_{1A} (hippocampe, gyrus parahippocampique, septum latéral, cortex cingulaire et noyau du raphé). Ces études ont permis le lancement de l'expérimentation humaine. Parallèlement elles se sont poursuivies pour afin d'évaluer en phase préclinique la réversibilité de la fixation du [^{18}F]MPPF, et de quantifier les fixations non-spécifiques. Ces deux paramètres se sont avérées extrêmement faibles (Aznavour, *et al.* 2006a). La même équipe a également testé les effets pharmacologiques d'antidépresseurs (Aznavour, *et al.* 2006b). Une étude récente, visant à évaluer le potentiel de liaison du [^{18}F]MPPF dans un modèle de dépression chez le primate (Shively, *et al.* 2006) montre une réduction du BP dans l'amygdale, l'hippocampe, le cortex cingulaire et le noyau du raphé.

Aux doses d'injection pratiquées en TEP, les études de toxicologie chez le rat ont permis d'éliminer le risque d'effet néfaste chez l'homme. Les premières études de biodistribution et de délimitation cérébrale du [^{18}F]MPPF ont donc pu être menées (Passchier and van Waarde 2001; Passchier, *et al.* 2000a). Sur les images d'équilibre, ces études montrent une distribution du traceur conforme à la distribution connue des 5-HT_{1A} cérébraux chez l'homme mesurée par autoradiographie (Hoyer, *et al.* 1986). De plus, les cinétiques régionales montrent une entrée et une sortie rapides du traceur dans le cervelet et le pons. En revanche, dans les régions limbiques cibles des neurones du Raphé (hippocampes, cortex cingulaire, entorhinal) la sortie du traceur est retardée, atteignant un pseudo-équilibre une vingtaine de minutes après injection. Une première modélisation (non-validée contre une modélisation complète multiinjection) a été pratiquée sur des données dynamiques de 13 sujets sains (Sanabria-Bohorquez, *et al.* 2002). Elle montre la faisabilité d'une modélisation simplifiée, mais n'a pas permis l'identification des paramètres complets de transport, d'association et dissociation, d'affinité et de densité locale de récepteur 5-HT_{1A}.

Pour cette dernière raison et parce que le traceur montrait un potentiel particulièrement intéressant, notamment en ce qui concerne l'exploration du système limbique, nous avons mis au point une procédure complète visant à exploiter le [^{18}F]MPPF en clinique.

Les travaux présentés dans cette thèse reprennent les étapes fondamentales préalables à l'utilisation clinique d'un traceur. Dans le chapitre II, nous abordons les conditions de réalisation d'une mesure quantitative de la fixation du [^{18}F]MPPF par le biais d'une expérience de multiinjection puis d'une validation d'un modèle simplifié. Dans le chapitre III, les conditions d'évaluation de la fixation normale du [^{18}F]MPPF sont exposées, à travers la constitution d'une base de données normative réalisée chez des hommes et femmes de 20 à 75 ans, puis dans des conditions de test-retest où la reproductibilité de la mesure est évaluée. Dans le Chapitre IV, nous exposons les conditions méthodologiques nécessaires au développement et à la validation d'outils de traitement et d'amélioration de la mesure quantitative, grâce à la création d'une base de données simulée servant de jeu de données de référence. Des exemples immédiats d'application seront également donnés : pour l'évaluation de la détectabilité de modification de la fixation par le ligand endogène, pour l'évaluation d'une méthode de correction de l'effet de volume partiel, et pour des études complémentaires en cours de développement. Dans le Chapitre V, nous exposerons les applications cliniques actuelles de ces développements ainsi que les perspectives de développement méthodologiques.

Chapitre II

Conditions méthodologiques pour la réalisation d'une mesure des échanges ligand-récepteurs par TEP au [^{18}F]MPPF: modélisation compartimentale

Ce chapitre expose les résultats d'une étude au [^{18}F]MPPF réalisée chez un groupe de sujets sains¹. Elle met en pratique les principes de modélisation compartimentale exposés dans le chapitre I.4.2.

Contexte

La sélectivité du [^{18}F]MPPF pour le récepteur sérotoninergique 5-HT_{1A} a été établie chez l'animal et chez l'humain à travers plusieurs études. La quantification de la fixation spécifique a jusqu'ici été pratiquée de façon relative sans validation formelle avec une méthode de référence.

Ce travail comporte une étude de quantification des échanges ligand-récepteurs en TEP réalisée grâce à un protocole double-injections. Cette identification a permis de valider un modèle simplifié de quantification mono-injection.

Méthodes

Chez un échantillon de cinq hommes sains, une acquisition dynamique de 160 minutes a été réalisée en TEP lors d'une injection à dose traceuse (temps 0) puis à dose de faible radioactivité spécifique (co-injection, temps environ 80 minutes). Une acquisition IRM anatomique 3D a également été réalisée chez chaque sujet. Les données de TEP et d'IRM ont été superposées pour permettre l'identification anatomique des régions cérébrales spécifiques de la distribution du [^{18}F]MPPF. Nous avons appliqué un modèle à trois compartiments pour modéliser les échanges ligand-récepteurs. Dans ce modèle, six paramètres sont à identifier : la fraction vasculaire (F_v), les constantes d'échange de traversée de la barrière hémato-encéphalique (K_1 , k_2), les constantes d'association et de dissociation de la fixation spécifique (k_{on}/V_r , k_{off}), la concentration locale de récepteurs disponibles (B_{max}). La constante de dissociation apparente à l'équilibre ($K_d V_r$), inverse de l'affinité, en a été déduite. Ces paramètres du modèle compartimental ont été identifiés par une procédure de résolution numérique avec les courbes de cinétiques TEP et la fonction artérielle

¹ Costes N, Merlet I, Zimmer L, Lavenne F, Cinotti L, Delforge J, Luxen A, Pujol JF, Le Bars D. (2002): Modeling [^{18}F]MPPF positron emission tomography kinetics for the determination of 5-hydroxytryptamine(1A) receptor concentration with multiinjection. J Cereb Blood Flow Metab 22(6):753-65.

corrigée des métabolites pour un ensemble de 17 régions d'intérêts cérébrales dessinées sur les IRM individuelles. Le volume de distribution relatif (DVR) ainsi que le potentiel de liaison (BP) ont été calculés analytiquement avec les paramètres identifiés par le modèle. Nous avons comparé ces valeurs analytiques au volume de distribution estimé par la méthode d'analyse graphique Logan des cinétiques TEP.

Modeling [^{18}F]MPPF Positron Emission Tomography Kinetics for the Determination of 5-Hydroxytryptamine(1A) Receptor Concentration With Multiinjection

*Nicolas Costes, *†Isabelle Merlet, *Luc Zimmer, *Franck Lavenne, *Luc Cinotti, ‡Jacques Delforge, §André Luxen, *Jean-François Pujol, and *Didier Le Bars

*Centre d'Exploration et de Recherche Médicales par Emission de Positons, Lyon, France, †Lyon Federative Institut of Neurosciences, Claude Bernard University, Lyon, France, ‡SHFJ, Commissariat à l'Energie Atomique, Orsay, France, and §CRC, Université de Liège, Belgium

Summary: The selectivity of [^{18}F]MPPF (fluorine-18-labeled 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2'-pyridinyl)-p-fluorobenzamido]ethylpiperazine) for serotonergic 5-hydroxytryptamine(1A) (5-HT_{1A}) receptors has been established in animals and humans. The authors quantified the parameters of ligand-receptor exchanges using a double-injection protocol. After injection of a tracer and a coinjection dose of [^{18}F]MPPF, dynamic positron emission tomography (PET) data were acquired during a 160-minute session in five healthy males. These PET and magnetic resonance imaging data were coregistered for anatomical identification. A three-compartment model was used to determine six parameters: F_v (vascular fraction), K_1 , k_2 (plasma/free compartment exchange rate), k_{off} , k_{on}/V_f (association and dissociation rate), B_{max} (receptor concentration), and to deduce K_d (apparent equilibrium dissociation rate). The

model was fitted with regional PET kinetics and arterial input function corrected for metabolites. Analytical distribution volume and binding potential were compared with indices generated by Logan-Patlak graphical analysis. The 5HT_{1A} specificity for MPPF was evidenced. A B_{max} of 2.9 pmol/mL and a K_d of 2.8 nmol/L were found in hippocampal regions, K_d and distribution volume in the free compartment were regionally stable, and the Logan binding potential was linearly correlated to B_{max} . This study confirms the value of MPPF in the investigation of normal and pathologic systems involving the limbic network and 5-HT_{1A} receptors. Standard values can be used for the simulation of simplified protocols. **Key Words:** Serotonergic 5-HT_{1A} receptors—Compartmental model—[^{18}F]MPPF—Positron emission tomography.

Serotonin is involved in the neuromodulation and neurotransmission of the mammalian nervous system and can modify a large variety of physiologic responses through multiple subtypes of receptors. Among the 17 subtypes of receptors identified to date, 5-hydroxytryptamine(1A) (5-HT_{1A}) is currently the most studied (Peroutka, 1995).

The involvement of 5-HT_{1A} serotonergic receptors in neurophysiologic and psychiatric disorders has been revealed in both the animal and human brain by autoradiographic postmortem studies. Abnormalities in 5-HT_{1A} receptor densities were found in the brains of patients with depression, dementia, and schizophrenia (Cowen,

2000). In addition, serotonin implication in epileptic seizure control via the 5-HT_{1A} receptors has been evidenced in rats (Statnick et al., 1996; Wada et al., 1997). Moreover, abnormal serotonin concentrations were found *ex vivo* in resected samples of cortex in epileptic patients (Louw et al., 1989; Pintor et al., 1990), and a decrease of 5-HT synthesis in epileptic areas was evidenced *in vivo* by PET using [^{18}F]AMT (Chugani et al., 1998).

Using positron emission tomography (PET), several carbonyl and fluoryl radioligands have been developed recently that allow for the *in vivo* quantification of 5-HT_{1A} receptors (Cliffe, 2000). [^{11}C]N(2-(4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl)ethyl)-N-(2-pyridinyl) cyclohexanecarboxamide ([^{11}C]WAY 100635) is an antagonist of the 5-HT_{1A} receptors. Delineation (Pike et al., 1995; Pike et al., 1996) and quantification (Farde et al., 1998; Gunn et al., 1998) studies showed a specificity and high affinity of [^{11}C]WAY 100635 for 5-HT_{1A} receptors. These studies confirmed that 5-HT_{1A} receptors are

Received October 18, 2001; final version received February 14, 2002; accepted February 14, 2002.

Address correspondence and reprint requests to Dr. Nicolas Costes, CERMEP, 59 Boulevard Pinel, 69003 Lyon, France; e-mail: costes@cermep.fr

located mainly in the limbic system, but are also present in the entorhinal and cingular cortex. However, WAY 100635 presents a much higher affinity (0.8 nmol/L) than serotonin to its own 5-HT_{1A} receptors (K_i = 4.7 nmol/L). Consequently, recent studies suggest that this ligand may not be the most suitable tool to study endogenous variations of serotonin concentration (Hume et al., 2001). The radiosynthesis of another PET tracer antagonist to the 5-HT_{1A}, 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2'-pyridinyl)-p-fluorobenzamido]ethylpiperazine (MPPF), was recently optimized and simplified (Le Bars et al., 1998). This tracer is an analogue of WAY 100635, labeled with fluorine-18 (¹⁸F]MPPF). *In vivo* and *ex vivo* distribution studies in the rat (Plenevaux et al., 2000b) and cat brain (Ginovart et al., 2000; Le Bars et al., 1998) confirmed a selective binding of the molecule in cerebral regions rich in 5-HT_{1A} receptors such as the dorsal raphe nuclei, hippocampus, cingular gyrus, or septum, and with less intensity in the neocortex (Plenevaux et al., 2000a). An initial examination of [¹⁸F]MPPF in healthy human volunteers showed a similar distribution (Passchier et al., 2000a). A recent analysis performed with a simplified method (quantification of binding relative to a reference tissue region) showed a good cerebellum-to-target-region ratio. This magnitude decreased by 40% after a blocking dose of pindolol, a competitive antagonist of 5-HT_{1A} receptors (Passchier et al., 2000b). These preliminary results, together with the longer half-life of ¹⁸F compared with [¹¹C] WAY 100635 and the lower affinity of MPPF for 5-HT_{1A} receptors (K_i = 3.3 nmol/L; Zhuang et al., 1994), emphasize the potential use of this ligand as a radiopharmaceutical for quantitative studies of the serotonergic 5-HT_{1A} system *in vivo*.

The aim of the present study was to perform a complete modeling of the *in vivo* kinetics of [¹⁸F]MPPF, including parameter estimation of (1) the transport from plasma to tissue, and (2) the specific binding of the ligand to the 5-HT_{1A} receptors. We used a multiple-injection protocol (Delforge et al., 1990) to estimate six parameters (vascular fraction, exchange rates, and receptor density) that in return were used to validate simplified quantitative methods.

MATERIALS AND METHODS

[¹⁸F]MPPF synthesis

[¹⁸F]MPPF was obtained by nucleophilic fluorination on a nitro precursor with a radiochemical yield of 20% to 25% EOS and a specific activity of 37 to 111 GBq/μmol. (Le Bars et al., 1998; Le Bars et al., 2001).

Experimental protocol

Subjects. Five healthy male volunteers (21–30 years) participated in the study. A medical interview and the inspection of the anatomical T₁ magnetic resonance (MR) image revealed that none of subjects had psychiatric or neurological illnesses. Subjects gave their informed consent to the protocol approved by the local ethical committee in accordance with the declaration of Helsinki. Subject's participation involved an MR imaging and a PET session.

Magnetic resonance imaging session. The MR imaging acquisition consisted of a three-dimensional anatomical T₁-weighted sequence on a 1.5-T Siemens Magnetom scanner (Siemens AG, Erlangen, Germany). The anatomical volume covered the whole brain with millimeter cubic voxels.

Positron emission tomography session. The PET session was performed on a CTI-Siemens HR+ (Knoxville, TN, U.S.A.) during the afternoon. Before the session, subjects received 330 mL water and a standardized meal (prepared by a dietetics unit) to normalize dietary input before the PET examination, and then were laid supine on the bed of the PET scanner. For blood sampling, a catheter was placed in the radial artery of the right arm using local anesthesia. For tracer injections, a second intravenous catheter was placed in radial vein of the left arm. For each subject a thermoformable head holder was molded to limit head movements during acquisition. Subjects were positioned in the PET scanner so that the crossed laser beam delimiting the axial field of view (15.2 cm) covered the brain. Before emission acquisition, a 10-minute transmission scan was performed using three ⁶⁸Ge rod sources for the measurement of tissue and head support attenuation.

Multiinjection protocol consisted of two [¹⁸F]MPPF bolus injections of 185 ± 9 MBq. The injections were performed at a mean interval of 88.5 ± 4.2 minutes. At time zero, the synthesis of [¹⁸F]MPPF was calibrated to a mean specific activity of 37 GBq/μmol. The first syringe contained a tracer dose of [¹⁸F]MPPF, whereas the second syringe was prepared by dilution with unlabeled MPPF to obtain a 10-times lower specific activity 80 minutes later (see Table 1 for details regarding concentrations and timing).

Two dynamic PET scans of emission were acquired to evaluate the local radiotracer concentration during the 70-minute period after each injection. Dynamic scans comprised 37 frames of increasing duration (20 seconds to 5 minutes), and a

TABLE 1. Numerical value of the experimental positron emission tomography multiinjection protocol parameters

Subject	Tracer injection, time 0				Coinjection				Apparent specific radioactivity (GBq/μmol)
	Dose (MBq)	Specific radioactivity (GBq/μmol)	Labeled dose (nmol)	Unlabeled dose (nmol)	Time (min)	Dose (MBq)	Labeled dose (nmol)	Unlabeled dose (nmol)	
1	203	33	6.1	0	87	170	5.1	52.3	3.0
2	199	37	5.38	0	94	184	5.0	44.8	3.7
3	190	37	5.14	0	84	195	5.3	47.4	3.7
4	185	37	5	0	89	192	5.2	74.6	2.6
5	191	24	7.94	0	80	180	7.48	196.2	1.0

Dose and specific activities are measured at the injection time.

total of 74 frames were analyzed. The PET scanner was operating in three-dimensional mode. Images were corrected for scatter and attenuation and were reconstructed using a filtered back projection (Hamming filter of cut-off 0.5 cycles/pixels) to provide a three-dimensional volume comprising 63 slices (2.42-mm thickness), with 128×128 voxels in plane (2.06×2.06 mm). In the center of the field of view, National Electrical Manufacturers Association protocol measured an nominal axial resolution of 4.1 mm and a nominal transverse resolution of 4.4 mm for a point source reconstruct with ramp filter (Brix et al., 1997).

Throughout the experiment, arterial blood samples were collected at different intervals after injection (12×15 , 3×30 , and 6×60 seconds, and 6×5 minutes). In general, 0.7 mL blood was withdrawn except at 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, or 70 minutes after injection, at which time 2.5 mL blood was collected to measure metabolite concentration. Blood samples were rapidly centrifuged, and the plasma was separated and assessed for radioactivity with an automated γ counter. In parallel, a plasma aliquot was denatured by acetonitrile containing a carrier amount of cold MPPF. Analytical high-pressure liquid chromatography was then performed on samples with radioactivity counting of the collected fractions.

Data analysis

Arterial function analysis. After correction for the decay of ^{18}F , time-activity curves of total blood and plasma were extracted and converted to time-concentration curves indicating the specific radioactivity of [^{18}F]MPPF. We evaluated the fraction in the plasma curve of nonmetabolized MPPF at different sampling times. The mean curve of the data regarding our five subjects was fitted in a least-square sense to a biexponential function (Levenberg-Marquardt method). For each subject we obtained the input function of the ligand in the vascular network by multiplying the time-concentration curves of plasma by the fitted unmetabolized fraction of [^{18}F]MPPF.

Image processing. From two dynamic acquisitions of 37 frames, we computed a static image of equilibrium from 20 to 70 minutes after injection. To correct for possible head movements, these static images were taken as reference for an automatic linear spatial alignment (Automated Image Registration package; Woods et al., 1992) of the two dynamic acquisitions. Subsequently, the bihippocampal plane was defined on the mean image of the aligned dynamics to reslice acquisitions in hippocampal orientation. The same transformation matrix was applied to the dynamic data set. Similarly, transverse MR images were reoriented in the hippocampal plane coregistered with the mean PET by means of AIR (Woods et al., 1993) and resliced with same sampling as the PET data. This image preprocessing resulted in a complete data set (anatomic MR imaging, and dynamic PET) with common orientation and size.

After registering these MR imaging data, we drew 27 volumes of interest using a contour tool (CAPP; CTI-Siemens). For each region the time-activity mean curves were extracted and converted into time-concentration curves. Volumes of interest were drawn in the cerebellum, pons, in the left and right cortical regions (occipital, temporal, prefrontal, inferior parietal, anterior cingulum, insula, temporal pole, and entorhinal), in the left and right amygdala, hippocampus, parahippocampus, and in the raphe nuclei, longitudinal sinus, and in a intensely labeled region in the posterior part of scalp. For the raphe nuclei, which are difficult to delineate on MR images, the contours were first drawn on the averaged PET image and then displayed on the subject's MR image to verify their proper location in the periaqueducal gray matter of the cerebral

trunk. Volumes of interest ranged from 0.37 cm^3 for the raphe nuclei to 15 cm^3 for the volume of interest traced in the temporal neocortex.

Compartmental model and tracer kinetics analysis

A three-compartment model was applied to quantify the exchanges of MPPF between vascular networks, tissues, and 5-HT $_{1A}$ receptors (Fig. 1; Appendix A).

From this model we applied two different approaches to estimate the 5-HT $_{1A}$ receptor binding (Appendix B). We performed (1) a complete nonlinear (CNL) resolution of the model with the arterial blood sample as input function and regional PET kinetics, where the six unknown parameters (K_1 , k_2 , k_{on}/V_r , k_{off} , B_{max} , and F_v) were identified by minimization of a weighted least-square method (CNL method); and (2) a graphical projection of the kinetics based on the Logan-Patlak plot (Logan method; Delforge et al., 1995; Logan et al., 1990), which determines the total distribution volume (DV) in a region (V_t^L). The relations between solved parameters of the CNL method and graphically estimated parameters of the Logan method are established in Appendix C. From the parametric results of the CNL method, analytical values for V_2 , V_3 , V_t , BP, and $BP^L_{analytic}$ were computed and compared with the graphical values obtained from plot of the Logan method (V_t^L and BP^L). The differences in regional distribution of model parameters and indices were evaluated with an analysis of variance. A significant threshold was set at 0.001. A Bonferroni correction was applied in case of multiple comparisons of nonindependent data.

RESULTS

Arterial concentration

The analysis of arterial concentrations of [^{18}F]MPPF and its metabolites revealed a rapid metabolization of the ligand (Fig. 2); within 10 minutes, 86% of the arterial MPPF was converted to one principal polar metabolite as measured by high-pressure liquid chromatography. The experimental arterial function was reproducible between

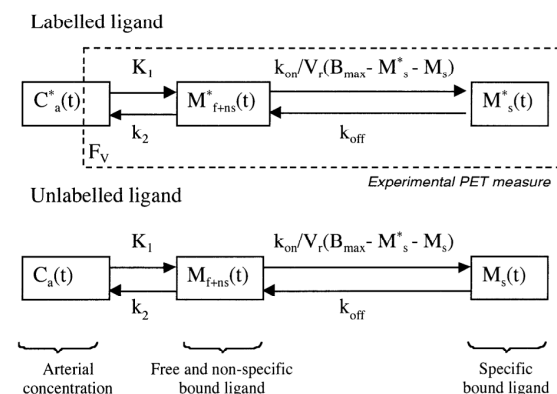


FIG. 1. Three-compartment ligand-receptor model adapted from Delforge et al., (1990). Exchange rates are linear, except for the specific binding rate, which is related to the bimolecular association constant k_{on} and to the available receptor site concentration (B_{max} minus labeled and unlabeled specifically bound ligand). The positron emission tomography experimental measures are the sum of labeled ligand concentration in the *free and nonspecific* compartment, and in the *specific* compartment plus the F_v fraction of arterial concentration in labeled MPPF.

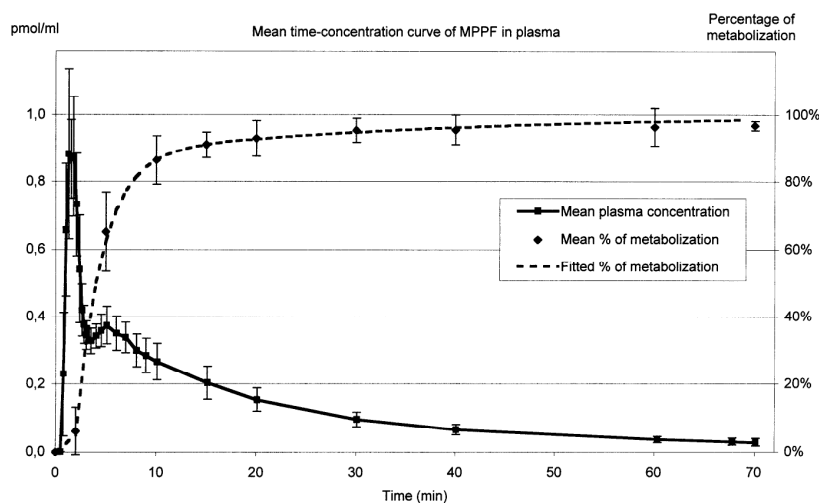


FIG. 2. Left scale: time-concentration curve of the MPPF in plasma in picomoles per milliliter. Right scale: percentage of metabolized [^{18}F]MPPF in plasma. Data are mean values $\pm$ SD for five subjects.

subjects and between injections. The percentage of metabolized [^{18}F]MPPF over time followed the equation $P_{\text{metab}}(t_{\text{min}} < 2) = 1$, and $P_{\text{metab}}(t_{\text{min}} > 2) = 1.79e^{-0.40} + 0.13e^{-0.03 t}$ with a standard error fit of 8%.

Positron emission tomography images

The PET static images (sum of images between 20 and 70 minutes after injection) showed a high uptake of the tracer in the hippocampi, parahippocampal gyri, and amygdala, and a less intense concentration in neocortical regions. The radioactivity in cerebellum, pons, and striatum was largely under the mean. On the contrary, the concentration of the tracer was high in the veins, sagittal sinus and carotids, and in the posterior aspect of the scalp. Raphe nuclei were identified in the cerebral trunk, in a region apparently devoid of tracer accumulation (Fig. 3).

Positron emission tomography kinetics

Time-concentration curves revealed a rapid inflow and washout in the cerebellum and the pons. On the contrary, in target regions, the time-concentration curves were delayed by an apparent fixation. The late accumulation in the region of the scalp has a delayed kinetic. The time-activity curve in raphe nuclei was very noisy. The variance of these regions revealed that noise in the raphe was the same magnitude as that in other randomly tested cortical regions of similar size. Examples of individual kinetic curves are presented in Fig. 4.

Model parameter estimation

Table 2 reports the estimation of the model parameters after fitting for the right hippocampus region and the right prefrontal cortex. Table 3 describes the average over five subjects of the model parameters after fitting.

To assess the interregional variability, we grouped regions in four categories: (1) the *limbic areas* (hippocampus and amygdala), (2) the *paralimbic area* (parahippo-

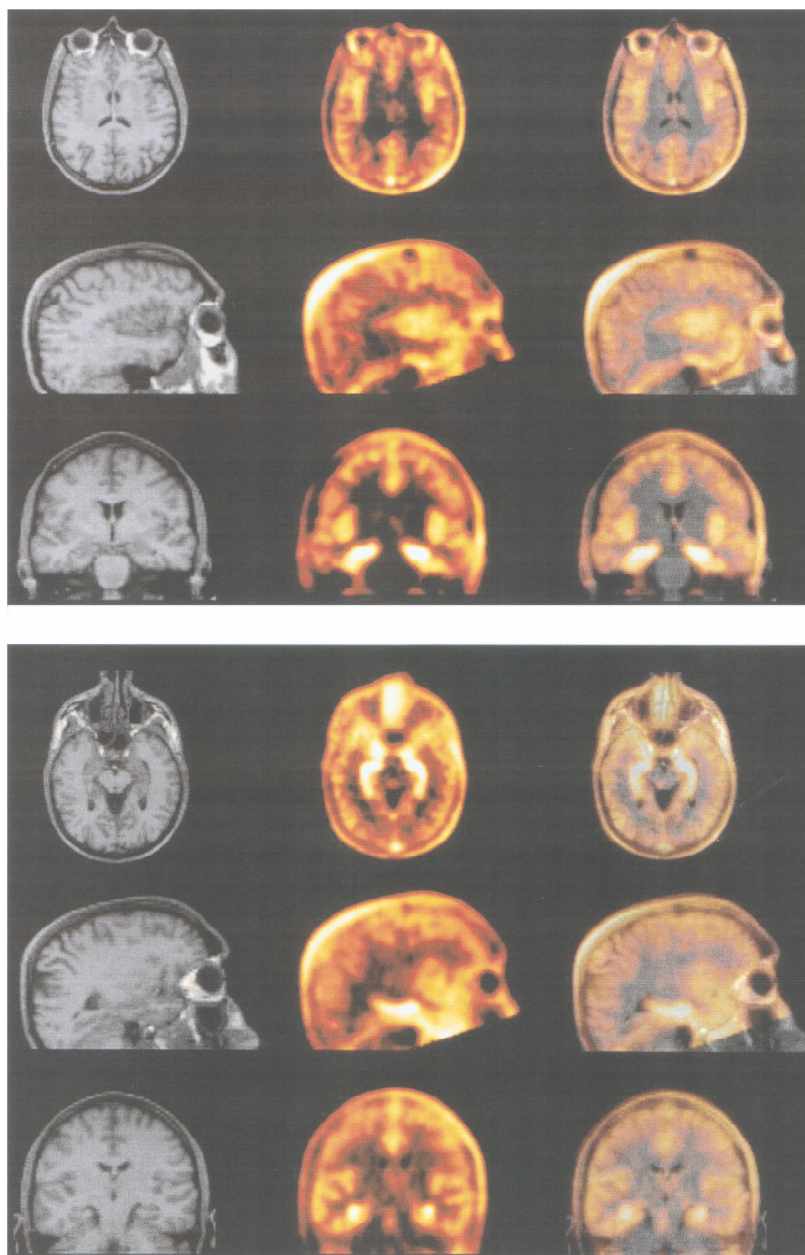
campal gyrus, entorhinal cortex, insula, cingulum, and temporal pole), (3) the *neocortical regions* (temporal, occipital, parietal, and prefrontal neocortex), and (4) *other regions* (cerebellum and pons).

Blood-brain barrier rate. The relative error of fit for the K_1 and k_2 parameters was small (2% to 6% error for K_1 , and 4% to 10% for k_2). K_1 was close to 0.100/min in limbic regions, superior to 0.110/min in neocortical areas, and approximately 0.095 in the cerebellum. A SD and a relative difference close to 20% were found between subjects. In the pons, the influx rate in the tissue compartment was smaller, with a value of 0.047/min. The k_2 values were regrouped the same way, and ranged from 0.135/min to 0.179/min in limbic regions, and from 0.220/min to 0.270/min in neocortical regions and in the pons. The value in temporal poles was intermediate ($k_2 = 0.180$ /min). Finally, the cerebellum showed the biggest washout, with a k_2 of 0.302/min.

Vascular fraction. The vascular fraction (F_v) was close to the standard value of 0.04 (the mean over regions and subjects was 0.041 ± 0.023). The blood-tissue partition was much higher in the cerebellum and in the pons, with values of 0.08 and 0.06, respectively. A variance analysis of F_v revealed that the differences between pons and cerebellum and all the other regions was significant ($P < 0.0002$), whereas the F_v values between limbic, paralimbic, and neocortical regions was not significant.

Binding parameters. The average density of 5-HT $_{1A}$ receptors ranged from 1.5 to 1.8 pmol/mL in the occipital, temporal, prefrontal, and parietal cortices. Densities ranged from 1.5 to 2.3 in the paralimbic regions group, with the lowest value in the anterior cingulate cortex. In limbic regions, the mean density ranged from 1.9 pmol/mL in the amygdala to 2.9 pmol/mL in the hippocampus. This density was significantly different in

FIG. 3. Images of anatomical magnetic resonance (MR) images and [^{18}F]MPPF positron emission tomography (PET). *Top:* view of the insula. *Bottom:* view of the hippocampic and raphe nuclei binding. MR (*left row*), [^{18}F]MPPF PET (*middle row*), and fusion (*right row*) images for subject 1.



limbic areas and in neocortical regions ($P < 0.018$, Bonferroni corrected). The temporal pole density was 2 pmol/mL. Among all regions, there was no significant difference between left and right values ($P > 0.17$), and left and right results are averaged in Tables 3 and 4. A mean receptor density of 1.77 pmol/mL (0.59 SD for a mean over the five subjects) was calculated for the raphe nuclei. We failed to identify a value of receptor density in the cerebellum and the pons using the three-compartment model because the standard error for $B_{\max}$ exceeded the tolerance threshold. Therefore, we had to

test two different models: a first model considering two compartments, and another introducing a third compartment to test for specific or nonspecific binding (Table 3). For the cerebellum, the best fit was found for the three-compartment model, whereas for the pons there was no significant difference in quality of fit between the two-compartment and three-compartment models.

Dissociation rate. The ratio between k_{off} and k_{on}/V_r was relatively constant over the regions. The mean value was $0.023/\text{min} \pm 0.016/\text{min}$ for k_{on}/V_r , and $0.047/\text{min} \pm 0.015/\text{min}$ for k_{off} . All regional values for

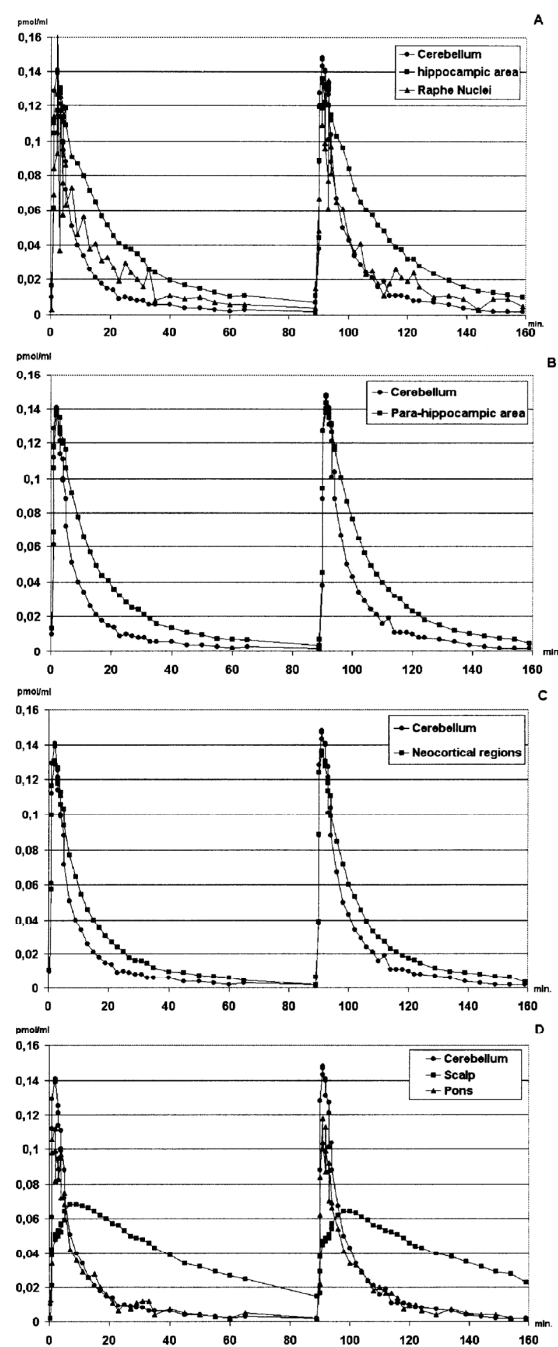


FIG. 4. Typical time-concentration curves in one subject after bolus injection at time zero and at time 89 minutes. Plots are corrected for decay of radioactivity. (A) Mean of hippocampal areas and raphe nuclei. (B) Mean of parahippocampal area. (C) Mean of neocortical regions. (D) Scalp and pons. Left and right curves are averaged, and in each plot the cerebellum is plotted for reference.

these parameters were included in the mean ± 2 SD range. No significant difference was found between regions or between groups of regions. Consequently, the apparent dissociation constant (K_d) was stable over regions, with a mean value of 2.8 ± 1.41 nmol/L.

Simplified method correlation

Analytical values of DVs and binding potential (BP) were computed from the model parameters and averaged over subjects on the data set of 23 regions (Eqs. 2, 3, 4, 5, and 6 in Appendix C). From the Logan-Patlak graphic, we evaluated the asymptote slope (V_t^L) and computed the binding potential (BP^L ; Eq. 1, Appendix B) using the cerebellum V_t^L as tissue reference. Results are reported in Table 4.

Distribution volume. The analytical nonspecific and free DV (V_2 , Eq. 2) had a mean value of 0.53 ± 0.08 . The highest values were found in paralimbic regions (0.59 ± 0.14), then in limbic areas (0.55 ± 0.09) and in neocortical regions (0.48 ± 0.10). The lowest values were calculated in the cerebellum (0.33 ± 0.1). A variance analysis performed on V_2 using region groups as a factor showed a significant regional variability ($P < 0.0001$). A *post hoc* analysis also revealed a significant difference between (1) the cerebellum and the other region groups ($P < 0.0001$) and (2) neocortical regions and paralimbic regions ($P < 0.0001$), but no significant difference between (3) paralimbic and limbic regions and (4) limbic and neocortical regions. The DV issued from the Logan method (V_t^L) ranged from 1.02 in cerebellum to 2.3 in hippocampus. The linear regression analysis of DVs computed on compartmental model parameters V_1 versus V_t^L , was significant: $V_t^L = 1.60 V_1 + 0.43$ ($R^2 = 0.86$, $P < 0.001$).

Binding potential. Analytical values of BP (Eq. 5) ranged from 0.43 in the cerebellum to 1.18 in the hippocampus, with approximate values of 1.0 in other limbic regions, 0.7 in the entorhinal cortex and amygdala, and 0.55 in neocortical regions. The temporal pole reached a value of 0.8. The analytical value V_3 (Eq. 3) was distributed the same way as BP over regions, but with a lower magnitude. The BP evaluated with the graphical analysis of the Logan method (BP^L), using cerebellum DVs as reference, ranged from 0 (reference) to 1.3 in the hippocampus. In particular, BP^L values were approximately 1.0 in paralimbic regions (except in entorhinal cortex, 0.8), and between 0.6 and 0.7 in other cortical regions, whereas the lowest value was found in the occipital cortex (0.37).

A correlation analysis was performed to compare the distribution of BP^L with analytical indices computed with the compartment model. These results are presented in Figure 5. The BP^L was strongly correlated with BP^L_{analytic} ($R^2 = 0.88$, $P < 0.001$). Significant correlations were found with V_3 , V_t^L , and B_{max} . Plots of BP^L

TABLE 2. Values of the model parameters estimated on five subjects with nonlinear fitting method in two typical regions

ROIs	$B_{\max}$ (pmol/mL $\pm$ SD)	K_1 (min $^{-1}$ $\pm$ SD)	k_2 (min $^{-1}$ $\pm$ SD)	k_{on}/V_r (ml·pmol $^{-1}$ ·min $^{-1}$ $\pm$ SD)	k_{off} (min $^{-1}$ $\pm$ SD)	F_v (ml/pmol $\pm$ SD)	$K_D V_r$ (nmol/L $\pm$ SD)
Right hippocampus							
Subject							
1	3.510 $\pm$ 1.355	0.115 $\pm$ 0.004	0.169 $\pm$ 0.010	0.013 $\pm$ 0.005	0.040 $\pm$ 0.002	0.020 $\pm$ 0.009	3.063 $\pm$ 1.363
2	2.864 $\pm$ 0.856	0.096 $\pm$ 0.004	0.173 $\pm$ 0.011	0.011 $\pm$ 0.003	0.038 $\pm$ 0.002	0.034 $\pm$ 0.006	3.410 $\pm$ 1.217
3	4.813 $\pm$ 0.585	0.155 $\pm$ 0.004	0.218 $\pm$ 0.008	0.010 $\pm$ 0.001	0.041 $\pm$ 0.002	0.077 $\pm$ 0.011	4.079 $\pm$ 0.664
4	0.812 $\pm$ 0.330	0.064 $\pm$ 0.004	0.129 $\pm$ 0.014	0.046 $\pm$ 0.018	0.042 $\pm$ 0.005	0.034 $\pm$ 0.009	0.916 $\pm$ 0.464
5	2.340 $\pm$ 1.907	0.083 $\pm$ 0.005	0.182 $\pm$ 0.021	0.019 $\pm$ 0.016	0.043 $\pm$ 0.004	0.018 $\pm$ 0.009	2.257 $\pm$ 2.068
Right prefrontal							
Subject							
1	2.653 $\pm$ 1.782	0.175 $\pm$ 0.004	0.334 $\pm$ 0.016	0.021 $\pm$ 0.015	0.077 $\pm$ 0.009	0.033 $\pm$ 0.006	3.624 $\pm$ 2.932
2	2.340 $\pm$ 1.441	0.107 $\pm$ 0.004	0.232 $\pm$ 0.011	0.005 $\pm$ 0.003	0.022 $\pm$ 0.003	0.031 $\pm$ 0.007	4.179 $\pm$ 2.935
3	2.564 $\pm$ 0.433	0.186 $\pm$ 0.008	0.334 $\pm$ 0.022	0.015 $\pm$ 0.003	0.053 $\pm$ 0.007	0.055 $\pm$ 0.014	3.493 $\pm$ 1.091
4	0.429 $\pm$ 0.183	0.091 $\pm$ 0.005	0.212 $\pm$ 0.013	0.054 $\pm$ 0.024	0.043 $\pm$ 0.004	0.035 $\pm$ 0.010	0.809 $\pm$ 0.438
5	0.425 $\pm$ 0.171	0.095 $\pm$ 0.004	0.243 $\pm$ 0.012	0.047 $\pm$ 0.019	0.038 $\pm$ 0.003	0.035 $\pm$ 0.007	0.805 $\pm$ 0.394

SD is the estimated standard deviation resulting from the fit procedure, calculated with the covariance matrix.

ROI, region of interest; $B_{\max}$, concentration of available receptor sites; K_1 , entrance blood-to-brain transfer rate; k_2 , escape blood-to-brain transfer rate; k_{on}/V_r , bimolecular association constant relative to volume of reaction; k_{off} , bimolecular dissociation constant; F_v , vascular fraction; $K_D V_r$, equilibrium dissociation constant.

versus compartmental BP were more scattered and correlation was at the limit of significance ($P = 0.011$). K_D was not linearly correlated to BP^L.

DISCUSSION

The aim of this study was to quantify the *in vivo* exchange of MPPF with the serotonergic 5-HT_{1A} receptors using a compartmental model. An experimental design was defined to achieve the determination of six unknown parameters characterizing the model. The resolution of the system provided a complete quantitative

overview of the exchange rates, the density of 5-HT_{1A} receptors, and the affinity of MPPF for receptors over 24 anatomical brain regions.

MPPF distribution in blood and brain

Our data regarding arterial function are concordant with the results of previous [^{18}F]MPPF studies (Passchier et al., 2000a,b), which reported, in two different groups of subjects, that 10% of the original ligand was present in plasma 10 minutes after injection. The metabolism reported in the present study is slightly slower. On average, we found that 14% of unmodified

TABLE 3. Mean values (left/right averaged) of the model parameters estimated on five subjects with nonlinear fitting method

ROIs	$B_{\max}$ (pmol/ml $\pm$ SD)	K_1 (min $^{-1}$ $\pm$ SD)	k_2 (min $^{-1}$ $\pm$ SD)	k_{on}/V_r (ml · pmol $^{-1}$ · min $^{-1}$ $\pm$ SD)	k_{off} (min $^{-1}$ $\pm$ SD)	F_v (ml/pmol $\pm$ SD)	$K_D V_r$ (nM $\pm$ SD)
Limbic areas							
Hippocampus	2.778 $\pm$ 1.384	0.103 $\pm$ 0.033	0.176 $\pm$ 0.036	0.020 $\pm$ 0.012	0.040 $\pm$ 0.003	0.036 $\pm$ 0.022	2.575 $\pm$ 1.040
Amygdala	1.962 $\pm$ 1.038	0.089 $\pm$ 0.028	0.169 $\pm$ 0.041	0.018 $\pm$ 0.005	0.042 $\pm$ 0.015	0.052 $\pm$ 0.023	2.475 $\pm$ 0.861
Limbic average	2.370 $\pm$ 1.262	0.096 $\pm$ 0.031	0.173 $\pm$ 0.038	0.019 $\pm$ 0.009	0.041 $\pm$ 0.011	0.044 $\pm$ 0.023	2.525 $\pm$ 0.931
Paralimbic areas							
Parahippocampal gyrus	2.343 $\pm$ 1.136	0.099 $\pm$ 0.028	0.159 $\pm$ 0.031	0.016 $\pm$ 0.011	0.042 $\pm$ 0.007	0.040 $\pm$ 0.029	3.319 $\pm$ 1.312
Entorhinal cortex	2.034 $\pm$ 1.131	0.097 $\pm$ 0.026	0.141 $\pm$ 0.012	0.020 $\pm$ 0.015	0.043 $\pm$ 0.011	0.028 $\pm$ 0.023	2.943 $\pm$ 1.447
Temporal pole	1.961 $\pm$ 1.157	0.102 $\pm$ 0.035	0.184 $\pm$ 0.032	0.027 $\pm$ 0.017	0.047 $\pm$ 0.013	0.031 $\pm$ 0.014	2.417 $\pm$ 1.265
Insula	1.984 $\pm$ 1.225	0.126 $\pm$ 0.043	0.222 $\pm$ 0.048	0.022 $\pm$ 0.015	0.051 $\pm$ 0.004	0.053 $\pm$ 0.016	3.413 $\pm$ 1.890
Anterior Cingulum	1.504 $\pm$ 1.093	0.128 $\pm$ 0.042	0.239 $\pm$ 0.069	0.023 $\pm$ 0.012	0.059 $\pm$ 0.036	0.052 $\pm$ 0.021	2.905 $\pm$ 1.268
Posterior Cingulum	1.670 $\pm$ 0.963	0.145 $\pm$ 0.049	0.275 $\pm$ 0.065	0.022 $\pm$ 0.012	0.056 $\pm$ 0.027	0.051 $\pm$ 0.016	3.252 $\pm$ 1.696
Paralimbic average	1.982 $\pm$ 1.108	0.112 $\pm$ 0.038	0.193 $\pm$ 0.059	0.021 $\pm$ 0.014	0.048 $\pm$ 0.016	0.040 $\pm$ 0.022	3.304 $\pm$ 1.466
Neocortical regions							
Temporal neocortex	1.612 $\pm$ 1.170	0.118 $\pm$ 0.032	0.217 $\pm$ 0.027	0.030 $\pm$ 0.027	0.048 $\pm$ 0.009	0.032 $\pm$ 0.016	2.851 $\pm$ 1.766
Occipital cortex	1.512 $\pm$ 0.821	0.118 $\pm$ 0.041	0.278 $\pm$ 0.039	0.026 $\pm$ 0.018	0.047 $\pm$ 0.006	0.024 $\pm$ 0.010	2.637 $\pm$ 1.380
Parietal cortex	1.721 $\pm$ 1.189	0.134 $\pm$ 0.043	0.269 $\pm$ 0.052	0.026 $\pm$ 0.017	0.051 $\pm$ 0.022	0.037 $\pm$ 0.012	2.710 $\pm$ 1.465
Prefrontal cortex	1.702 $\pm$ 1.056	0.133 $\pm$ 0.043	0.278 $\pm$ 0.057	0.030 $\pm$ 0.020	0.052 $\pm$ 0.022	0.036 $\pm$ 0.009	2.651 $\pm$ 1.653
Neocortical average	1.637 $\pm$ 1.031	0.126 $\pm$ 0.039	0.260 $\pm$ 0.051	0.028 $\pm$ 0.020	0.049 $\pm$ 0.016	0.032 $\pm$ 0.013	2.712 $\pm$ 1.514
Other areas							
Pons (2 comp)		0.047 $\pm$ 0.015	0.219 $\pm$ 0.074			0.064 $\pm$ 0.014	
Pons (3 comp)		0.070 $\pm$ 0.026	0.298 $\pm$ 0.034	0.016† $\pm$ 0.012	0.039* $\pm$ 0.025	0.047 $\pm$ 0.032	
Cerebellum (2 comp)		0.095 $\pm$ 0.040	0.302 $\pm$ 0.069			0.085 $\pm$ 0.037	
Cerebellum (3 comp)		0.152 $\pm$ 0.055	0.459 $\pm$ 0.052	0.022† $\pm$ 0.006	0.050* $\pm$ 0.009	0.014 $\pm$ 0.011	
Other areas average (3 comp)		0.116 $\pm$ 0.060	0.387 $\pm$ 0.095	0.019† $\pm$ 0.009	0.045* $\pm$ 0.018	0.028 $\pm$ 0.027	

SD is the standard deviation from the 5 subjects.

* These values have to be taken as k_4 for k_{off} .

† These values have to be taken as k_3 for $k_{\text{on}} \cdot B_{\max}$.

ROI, regions of interest; $B_{\max}$, concentration of available receptor sites; K_1 , entrance blood-to-brain transfer rate; k_2 , escape blood-to-brain transfer rate; k_{on}/V_r , bimolecular association constant relative to volume of reaction; k_{off} , bimolecular dissociation constant; F_v , vascular fraction; $K_D V_r$, equilibrium dissociation constant.

TABLE 4. Indices derived from the multicompartmental model and the Logan methods

Regions	V_2	V_3	BP	V_t	$V_{t \text{ target}} / V_{t \text{ reference}} - 1$	V_t^L	BP ^L
Limbic areas							
Hippocampus	0.58 ± 0.10	0.61 ± 0.19	1.04 ± 0.17	1.18 ± 0.28	1.54 ± 0.19	2.33 ± 0.16	1.33
Amygdala	0.52 ± 0.08	0.39 ± 0.14	0.75 ± 0.22	0.92 ± 0.20	0.97 ± 0.16	1.93 ± 0.21	0.93
Limbic areas average	0.55 ± 0.09	0.50 ± 0.19	0.90 ± 0.24	1.05 ± 0.28	1.26 ± 0.34	2.13 ± 0.27	1.13
Paralimbic areas							
Parahippocampal gyrus	0.63 ± 0.16	0.43 ± 0.16	0.68 ± 0.14	1.06 ± 0.30	1.27 ± 0.29	2.20 ± 0.26	1.20
Entorhinal cortex	0.69 ± 0.19	0.48 ± 0.17	0.69 ± 0.10	1.18 ± 0.36	1.49 ± 0.21	2.14 ± 0.20	1.14
Insula	0.56 ± 0.11	0.32 ± 0.12	0.56 ± 0.13	0.88 ± 0.21	0.88 ± 0.14	2.09 ± 0.32	1.09
Cingulum	0.53 ± 0.08	0.26 ± 0.11	0.49 ± 0.18	0.79 ± 0.17	0.70 ± 0.14	1.78 ± 0.11	0.78
Temporal pole	0.54 ± 0.11	0.45 ± 0.22	0.80 ± 0.25	0.99 ± 0.31	1.10 ± 0.20	1.95 ± 0.19	0.95
Temporal cortex	0.54 ± 0.12	0.30 ± 0.10	0.54 ± 0.09	0.84 ± 0.21	0.80 ± 0.13	1.75 ± 0.09	0.75
Paralimbic areas average	0.59 ± 0.14	0.39 ± 0.17	0.64 ± 0.19	0.98 ± 0.30	1.09 ± 0.34	2.03 ± 0.26	1.03
Neocortical regions							
Occipital cortex	0.42 ± 0.10	0.24 ± 0.08	0.58 ± 0.09	0.66 ± 0.17	0.41 ± 0.09	1.37 ± 0.08	0.37
Parietal cortex	0.49 ± 0.09	0.30 ± 0.13	0.59 ± 0.16	0.78 ± 0.21	0.68 ± 0.18	1.68 ± 0.14	0.68
Frontal cortex	0.47 ± 0.07	0.30 ± 0.10	0.62 ± 0.13	0.77 ± 0.16	0.67 ± 0.14	1.66 ± 0.09	0.66
Temporal pole	0.54 ± 0.11	0.45 ± 0.22	0.80 ± 0.25	0.99 ± 0.31	1.10 ± 0.20	1.95 ± 0.19	0.95
Neocortical regions average	0.48 ± 0.10	0.28 ± 0.10	0.58 ± 0.12	0.76 ± 0.19	0.64 ± 0.20	1.62 ± 0.18	0.62
Other areas							
Pons (3 comp)	0.23 ± 0.07	0.09 ± 0.04	0.38 ± 0.06	0.32 ± 0.10	-0.41 ± 0.19	—	—
Pons (2 comp)	0.22 ± 0.08					—	—
Cerebellum (3 comp)	0.33 ± 0.15	0.14 ± 0.30	0.43 ± 0.35	0.47 ± 0.45	0.00	—	—
Cerebellum (2 comp)	0.31 ± 0.09					—	—

V_2 , distribution volume in the free and nonspecific compartment (Appendix C, Eq. 2); V_3 , distribution volume in the specific binding compartment (Appendix C, Eq. 3); BP, binding potential (Appendix C, Eq. 5); V_t , total distribution volume (Appendix C, Eq. 4); $V_{t \text{ target}}/V_{t \text{ reference}} - 1$, analytic value of Logan binding potential (Appendix C, Eq. 6); V_t^L , total distribution volume from Logan method; BP^L, binding potential from Logan method. (SD on 5 subjects.)

MPPF was present 10 minutes after injection. The dispersion of individual curves was not significant, and the use of a standard biexponential equation for metabolite correction of blood samples might be considered a good approximation.

In agreement with findings of previous [¹⁸F]MPPF-PET studies (Passchier et al., 2000a,b; Passchier et al., 2001), equilibrium static images showed a high tracer uptake in limbic areas and in paralimbic regions. Compared with other limbic and paralimbic areas, cingulum and entorhinal cortices showed less tracer accumulation. The values in these latter regions were more similar to those found in neocortical areas. This particular distribution within paralimbic areas has not been observed with WAY 100635 images (Gunn et al., 1998). However, a direct comparison of raw data between different tracers should be viewed with caution because multiple parameters are involved. Thus, receptor density parametric images should be computed to ensure reliable comparisons. This, however, was outside the scope of our study.

Raphe nuclei were clearly discernable, and the coregistration with MR imaging data allowed us to confirm their anatomical localization in the cerebral trunk, dorsal to the periaqueductal gray matter. In all of our subjects, raphe nuclei were detected on several transverse planes (typically two to five planes, which corresponds to 5 to 12 mm). The extension of this structure in the vertical direction is not well adapted to the transverse acquisition plane imposed by the PET scanner. Moreover, the size of the apparent structure on PET images exceeded the ac-

tual size of the anatomic structure, which indicates that a partial volume effect altered the measure. A volumetric three-dimensional correction would be necessary to evaluate the real concentration of tracer in such small structures. This work is currently in progress.

Model parameter identification

Identification of model parameters was possible and relatively accurate despite the low difference between apparent specific activities that were chosen for injections. Theoretically, the optimal protocol for parameter estimation of a multicompartmental model includes a first injection at the tracer dose, a displacement with the unlabeled ligand, and a coinjection of labeled and unlabeled ligands to saturate the receptor sites (Delforge et al., 1989; Delforge et al., 1990). Using such a protocol, the resolution of the equation system leads to a unique solution. However, in our case a displacement injection would have implied a massive injection of unlabeled MPPF. Because behavioral effects of a large dose of MPPF have not been tested in humans, we limited, for pharmacologic safety reasons, the amount of coinjected unlabeled MPPF to achieve a tenfold-lower specific activity for the second injection. Therefore, in our protocol, the resolution of the equation system might lead to a nonunique solution. The reliability of the solution has to be tested, possibly using two different techniques. First, the definition of constraints regarding some of the parameters allows the achievement of pharmacologically realistic solutions. For example, we excluded

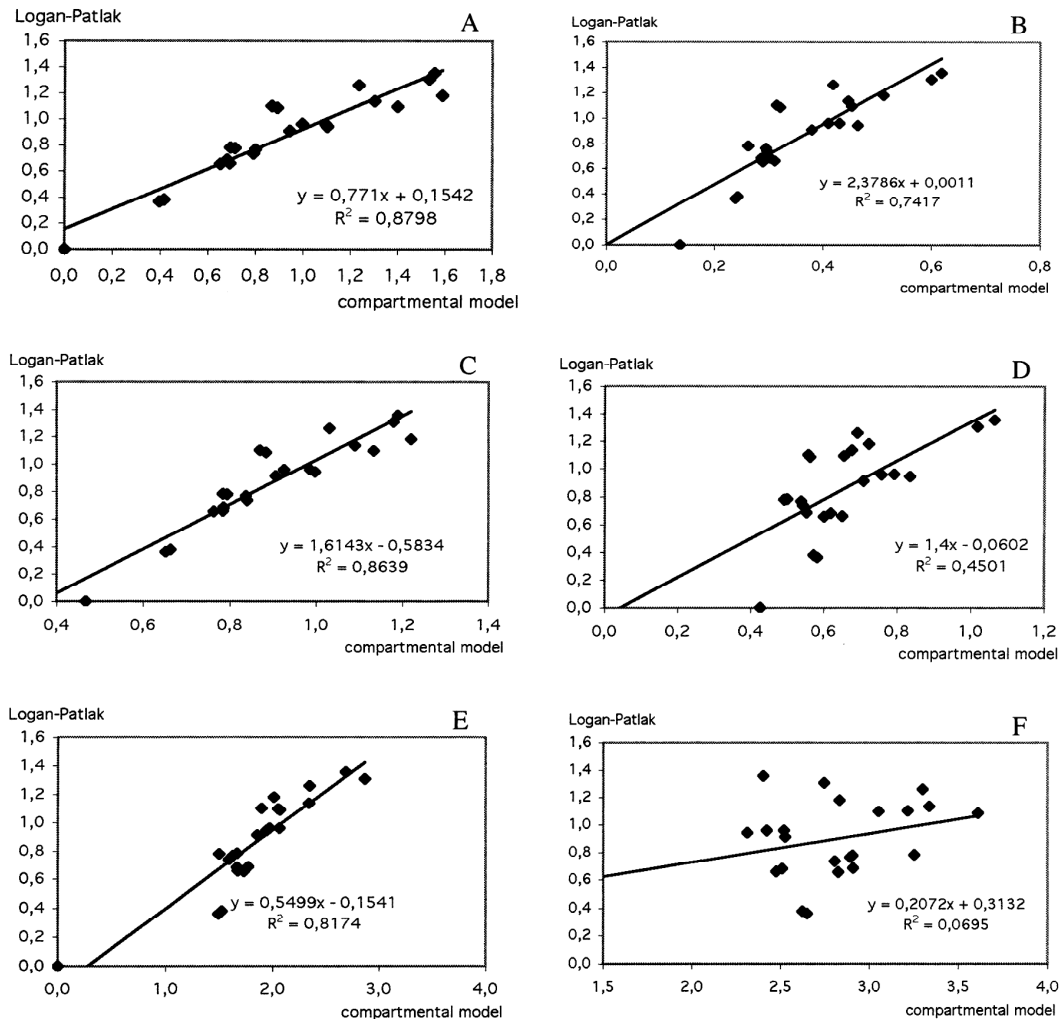


FIG. 5. Correlation between binding potential (BP) measured by Logan graphical method (BP^L) with a reference tissue input function, and analytical values of distribution volumes (DVs) and binding potential computed from the compartmental model parameters (Appendix C). (A) BP^L versus ratio of total DV in the target and reference regions minus one ($\text{BP}^L_{\text{analytic}}$, Eq. 6). (B) BP^L versus DV in the specific compartment (V_3 , Eq. 3). (C) BP^L versus total DV (V_t , Eq. 4). (D) BP^L versus BP from the nonlinear method (BP, Eq. 5). (E) BP^L versus density of receptors (B_{max}). (F) BP^L versus the apparent equilibrium dissociation constant (K_d).

mathematical solutions for which the K_d value exceeded an interval of ± 10 times the *in vitro* value of K_i (3.3 nmol/L; Zhuang et al., 1994). The use of such constraints usually leads to a solution in which the value of the parameters fell within an acceptable SD. Second, the stability of the solution can be tested to rule out local minima. To test the stability, we changed the initial values defined before the fit procedure and checked that the algorithm converged toward the same final parameters.

The distribution of receptor density in target regions reflected the visual inspection of raw static images. To assess the validity of our results, we plotted the distribution of receptor density measured by PET with [^{18}F]MPPF against results of autoradiographic binding on resected human tissues with [^3H]WAY-100635 (Bur-

net et al., 1997; Hall et al., 1997). Despite the disproportion of absolute values for the density between *ex vivo* radiographic data and *in vivo* PET measurements, we found an excellent correlation between these two approaches (see Figure 6). Regarding the density of 5-HT $_{1A}$ receptors in the cingulate cortex, the B_{max} for this region closely matched that of other neocortical regions. This profile was also observed in the study of Hall et al. (1997), whereas Burnet et al. (1997) found a ratio of 1.5 between the cingulum and temporal cortex. Concerning the raphe nuclei, our modeling provided a value for the density of 5-HT $_{1A}$. However, the statistical noise for these data and the partial volume effect due to the small size (close to the resolution) of the structure gave a relative poor value of B_{max} and a high uncertainty

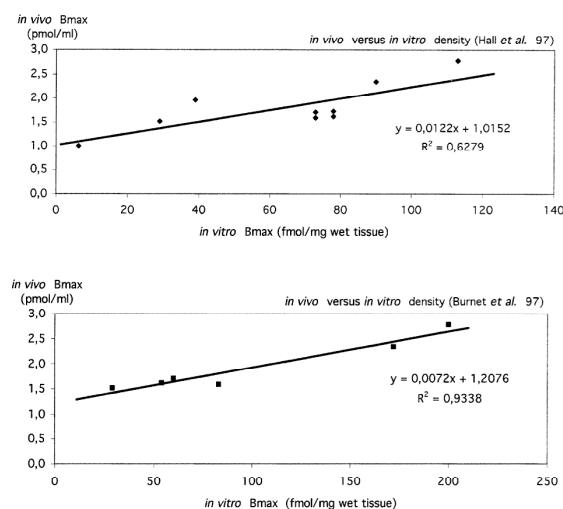


FIG. 6. Correlation between the density measured *in vitro* by [³H]WAY-100635 autoradiography (Burnet et al., 1997; Hall et al., 1997) and measured *in vivo* by [¹⁸F]MPPF positron emission tomography.

regarding the quality of fit because the relative error was two or three times larger than the parameter value itself. For these reasons, these results were not reported in Table 3.

Because a pharmacologic displacement with unlabeled MPPF was not possible in this study, the free and non-specific compartments could not be assessed individually. Therefore, in regions for which the identification of three compartments was not possible, we considered only two compartments (i.e., a vascular compartment and a single tissular compartment). However, in this case, we introduced an auxiliary compartment to test for the binding of ligand in the cerebellum and pons with no separate identification of $B_{\max}$ and k_{on} ($k_3 = k_{\text{on}}B_{\max}$). For the cerebellum, the two-compartment model (a common compartment for free and nonspecific binding) provided K_1 and k_2 values of 0.095/min and 0.302/min, respectively. Besides in the three-compartment model, values for K_1 and k_2 were 0.152 and 0.459, and values for k_3 and k_4 were 0.022/min and 0.050/min. We could verify that $k_2/(1 + k_3/k_4)$ equals 0.318, which was close to the apparent k_2 found in the two-compartment model. Because the dissociation rate found for this supplementary compartment in cerebellum (k_4) was close to the mean dissociation rate of target region ($k_{\text{off}} = 0.047$), and because the fit was better if we considered three rather than two compartments, we assumed that this auxiliary compartment, because of its kinetic parameters, represented a specific association to 5-HT_{1A} receptor. Because metabolites are polar and do not cross the brain–blood barrier, this interpretation suggests that 5-HT_{1A} receptors may be present in the cerebellum, but with such a small density that our method cannot dissociate $B_{\max}$ and

k_{on}/V_r . The same analysis (two-compartment and three-compartment separate fit) performed in the pons gave values of 0.047 and 0.219 for K_1 and k_2 , and 0.070, 0.298, 0.016, and 0.039 for K_1 , k_2 , k_3 and k_4 , respectively. Once again, the $k_2/(1 + k_3/k_4)$ ratio equals 0.211/min, which was close to the k_2' value computed by the two-compartment model. In this case, k_4 was significantly different from the mean k_{off} , suggesting no specific binding in the pons.

Simplified reference tissue model

Using knowledge of the local exchange parameters, we were able to analytically compute classical indexes usually used in the quantification of PET images without arterial blood function. The analysis over all cerebral regions revealed that the DV was fairly constant in the limbic, paralimbic, and neocortical regions. We showed that the cerebellum has a different DV (considering two or three compartments). In the simplified method, which needs a reference tissue to compute a BP, one of the underlying hypotheses is that target and reference regions have an equivalent DV. This hypothesis was not confirmed in our study because we found different DV values in the cerebellum and in target regions.

Consequently, the cerebellum, known to have a poor concentration of 5-HT_{1A} receptors, should not be taken as a reference region for the evaluation of $B_{\max}/K_d$ without any correction. The correlation of the BP, computed from the graphical Logan method (BP^L), and analytic parameters issued from the CNL method, confirms this inadequacy (Fig. 5): there is poor linear correlation between the BP^L and BP (CNL method). This point suggests that the index measured by Logan method is not strictly linked to $B_{\max}$ and K_d . However, we found that Logan BP^L was closer to V_3 , the BP multiplied by the DV of the nonspecific nondisplaceable compartment ($V_3 = V_2 \cdot B_{\max}$). Furthermore, we verified that the analytic formula $V_t \text{ target}/V_t \text{ reference}$ (Eq. 6) computed with model parameters was well correlated with BP^L . This finding confirms that the Logan method provides a good estimation of regional DV $V_t \text{ target}$ and $V_t \text{ reference}$. An interesting finding of this analysis was that BP^L was well correlated with $B_{\max}$. This finding can be explained by the fact that even if K_d and k_2 are stable over regions, the ratio V_2/K_d also stays relatively constant over regions. This hypothesis was statistically verified by unpaired *t*-test on V_2/K_d . It can thus be concluded that even if BP^L was not a good index of $B_{\max}/K_d$, it was nevertheless a reliable index of receptor density in healthy subjects. Further investigations should assess if another region than cerebellum may provide a better reference for the quantification of receptor density.

CONCLUSIONS

A double-injection protocol was performed on healthy subjects to quantify the parameters of a compartmental

model describing *in vivo* brain distribution of MPPF with PET. Compared with previously published results of *ex vivo* tissular receptor concentration, our results confirm the specificity of MPPF for 5-HT_{1A} receptors. A measurement of regional affinity indicates a mean *in vivo* $K_d \cdot V_r$ value of 2.8 nmol/L for MPPF, which suggests that this ligand is a good candidate for determining the *in vivo* concentration variations for endogenous serotonin. Moreover this study confirms that, in the absence of blood arterial sampling, the BP estimated by the Logan method is a good index of local receptor concentration in healthy subjects, which allows for the calculation of MPPF parametric images.

APPENDIX A

Compartmental model

A three-compartment model was applied to quantify the exchanges of MPPF between vascular networks, tissues, and 5-HT_{1A} receptors (Fig. 1; Delforge et al., 1995). The first compartment, the *circulating plasma of the arterial network*, was represented in the model by the concentration $C_a(t)$ (in picomoles per milliliter plasma) of unmetabolized MPPF in the plasma. The second and third compartments were (1) the *free or nonspecific* compartment, represented by the quantity $M_{f+ns}(t)$, quantifying the free or nonspecifically bound ligand in 1 mL tissue; and (2) the *specific* compartment, represented by $M_s(t)$, quantifying the MPPF molecules specifically bound to the 5-HT_{1A} receptors in 1 mL tissue at time t . The assumption that the free and nonspecific compartment can be modeled by a single compartment is supported by the fact that exchanges between compartments are rapidly established (Plenevaux et al., 2000b). Moreover, displacement studies in rats revealed that proportion of nonspecific binding is negligible (Ginovart et al., 2000). Exchanges between compartments were defined by transfer rates. The value K_1 represented the inflow rate of ligand from plasma compartment to the free and nonspecific compartment, whereas k_2 was the escape rate from tissues to blood circulation. Exchanges between the free and nonspecific and the specific compartments were regulated by k_{on} for the bimolecular association rate, and k_{off} for the dissociation rate. These values depended on the quantity of available receptor sites B_{max} (i.e., the local density of receptors minus M_s , the actual occupied sites). In the regions where the density of available receptor is poor, B_{max} and k_{on} cannot be separately estimated. In this case, the model was first simplified to two compartments, where the rate k_2 was replaced by k_2' . Terms to be identified were then reduced to F_v , k_2' and k_1 . Second, an identification of three compartments were tried, but with no separate estimation of B_{max} and k_{on} : these parameters were replaced by a unique rate $k_3 = k_{on} \cdot B_{max} / V_r$ and k_{off} was replaced by k_4 . The best fit

was kept and we checked that the relation $k_2' = k_2(1 + k_3/k_4)$ was verified.

Because of tissue heterogeneities, it was necessary to introduce the concept of volume of reaction, V_r (Delforge et al., 1996). Because V_r is not discernable from k_{on} , only the ratio k_{on}/V_r can be estimated. The consequence is that the equilibrium dissociation rate K_d , which is defined by the k_{off} to k_{on} ratio, cannot be quantified separately; only the apparent equilibrium dissociation rate $K_d V_r$ can be estimated.

APPENDIX B

Tracer kinetics analysis

CNL method. Parameters of the model was identified by minimization of a weighted least-squares cost function, using the Marquardt algorithm, knowing the labeled part of compartment concentrations with the PET measurements and the measured arterial function:

$$M_{PET}^*(t) = (1 - F_v)C_b^*(t) + M_{f+ns}^*(t) + M_s^*(t),$$

where F_v is the vascular fraction of blood present in the tissue volume, $M_{PET}^*(t)$ is the local time-concentration curve measured by PET, and $C_b^*(t)$ is the time-concentration curve measured in whole blood. $M_{f+ns}^*(t)$ and $M_s^*(t)$ denote the labeled quantity of $M_{f+ns}(t)$ and $M_s(t)$.

Because linear differential equations are ruling the link between $C_a(t)$, $M_{f+ns}(t)$, and $M_s(t)$, the system could be solved by knowing $M_{PET}^*(t)$, $C_b^*(t)$.

In this model, we assume that metabolites of [^{18}F]MPPF do not cross the brain-blood barrier, as it is supported by *ex vivo* findings in the rat (Plenevaux et al., 2000b).

Logan method. In the Logan-Patlak graphical method, the slope of the asymptote for the graphic projection of data represents the total DV of the tracer in the region (V_t^L). From this slope, under the assumption that V_2 is equivalent in both regions, a BP of the equation can be evaluated with the ratio between the asymptote slope of a target region and the asymptote slope of a reference tissue:

$$BP^L = \frac{V_{t \text{ target}}^L}{V_{t \text{ reference}}^L} - 1 \quad (1)$$

APPENDIX C

Parameter comparison

The relation between parameters of these two approaches is based on the following definitions. The total DV (V_t) is an equilibrium constant reached when the exchanges between the arterial and the tissue compartments are equilibrated (Mintun et al., 1984). The total DV (V_t) is the sum of the DV of the free and nonspecific

compartment V_2 , and the DV of specific-compartment V_3 . From the compartment model and the definition of the exchange rate, the relations between parameters can be established by the following equations (Koeppe et al., 1991):

$$V_2 = \frac{K_1}{k_2} \quad (2)$$

$$V_3 = \frac{K_1 k_3}{k_2 k_4} = \frac{K_1 (k_{on}/V_r) B_{max}}{k_{off}} \quad (3)$$

Because in the case of specific binding to receptor $k_3 = k_{on} \cdot B_{max}/V_r$, then the total volume of distribution is:

$$V_t = \frac{K_1}{k_2} \left(1 + \frac{k_{on} B_{max}}{V_r k_{off}} \right) \quad (4)$$

The BP (defined as the quotient B_{max} and K_D) can also be analytically linked to the model parameters with the following equation:

$$BP = \frac{(k_{on}/V_r) B_{max}}{k_{off}} \quad (5)$$

The parameter BP^L defined in the Logan method can also be analytically evaluated with the following formula:

$$BP^L_{analytic} = \frac{V_{t \text{ target}}}{V_{t \text{ reference}}} - 1 \quad (6)$$

where $V_{t \text{ target}}$ is the total DV in the target region, and $V_{t \text{ reference}}$ is the total DV in the region taken as reference, computed with Eq. 4.

Acknowledgments: The authors thank V. Berthier, M. Lionnet, and C. Vighi, for excellent medical assistance during the PET experiment, G. Bonmarchand for [^{18}F] MPPF syntheses, S. Guillouet and F. Bonnefoi for chemical assistance and blood sample analyses, and Dr. Marc Hermier for providing access to the MR image acquisition and for taking medical responsibility of the MR imaging session.

REFERENCES

- Brix G, Zaers J, Adam LE, Bellemann ME, Ostertag H, Trojan H, Haberkorn U, Doll J, Oberdorfer F, Lorenz WJ (1997) Performance evaluation of a whole-body PET scanner using the NEMA protocol. National Electrical Manufacturers Association. *J Nucl Med* 38:1614–1623
- Burnet PW, Eastwood SL, Harrison PJ (1997) [^3H]WAY-100635 for 5-HT $_1\text{A}$ receptor autoradiography in human brain: a comparison with [^3H]8-OH-DPAT and demonstration of increased binding in the frontal cortex in schizophrenia. *Neurochem Int* 30:565–574
- Chugani DC, Muzik O, Chakraborty P, Mangner T, Chugani HT (1998) Human brain serotonin synthesis capacity measured *in vivo* with alpha-[C-11]methyl-L-tryptophan. *Synapse* 28:33–43
- Cliffe IA (2000) A retrospect on the discovery of WAY-100635 and the prospect for improved 5-HT $_1\text{A}$ receptor PET radioligands. *Nucl Med Biol* 27:441–447
- Cowen PJ (2000) Psychopharmacology of 5-HT $_1\text{A}$ receptors. *Nucl Med Biol* 27:437–439
- Delforge J, Syrota A, Mazoyer BM (1989) Experimental design optimisation: theory and application to estimation of receptor model parameters using dynamic positron emission tomography. *Phys Med Biol* 34:419–435
- Delforge J, Syrota A, Mazoyer BM (1990) Identifiability analysis and parameter identification of an *in vivo* ligand-receptor model from PET data. *IEEE Trans Biomed Eng* 37:653–661
- Delforge J, Pappata S, Millet P, Samson Y, Bendriem B, Jobert A, Crouzel C, Syrota A (1995) Quantification of benzodiazepine receptors in human brain using PET, [^{11}C]flumazenil, and a single-experiment protocol. *J Cereb Blood Flow Metab* 15:284–300
- Delforge J, Syrota A, Bendriem B (1996) Concept of reaction volume in the *in vivo* ligand-receptor model [see comments]. *J Nucl Med* 37:118–125
- Farde L, Ito H, Swahn CG, Pike VW, Halldin C (1998) Quantitative analyses of carbonyl-carbon-11-WAY-100635 binding to central 5-hydroxytryptamine-1A receptors in man. *J Nucl Med* 39:1965–1971
- Ginovart N, Hassoun W, Le Bars D, Weissmann D, Levie V (2000) *In vivo* characterization of p-[(18F)]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635 for visualization of 5-HT $_1\text{A}$ receptors. *Synapse* 35:192–200
- Gunn RN, Sargent PA, Bench CJ, Rabiner EA, Osman S, Pike VW, Hume SP, Grasby PM, Lammertsma AA (1998) Tracer kinetic modeling of the 5-HT $_1\text{A}$ receptor ligand [carbonyl- ^{11}C]WAY-100635 for PET. *Neuroimage* 8:426–440
- Hall H, Lundkvist C, Halldin C, Farde L, Pike VW, McCarron JA, Fletcher A, Cliffe IA, Barf T, Wikstrom H, Sedvall G (1997) Autoradiographic localization of 5-HT $_1\text{A}$ receptors in the post-mortem human brain using [^3H]WAY-100635 and [^{11}C]way-100635. *Brain Res* 745:96–108
- Hume S, Hirani E, Opacka-Juffry J, Myers R, Townsend C, Pike V, Grasby P (2001) Effect of 5-HT on binding of [^{11}C] WAY 100635 to 5-HT $_1\text{A}$ receptors in rat brain, assessed using *in vivo* microdialysis and PET after fenfluramine. *Synapse* 41:150–159
- Koeppe RA, Holthoff VA, Frey KA, Kilbourn MR, Kuhl DE (1991) Compartmental analysis of [^{11}C]flumazenil kinetics for the estimation of ligand transport rate and receptor distribution using positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 11:735–744
- Le Bars D, Lemaire C, Ginovart N, Plenevaux A, Aerts J, Brihaye C, Hassoun W, Levie V, Mekhsian P, Weissmann D, Pujol JF, Luxen A, Comar D (1998) High-yield radiosynthesis and preliminary *in vivo* evaluation of p-[(18F)]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635. *Nucl Med Biol* 25:343–350
- Le Bars D, Bonmarchand G, Alvarez G, Lemaire C, Mosdzianowski C (2001) New automation of MPPF using a coincidence synthesizer: 14th International Symposium on Radiopharmaceuticals. *J Labeled Cpd Radiopharm*, 44:s1045–s1046
- Logan J, Fowler JS, Volkow ND, Wolf AP, Dewey SL, Schlyer DJ, MacGregor RR, Hitzemann R, Bendriem B, Gatley SJ, et al. (1990) Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [N-11C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab* 10:740–747
- Louw D, Sutherland GR, Glavin GB, Girvin J (1989) A study of monoamine metabolism in human epilepsy. *Can J Neurol Sci* 16:394–397
- Mintun MA, Raichle ME, Kilbourn MR, Wooten GF, Welch MJ (1984) A quantitative model for the *in vivo* assessment of drug binding sites with positron emission tomography. *Ann Neurol* 15:217–227
- Passchier J, van Waarde A, Pieterman RM, Elsinga PH, Pruim J, Hendrikse HN, Willemsen AT, Vaalburg W (2000a) *In vivo* delineation of 5-HT $_1\text{A}$ receptors in human brain with [^{18}F]MPPF. *J Nucl Med* 41:1830–1835
- Passchier J, van Waarde A, Pieterman RM, Elsinga PH, Pruim J, Hendrikse HN, Willemsen AT, Vaalburg W (2000b) Quantitative imaging of 5-HT $_1\text{A}$ receptor binding in healthy volunteers with [(18F)]p-MPPF. *Nucl Med Biol* 27:473–476
- Passchier J, van Waarde A, Vaalburg W, Willemsen AT (2001) On the quantification of [^{18}F]MPPF binding to 5-HT $_1\text{A}$ receptors in the human brain. *J Nucl Med* 42:1025–1031
- Peroutka SJ (1995) 5-HT receptors: past, present and future. *Trends Neurosci* 18:68–69
- Pike VW, McCarron JA, Lammertsma AA, Hume SP, Poole K, Grasby

- PM, Malizia A, Cliffe IA, Fletcher A, Bench CJ (1995) First delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [^{11}C]WAY-100635. *Eur J Pharmacol* 283:R1–3
- Pike VW, McCarron JA, Lammertsma AA, Osman S, Hume SP, Sargent PA, Bench CJ, Cliffe IA, Fletcher A, Grasby PM (1996) Exquisite delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [carbonyl- ^{11}C]WAY-100635. *Eur J Pharmacol* 301:R5–R7
- Pintor M, Mefford IN, Hutter I, Pocotte SL, Wyler AR, Nadi NS (1990) Levels of biogenic amines, their metabolites, and tyrosine hydroxylase activity in the human epileptic temporal cortex. *Synapse* 5:152–156
- Plenevaux A, Lemaire C, Aerts J, Lacan G, Rubins D, Melega WP, Brihaye C, Degueldre C, Fuchs S, Salmon E, Maquet P, Laureys S, Damhaut P, Weissmann D, Le Bars D, Pujol J, Luxen A (2000a) [(18F)p-MPPF: A radiolabeled antagonist for the study of 5-HT(1A) receptors with PET [In Process Citation]. *Nucl Med Biol* 27:467–471
- Plenevaux A, Weissmann D, Aerts J, Lemaire C, Brihaye C, Degueldre C, Le Bars D, Comar D, Pujol J, Luxen A (2000b) Tissue distribution, autoradiography, and metabolism of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2'-pyridinyl)-p-[(18F)fluorobenzamido]ethyl]piperazine (p-[(18F)MPPF), a new serotonin 5-HT(1A) antagonist for positron emission tomography: an *in vivo* study in rats. *J Neurochem* 75:803–811
- Statnick MA, Dailey JW, Jobe PC, Browning RA (1996) Abnormalities in 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor binding in severe-seizure genetically epilepsy-prone rats (GEPR-9s). *Neuropharmacology* 35:111–118
- Wada Y, Shiraishi J, Nakamura M, Koshino Y (1997) Role of serotonin receptor subtypes in the development of amygdaloid kindling in rats. *Brain Res* 747:338–342
- Woods RP, Cherry SR, Mazziotta JC (1992) Rapid automated algorithm for aligning and reslicing PET images. *J Comput Assist Tomogr* 16:620–633.
- Woods RP, Mazziotta JC, Cherry SR (1993) MRI-PET registration with automated algorithm. *J Comput Assist Tomogr* 17:536–546
- Zhuang ZP, Kung MP, Chumpradit S, Mu M, Kung HF (1994) Derivatives of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2'-pyridinyl)-p-iodobenzamido]ethyl]piperazine (p-MPPI) as 5-HT_{1A} ligands. *J Med Chem* 37:4572–4575.

Résultats

Les images TEP obtenues reflétaient la sélectivité du [^{18}F]MPPF pour les 5-HT_{1A}. Chez les cinq sujets, la modélisation a permis de déterminer une densité moyenne de récepteur de 2,9 pmol/mL et une constante de dissociation apparente moyenne de 2,8 nmol/L au niveau des régions hippocampiques. L'affinité était stable sur les différentes régions cérébrales et cérébelleuses. Le volume de distribution du compartiment non-spécifique était également comparable d'une région à l'autre. Enfin notre étude montrait que le potentiel de liaison, évalué par la méthode Logan avec le cervelet comme région de référence, était linéairement lié au B_{max} .

Conclusion

Cette étude confirme la distribution cérébrale des 5-HT_{1A} trouvées chez des sujets sains dans les premières études de distribution cérébrale. Elle a permis l'identification de valeurs de transport et de fixation d'un modèle compartimental pour un échantillon de sujets sains et ouvert la voie de la simulation de protocoles simplifiés mono-injections, sans prélèvement artériel. En outre, cette étude valide l'utilisation du cervelet comme région de référence pour l'utilisation d'une modélisation simplifiée.

Chapitre III

Conditions méthodologiques pour l'utilisation clinique de l'examen TEP au [^{18}F]MPPF : base de données réelles normative et reproductibilité

III.1 Base de données témoin

Contexte

Le [^{18}F]MPPF est un traceur récent et encore peu répandu. Il n'était pas envisageable de baser son utilisation dans l'étude physiopathologique sur la base des expériences d'autres centres de recherche ni en référence à une littérature pauvre dans le domaine. Dans ces conditions, il s'est avéré nécessaire d'établir une base de données de sujets sains permettant de connaître la distribution normale de la fixation spécifique dans les régions corticales et sous-corticales d'intérêt². Étant donnée la littérature disponible sur les études *ex vivo*, ou *in vivo* au [^{11}C]WAY 100635, l'échantillon représentatif de la population générale se devait de tenir compte d'une éventuelle variabilité due au sexe et à l'âge. En outre, les anomalies de la fixation trouvée chez un individu ou chez un groupe étant détectée par analyse statistique (car l'observation directe ne permet pas un degré de certitude suffisant), il convenait de caractériser cette population témoin avec la méthodologie des cartes statistiques paramétriques (CSP, logiciel SPM).

Méthodes

Cinquante-trois volontaires sains (27 femmes, 26 hommes, entre 20 et 70 ans) ont été sélectionnés pour participer à l'étude qui comportait une IRM anatomique 3D et une acquisition dynamique mono-injection TEP de 70 minutes au [^{18}F]MPPF. Le potentiel de liaison (BP) a été évalué par la méthode SRTM (Single Tissue Reference Method) en prenant le cervelet comme région de référence. Les effets statistiques de l'âge et du sexe sur la distribution du BP ont été évalués à la fois à un niveau structurel, grâce à des régions d'intérêts dessinées sur les IRM individuelles, et au niveau de chaque voxel avec SPM.

2 Costes N, Merlet I, Ostrowsky K, Faillenot I, Lavenne F, Zimmer L, Ryvlin P, Le Bars D. (2005): A 18F-MPPF PET Normative Database of 5-HT1A Receptor Binding in Men and Women Over Aging. J Nucl Med 46(12):1980-1989.

A ^{18}F -MPPF PET Normative Database of 5-HT_{1A} Receptor Binding in Men and Women Over Aging

Nicolas Costes, MSc^{1,2}; Isabelle Merlet, PhD^{3,4}; Karine Ostrowsky, MD³; Isabelle Faillenot, PhD⁵; Franck Lavenne, BSc^{1,4}; Luc Zimmer, PharmD, PhD^{1,6}; Philippe Ryvlin, MD, PhD^{3,6}; and Didier Le Bars, PharmD, PhD^{1,6}

¹Imagerie du vivant, PET Centre, Centre d'Etude et de Recherche Multimodales et Pluridisciplinaires, Lyon, France; ²Centre Nationale de la Recherche Scientifique, Paris, France; ³Équipe d'Accueil 1880, Neurological Hospital, Lyon, France; ⁴Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris, France; ⁵Institut Fédératif des Neurosciences de Lyon, Lyon, France; and ⁶Université Claude Bernard de Lyon, Lyon, France

Neurotransmission imaging studies require normative data for the statistical assessment of neurophysiologic dysfunctions. 2'-Methoxyphenyl-(N-2'-pyridinyl)-p- ^{18}F -fluoro-benzamidoethylpiperazine (^{18}F -MPPF) is a specific serotonin 5-HT_{1A} antagonist PET tracer recently characterized, modeled, and used for clinical research to explore abnormalities in the serotonergic system. Our study reports, to our knowledge, the first large normative imaging database of ^{18}F -MPPF binding potential (BP) over aging, for both males and females. **Methods:** Fifty-three healthy volunteers (27 females, 26 males; age, 20–70 y) were selected to undergo structural MRI and single-injection ^{18}F -MPPF multiframe dynamic PET. ^{18}F -MPPF BP values were computed using a nonlinear modeling method with tissue reference. The statistical assessment of the effect of age and sex was performed both at the anatomic structure level, using regions of interest drawn manually on individual MR images, and at the voxel level, using normalized BP parametric images in different statistical parametric mapping designs. **Results:** A negative linear correlation between age and ^{18}F -MPPF binding (3.6% decrease by decade) was found in females but not in males and involved most of the limbic and paralimbic regions; on the other hand, males in their 30s showed decreased binding in most cerebral regions. **Conclusion:** A comparison of males and females revealed higher BP values independent of age in females in the right hemisphere and a different evolution of BP over aging. These results confirm the necessity of a database for further statistical analysis in individuals or groups with pathology.

Key Words: PET; ligand; serotonin receptors; 5-HT_{1A}; database
J Nucl Med 2005; 46:1980–1989

In the mammalian nervous system, serotonin (5-HT) mediates a large variety of physiologic responses (development, pain, sleep, mood, eating, memory, attention), behaviors (stress, aggression, panic, sexual behavior), or neuropsychiatric problems (depression, sleep disturbance, eating disorders, anxiety, suicide, schizophrenia, obsessive compulsive disorder) through one of the widest range of receptors known for any neurotransmitter (1). Most of these receptors have been characterized; yet, to date, the 5-HT_{1A} subtype remains the best known in terms of structure, pharmacology, and action.

The recent development of selective PET ligands for 5-HT receptors permits the in vivo exploration of the serotonergic system in humans (2). In particular, two specific radioligands for 5-HT_{1A} receptors have been used with PET. The first to be developed, ^{11}C -WAY100635, is a high-affinity selective antagonist of 5-HT_{1A} receptors. Binding site extension was delineated (3) and quantified (4). These studies confirmed that 5-HT_{1A} receptors are mainly located in the limbic areas and in the raphe nuclei but are also present in the paralimbic and neocortical regions.

The fluoro analog 2'-methoxyphenyl-(N-2'-pyridinyl)-p- ^{18}F -fluoro-benzamidoethylpiperazine (^{18}F -MPPF) was synthesized shortly after (5) and, when compared with ^{11}C -WAY100635, offers an affinity more similar to that of 5-HT for 5-HT_{1A} receptors (inhibition constant = 3.3 nmol/L) (6) and a longer half-life (107 min). In vivo and ex vivo distribution studies in rat (7), cat (5,8), and humans (9) confirmed the selective binding of the molecule in cerebral regions rich in 5-HT_{1A} receptors, such as the dorsal raphe nuclei, the limbic and paralimbic regions, and, with less intensity, the neocortex. Quantification studies using a 3-compartmental simplified reference tissue model (SRTM) confirmed that binding potential (BP) values were correlated with the maximum number of available binding sites

Received Feb. 14, 2005; revision accepted Aug. 1, 2005.
For correspondence or reprints contact: Nicolas Costes, MSc, CERMEP, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex, France.
E-mail: costes@cermep.fr

($B_{\max}$) and, therefore, could be considered as a reliable index of local receptor concentration (10).

Although these studies emphasized the potential use of both ligands for quantitative studies of the serotonergic 5-HT_{1A} system in vivo, small groups of subjects were examined, which lead to a rather high variability of BP values. Certainly, significant variations in the quantification of 5-HT_{1A} receptor binding have been described previously using ¹¹C-WAY100635 (11–13). These variations were observed especially in small structures, such as the raphe nuclei or the amygdala, which are of particular interest for the study of neurologic diseases.

The aim of our study was to obtain data for ¹⁸F-MPPF PET in a large group of healthy subjects (males and females) to test for the possible influence of age and sex on the variability of ¹⁸F-MPPF PET BP. Moreover, our goal was also to provide a large control database appropriate for statistical parametric mapping (SPM) to ¹⁸F-MPPF PET studies in 5-HT-related neuropsychiatric disorders (such as depression, eating disorders, Alzheimer, migraine or epilepsy) in which patients of wide age range or of specific sex are recruited.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Fifty-three healthy subjects (26 males [mean age $\pm$ SD, 41.7 $\pm$ 13.5 y; range, 20–68 y] and 27 females [mean age $\pm$ SD, 41.7 $\pm$ 14.1 y; range, 19–70 y]) were selected to participate in the study. Male and female control subjects were recruited to obtain a homogeneous age distribution between 19 and 70 y, with approximately 6 male and 6 female subjects for each decade of age. Subjects gave their written consent to participate in the study, which was approved by the local ethical committee (Centre Léon Bérard, Lyon, France) in accordance with the Helsinki Declaration and French rules protecting persons. Subjects were interviewed by a medical doctor to verify that they did not meet any of the following exclusion criteria: (i) sign or history of neurologic, psychiatric, cardiovascular, pleuro-pulmonary or hematologic disease; (ii) ongoing neuroleptic, antiparkinsonian α -methyl-dopa, β -blocker, MAOI-A or -B (MAOI = monoamine oxidase inhibitor), tricyclic antidepressant, or thymoregulator treatment; (iii) pregnancy; (iv) hormone replacement therapy; (v) consumption of recreational drugs (cannabis, ecstasy); (vi) contraindication to MRI; (vii) brain MRI lesion. Moreover, each subject was asked for his or her consumption of tobacco or alcohol. Heavy consumers of alcohol or tobacco were excluded. Five subjects smoking <10 cigarettes/d and 9 subjects taking 1–2 wine glass units/d (1 wine glass unit = 125 mL of wine according to the Medical Council of Alcohol) were included in the study. Second, all subjects were evaluated for depression using the General Health Questionnaire (GHQ-28) by Goldberg and Hillier (14). Only subjects with a score below the threshold for depression (<7) were included in the study.

MRI

A 3-dimensional multiplanar reconstruction anatomic MRI scan was performed on each subject, yielding a volume of 130–170 slices with cubic voxels of 1 mm³ with 256 $\times$ 256 voxels in each transverse plane.

PET Scan of ¹⁸F-MPPF

The methodology of tracer production, scan acquisition, and data processing has been described previously (15,16). Briefly, ¹⁸F-MPPF was acquired in 35 frames with a CTI Exact HR+ scanner for 60 min after the injection of 153–250 MBq of ¹⁸F-MPPF (mean $\pm$ SD, 192.7 $\pm$ 23.8 MBq). Sinograms were normalized, attenuated, and scatter corrected and then subsequently reconstructed with filtered backprojection (Hanning filter: cutoff, 0.5 cycle/voxel). This yielded a dynamic study of 35 volumes of 128 $\times$ 128 $\times$ 63 with a voxel size of 2.04 $\times$ 2.04 $\times$ 2.42 mm³. The binding parameters of the tracer were estimated according to the 3-compartment SRTM previously applied to ¹¹C-WAY100635 (17). This model is based on the analytic solution of the compartment model that is used to estimate 3 parameters without the use of an arterial sampling input function: R_1 (ratio of plasma to brain transport constant in the region of interest [ROI] and in the reference region), k_2 (tracer's efflux in the vascular system), and BP (ratio of available receptor density to receptor affinity, $BP = B_{\max}/K_d$, where K_d is the dissociation constant). The cerebellum was taken as the reference region. The SRTM has been evaluated with a correlation study between parameters obtained with a complete nonlinear 3-compartment model (10) and the SRTM BP calculated in 20 ROIs.

The images were processed with the SRTM 2 different ways: one based on mean ROI activity curves (ROI analysis) and the other based on voxel level and SPM (parametric image analysis).

ROI Analysis. Individual ¹⁸F-MPPF static images (summed from 0 to 60 min) were resliced in a transverse orientation parallel to the bihippocampal plane to optimally outline the mesial and lateral temporal regions. The same rotation parameters were applied to the dynamic acquisition. Independently, the MR image was coregistered with the ¹⁸F-MPPF static image by an automated method based on Mutual Information criteria (SPM; Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, U.K.). Anatomic ROIs were manually drawn on the coregistered MR image by one of the authors. Four hundred ROIs were drawn and regrouped into anatomic volumes of interest (VOIs) to describe left and right amygdala, hippocampi, parahippocampal gyri, temporal poles, insula, anterior and posterior cingulate gyri, orbitofrontal cortices, inferior, middle, and superior temporal gyri, subcentral operculi, inferior and superior parietal lobules, frontal and occipital cortices, and thalami. As raphe nuclei cannot be identified on MRI, this region was outlined directly on the static ¹⁸F-MPPF image by thresholding the activity at 80% of the local maximum in the brainstem. This region was a posteriori visualized on the MR image to check for its proper location in the periaqueductal gray matter. All ROIs were then applied to dynamic PET to extract time-activity curves and to obtain mean regional values of R_1 , k_2 , and BP for each ROI.

Parametric Image Analysis. For each subject, the MR image was coregistered with the static PET image in its acquisition orientation. On the coregistered MR image, a large ROI was outlined in the cerebellum and was used as a unique reference region for the simplified model applied to each voxel. From individual voxel time-activity curves, the parametric images of R_1 , k_2 , and BP were determined. Individual parametric images were then transformed into a standard space using the nonlinear transformation matrix derived from the spatial normalization of the individual's MR image to the T1 MRI default template (MNI template of the ICBM Project), and smoothed using an 8 $\times$ 8 $\times$ 8 mm³ full width at half maximum isotropic gaussian kernel that

takes into account interindividual anatomy variability and improves the sensitivity of the statistical analysis.

Statistical Inference. For the ROI analysis, 2 separate statistical analyses for men and women were performed on mean regional BP values considered as independent measures.

First, we performed a linear regression of BP with age for each anatomic ROI with left and right BP values averaged. The r^2 coefficient was taken as the index of correlation with a standard Fisher z -score and P for significant assessment. To evaluate the impact of partial-volume effect (PVE) on BP values, we calculated a linear regression of BP versus ROI volumes.

We then performed an ANOVA for each anatomic ROI using laterality (left and right hemisphere) as an independent factor and the decade of age (20s, 30s, 40s, 50s, and 60s) as a group factor.

SPM99 was used for the voxel-based analysis on the normalized smoothed parametric BP images of the 53 control subjects. Three linear models were used to assess the variability due to sex or age between groups. In analysis I, we applied a 2-sample t test between males and females with individual BP values taken as covariates for interindividual adjustment. In analysis II, the design was an analysis of covariance (ANCOVA) with age considered as a covariate, sex as a group factor, and individual global BP values taken as covariates for interindividual adjustment. To perform analysis III, we used an ANOVA with sex and decade of age as group factors and individual global BP as a covariate for adjustment. Statistical parametric maps of the t statistic (SPM $\{t\}$) were calculated with a threshold of $P = 0.001$ uncorrected at the voxel level. Significant clusters were selected at a corrected cluster level of $P < 0.05$ determined from a joint probability of peak height and cluster size (18).

RESULTS

Relationship Between BP and ROI Volumes

No significant correlation between BP and ROI volumes was found for any regions except in the right insula ($P < 0.04$) of females and in the raphe nuclei ($P < 0.035$) of males. However, in these regions, BP variations were inversely correlated with ROI volumes.

Normative Data for ROI Analysis

Table 1 reports BP values for 18 anatomic regions in men and women. As there was no significant difference between left and right BP, the left and right values were mixed to determine the mean BP and the SD in each ROI for each decade of age. Minimal BP values were found in the thalamus and maxima in the hippocampus, with a highest mean of 1.27 ± 0.07 for women in their 30s and 1.28 ± 0.12 for men in their 20s. Minima were found in women in their 60s and in the males in their 30s. BP mean values ranged between 0.5 and 1.2 in limbic areas, between 0.5 and 0.6 in the lateral temporal cortex, between 0.3 and 0.6 in other neocortical regions, and between 0.3 ± 0.1 and 0.6 ± 0.1 in the raphe nuclei. Scatter plots of BP values versus age are illustrated in Figure 1 for all 18 ROIs.

Sex Difference in ^{18}F -MPPF Binding

For the SPM analysis I, the unpaired t test comparing BP images in males and females did not reveal any difference in

^{18}F -MPPF binding. However, when considering age as a covariate (analysis II), BP appeared significantly greater for women in several areas located in the limbic, paralimbic, and frontal regions (Table 2; Fig. 2A). The size of significant clusters was bigger in the right than in the left hemisphere (Fig. 2B). For men, BP was significantly greater in a single cluster, which appeared to be related to a side effect due to the normalization procedure (Fig. 2C).

Linear Variation of BP with Age

Females. The SPM analysis II, exploring the linear regression between age and ^{18}F -MPPF binding, showed a significant BP decrease with age involving most cortical areas (Fig. 2D). The most significantly correlated areas were found in the superior and middle temporal gyri bilaterally, the left middle frontal gyrus, the insula, the temporooccipital region, and the cingulate gyrus (Table 3; Fig. 2E), sparing only the left amygdala and the orbitofrontal cortex. The inverse contrast did not reveal any significant BP increase.

The ROI analysis, illustrated on Figure 1, showed a significant BP decrease with age in all ROIs (hippocampus, parahippocampal gyrus, insula, anterior and posterior cingulate gyrus, orbitofrontal and frontal gyrus, temporal, parietal, and occipital lobes, and raphe nucleus), except in amygdala and temporal pole. Global BP values decreased significantly with age in the female population with a slope of 3.6% per decade and a mean reduction in ^{18}F -MPPF BP of 15% from 20 to 60 y.

Males. SPM analysis II revealed a significant BP decrease with age in small clusters of voxels located in the superior frontal gyrus and in the precuneus (Table 3). The inverse contrast showed a significant BP increase in the left middle frontal gyrus and in the rectus gyrus bilaterally (Fig. 2F).

The ROI analysis showed a significant positive linear correlation between age and BP in amygdala and temporal pole. Conversely, a significant negative linear correlation was found in the superior temporal gyri, in the opercular region, in the inferior and superior parietal cortices, and in the occipital lobe. Global BP values were not correlated with age (Fig. 1).

Evolution in ^{18}F -MPPF BP with Decades

From the ANOVA of ROI results, where decade of age and lateralization were considered as independent factors, we did not find any significant influence of the lateralization on regional BP values. Conversely, BP was primarily influenced by the age factor in a manner different for male and female groups.

Females. The statistical analysis of ROI data showed no influence of the decade of age on the variance in the temporal pole and in the inferior temporal, superior parietal, and occipital gyri. In the remaining regions, where the decade factor had a significant influence, the post hoc analysis revealed a significant decrease between subjects in their 20s and their 30s in amygdala, between subjects in their 40s and their 50s in amygdala and operculum, and between subjects

TABLE 1
¹⁸F-MPPF BP in 18 Anatomic ROIs Determined with Data of 53 Subjects, Split by Decade of Age and Sex

Region	Decade: female				
	20s	30s	40s	50s	60s
Amygdala	0.74 ± 0.18	0.95 ± 0.12	0.82 ± 0.14	0.91 ± 0.17	0.70 ± 0.10
Hippocampus	1.24 ± 0.19	1.27 ± 0.07	1.16 ± 0.14	1.14 ± 0.16	0.96 ± 0.11
Parahippocampus	1.06 ± 0.23	1.06 ± 0.13	1.01 ± 0.08	0.98 ± 0.17	0.80 ± 0.09
Pole	0.96 ± 0.16	1.01 ± 0.13	0.99 ± 0.06	0.95 ± 0.11	0.86 ± 0.11
Insula	0.89 ± 0.18	0.91 ± 0.14	0.85 ± 0.08	0.73 ± 0.17	0.58 ± 0.12
Anterior cingulate	0.61 ± 0.16	0.65 ± 0.10	0.63 ± 0.07	0.60 ± 0.07	0.48 ± 0.11
Posterior cingulate	0.62 ± 0.16	0.56 ± 0.11	0.58 ± 0.07	0.51 ± 0.09	0.45 ± 0.10
Orbitofrontal	0.58 ± 0.13	0.58 ± 0.11	0.58 ± 0.07	0.54 ± 0.09	0.42 ± 0.09
Inferior temporal	0.68 ± 0.15	0.63 ± 0.10	0.66 ± 0.05	0.57 ± 0.13	0.54 ± 0.13
Middle temporal	0.71 ± 0.18	0.67 ± 0.10	0.67 ± 0.05	0.61 ± 0.12	0.51 ± 0.10
Superior temporal	0.71 ± 0.16	0.64 ± 0.11	0.63 ± 0.06	0.54 ± 0.11	0.43 ± 0.09
Opercule	0.56 ± 0.19	0.57 ± 0.12	0.57 ± 0.07	0.45 ± 0.11	0.35 ± 0.07
Inferior parietal	0.53 ± 0.15	0.50 ± 0.10	0.49 ± 0.04	0.44 ± 0.11	0.36 ± 0.09
Superior parietal	0.44 ± 0.16	0.38 ± 0.09	0.38 ± 0.07	0.36 ± 0.07	0.29 ± 0.08
Occipital	0.39 ± 0.13	0.39 ± 0.07	0.34 ± 0.05	0.35 ± 0.06	0.32 ± 0.07
Frontal	0.46 ± 0.15	0.46 ± 0.08	0.44 ± 0.03	0.42 ± 0.11	0.30 ± 0.08
Raphe nucleus	0.62 ± 0.16	0.56 ± 0.30	0.50 ± 0.10	0.45 ± 0.12	0.30 ± 0.10
Thalamus	0.01 ± 0.11	0.11 ± 0.17	0.07 ± 0.05	0.07 ± 0.10	0.01 ± 0.05
Global BP	0.66 ± 0.16	0.66 ± 0.09	0.63 ± 0.04	0.59 ± 0.11	0.49 ± 0.09

Region	Decade: male				
	20s	30s	40s	50s	60s
Amygdala	0.81 ± 0.16	0.76 ± 0.07	0.87 ± 0.14	0.87 ± 0.12	0.99 ± 0.15
Hippocampus	1.28 ± 0.12	1.03 ± 0.15	1.21 ± 0.15	1.17 ± 0.13	1.30 ± 0.10
Parahippocampus	1.03 ± 0.17	0.83 ± 0.09	0.95 ± 0.13	0.98 ± 0.09	1.02 ± 0.07
Pole	0.94 ± 0.08	0.85 ± 0.09	0.98 ± 0.15	0.99 ± 0.09	1.02 ± 0.22
Insula	0.91 ± 0.13	0.71 ± 0.10	0.83 ± 0.18	0.78 ± 0.13	0.74 ± 0.09
Anterior cingulate	0.68 ± 0.16	0.48 ± 0.07	0.58 ± 0.15	0.57 ± 0.09	0.62 ± 0.16
Posterior cingulate	0.69 ± 0.17	0.44 ± 0.07	0.53 ± 0.10	0.53 ± 0.09	0.60 ± 0.15
Orbitofrontal	0.56 ± 0.11	0.46 ± 0.05	0.58 ± 0.12	0.54 ± 0.07	0.63 ± 0.22
Inferior temporal	0.65 ± 0.09	0.55 ± 0.09	0.63 ± 0.10	0.63 ± 0.07	0.62 ± 0.14
Middle temporal	0.69 ± 0.11	0.54 ± 0.07	0.66 ± 0.14	0.65 ± 0.07	0.64 ± 0.15
Superior temporal	0.76 ± 0.09	0.54 ± 0.06	0.63 ± 0.14	0.61 ± 0.09	0.59 ± 0.13
Opercule	0.66 ± 0.16	0.46 ± 0.06	0.57 ± 0.14	0.51 ± 0.05	0.45 ± 0.10
Inferior parietal	0.64 ± 0.12	0.39 ± 0.06	0.49 ± 0.12	0.45 ± 0.05	0.45 ± 0.13
Superior parietal	0.55 ± 0.16	0.32 ± 0.07	0.38 ± 0.11	0.33 ± 0.07	0.30 ± 0.05
Occipital	0.51 ± 0.12	0.33 ± 0.06	0.41 ± 0.11	0.38 ± 0.05	0.35 ± 0.10
Frontal	0.53 ± 0.11	0.35 ± 0.05	0.44 ± 0.10	0.42 ± 0.05	0.39 ± 0.15
Raphe nucleus	0.51 ± 0.11	0.38 ± 0.16	0.52 ± 0.13	0.51 ± 0.21	0.43 ± 0.10
Thalamus	0.06 ± 0.11	-0.03 ± 0.07	0.03 ± 0.08	0.05 ± 0.05	0.04 ± 0.05
Global BP	0.70 ± 0.10	0.53 ± 0.04	0.63 ± 0.12	0.61 ± 0.06	0.63 ± 0.12

Data are presented as mean ± SD. Left and right are averaged.

in their 50s and their 60s in all ROIs (mean decrease of 17%) except the posterior cingulate, middle temporal, and opercular cortices.

The SPM analysis III (Table 4), revealed a significant BP decrease independent of global variations between subjects in their 40s and their 50s in the right superior temporal gyrus (Fig. 3A) and a significant BP increase between subjects in their 50s and their 60s in the left fusiform gyrus (Fig. 3B). Other comparisons did not show any significant clusters.

Males. The statistical analysis of ROI data showed a significant influence of decade of age on BP in all regions

except in the raphe nucleus, and in the inferior temporal gyrus. In regions where the decade of age had a significant influence on variance, the post hoc analysis revealed (i) a significant BP decrease between the 20–29 and the 30–39 age group involving all ROIs except the amygdala and the temporal pole, and (ii) a significant BP increase between the 30–39 y and the 40–49 age group in all ROIs except in the cingulate, superior parietal and occipital gyri. No difference was found either between subjects in their 40s and 50s or between those in their 50s and 60s.

The SPM analysis III (Table 4) showed (i) a decrease in BP between the 20–29 y and 30–39 y age group in the

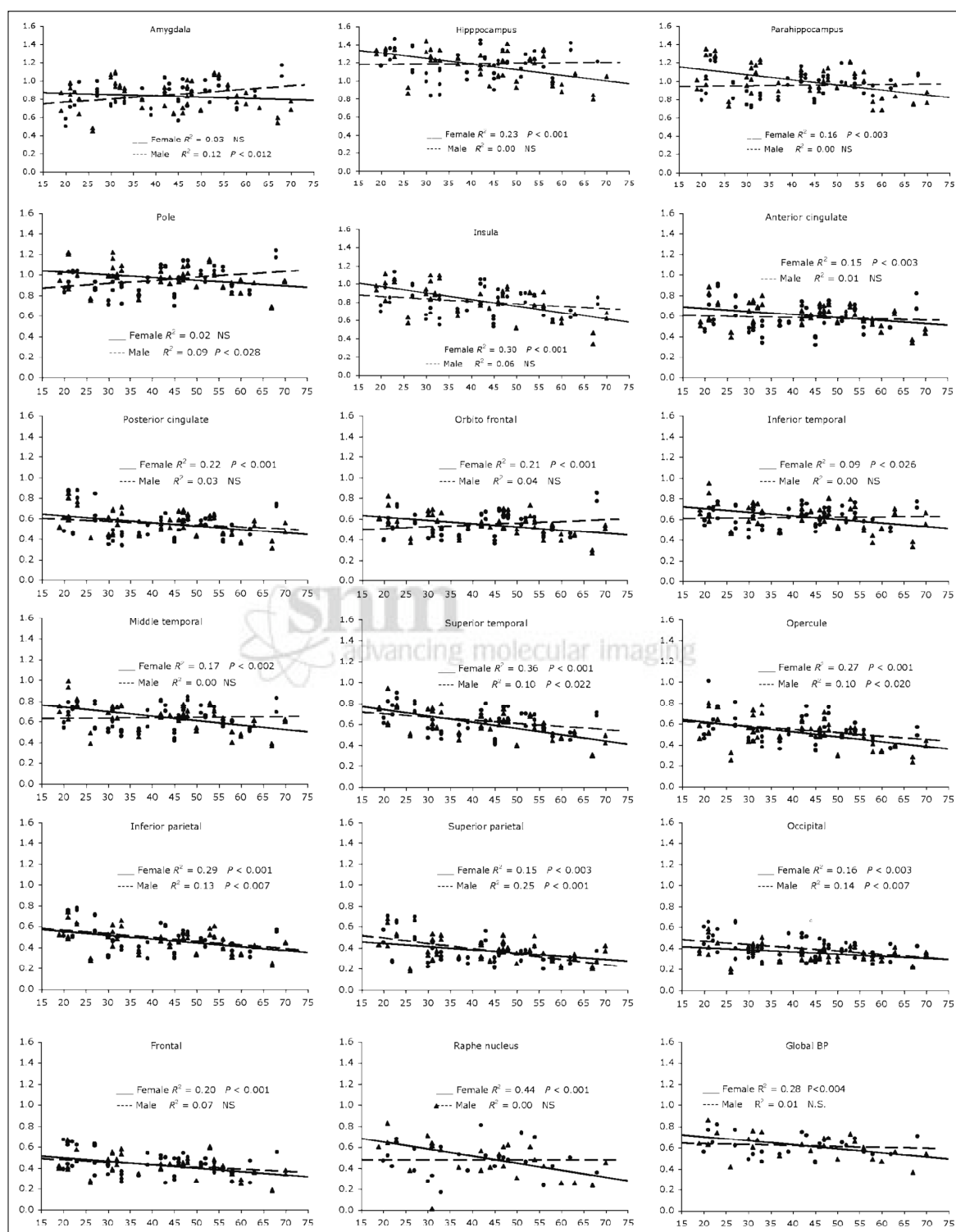


FIGURE 1. Scatter plot of BP values for 53 subjects in 18 anatomic ROIs manually delineated on individual MR images. Left and right values are not differentiated. Triangles are for female data, and dots are for male data. Linear regression curves are plotted for females (solid line) and for males (dashed line) independently. NS = not significant; R^2 = correlation coefficient.

TABLE 2
Analysis II: Sex Differences

Region	BA	Peak z-score	Extension <i>k</i>	Peak level P(<i>z</i>)<	Cluster level P(<i>z</i> , <i>k</i>)<	MNI coordinates			
						<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	
R inferior parietal gyrus	7	5.20	Male binding superior to female 240 0.002			0.011	36	−78	46
			Female binding superior to male						
R middle temporal gyrus	21	4.59	318	0.032	0.003	66	−22	−12	
R parahippocampal gyrus	36	4.55	1,572	0.038	0.001	34	−18	−20	
R rectus gyrus	11	4.41	904	0.066	0.001	8	36	−20	
L inferior temporal gyrus	20	4.21	431	0.134	0.001	−52	−12	−34	
R precentral gyrus	4	4.03	259	0.238	0.080	40	−2	16	
L anterior cingulate gyrus	31	4.02	240	0.247	0.011	−8	−64	24	
R temporal pole	20	3.92	214	0.328	0.017	28	4	−38	
R superior frontal gyrus	10	3.92	267	0.329	0.007	10	56	18	
L hippocampus		3.86	202	0.394	0.021	−32	−34	−10	

BA = Brodmann's area.

SPM result of analysis II (linear regression of age on BP, with a sex group factor). Results of *t* contrast of sex group comparison, independently of age effect. Cluster selection is based on corrected probability of the peak (*P* < 0.05) or corrected probability of the cluster size (*P* < 0.05). Clusters are formed by connected voxels with an individual uncorrected probability of 0.001. Region: L = left; R = right. Peak z-score: z-score of the maximum of the cluster (Student *t* transformed to z-score). Extension *k*: size of the cluster in number of suprathreshold (uncorrected *P* < 0.001) connected voxels. Peak level: corrected probability of the peak. Cluster level: joint corrected probability of the cluster extension and peak z-score. MNI coordinates: coordinates of the peak in the MNI templates with the Talairach referential.

inferior parietal gyrus and precuneus bilaterally, in the left cingulate gyrus (Fig. 3C), in the left supplementary motor area, in the medial and lateral superior frontal gyrus (Fig. 3D), and (ii) an increase in BP between the 30–39 and the 40–49 age group in the right middle frontal gyrus (Fig. 3E), and left superior frontal gyrus (Fig. 3F).

DISCUSSION

Use of a Large Database

To our knowledge, this study is the first report exploring 5-HT_{1A} receptor binding with ¹⁸F-MPPF in a large population including both male and female subjects. Previous PET studies have used another antagonist of 5-HT_{1A}, ¹¹C-WAY100635, in either smaller populations (*n* = <25) (19–21) or in a large group of only male volunteers (*n* = 61) (13). Our database is large enough to perform statistical inference of ¹⁸F-MPPF binding modifications to 5-HT_{1A} receptors in the context of pathologies or specific cerebral functions involving the serotonergic system, or to study the effect of drugs on the serotonergic system. Accordingly, as patients began to be compared with control populations, we could assess significant bilateral abnormalities in ¹⁸F-MPPF binding to 5-HT_{1A} receptors using our database in epileptic patients with temporal lobe epilepsy (15,16).

Moreover, the large sampling of female and male subjects over aging permits the study of pathologies such as depression, Alzheimer's disease, or anorexia, which may differentially affect men versus women or younger versus older patients.

This study continues our previous work (10) in which we quantified a whole set of ¹⁸F-MPPF transport, binding, and metabolism parameters. This quantification implied arterial blood sampling and a multiple injection protocol, which was not appropriate for large-scale studies and justified the use of a simplified protocol. In the present work, the SRTM, with the cerebellum as reference, provides 3 parameters related to binding (BP), washout (*k*₂), and delivery (*R*₁) with sufficient stability to be computed as parametric images suitable for statistical voxel-by-voxel analysis. Furthermore, from our spatially normalized static PET images we were able to create a ¹⁸F-MPPF template in the MNI stereotactic space, which allows future spatial normalization procedures in the absence of individual anatomic MR images.

Methodologic Issues

A limitation in our database is the small number of subjects included in the 60–69 y-old age group. Indeed, the different size of our population samples impairs the statistical power for the detection of specific differences between each group and might have an impact on our results. However, SDs for males and females in their 60s were of similar magnitude as for other age groups (Table 1). Nevertheless, to obtain a direct-paired comparison of parametric data between patients of the 60s decade (like patients with Alzheimer's disease) and controls, additional healthy volunteers of this age group should be included.

Another methodologic issue relates to the drawing of ROIs that were manually traced directly on the individual

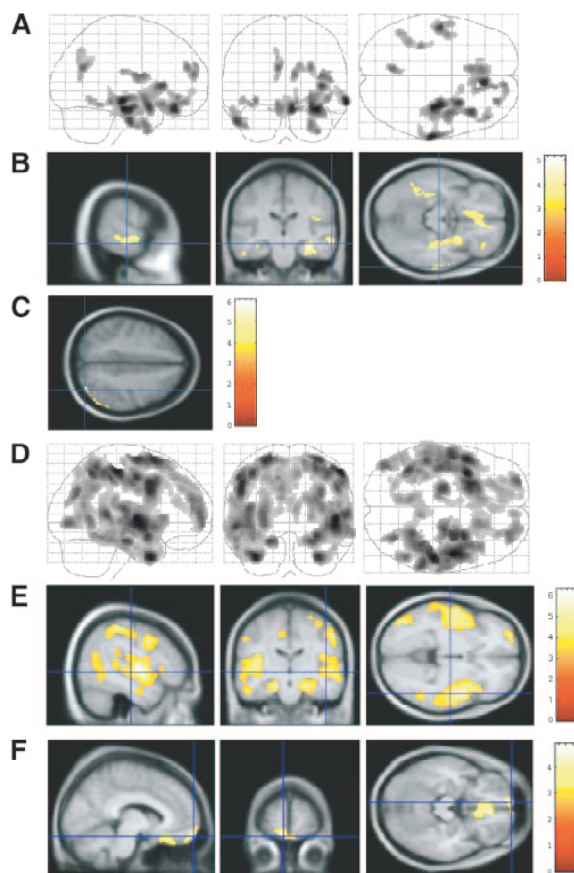


FIGURE 2. SPM of ^{18}F -MPPF binding with age and sex effect (analysis II). (A and B) Increase in ^{18}F -MPPF binding in female compared with male subjects independently of age effect. (A) Maximum intensity projection (MIP) in the x-, y-, and z-directions of the statistical map. t score threshold $P < 0.001$ uncorrected for multiple comparisons; cluster threshold $P < 0.05$ corrected for multiple comparisons. Right of the brain is the right of the figure. (B) Three orthogonal views (x, y, z = 66, -22, -14) of SPM centered on peak situated in right middle temporal gyrus (Brodmann's area [BA] 21) superimposed on averaged normalized MR images from 23 female subjects. Right hippocampus is visible on right hemisphere in transverse and coronal views. (C) Binding of ^{18}F -MPPF increase in male vs. female independent of age effect. Transverse view of SPM shows a side effect in surface of parietal cortex (x, y, z = 36, -78, 46). (D and E) Negative linear correlation of BP with age in female subjects. (D) MIP of statistical map. t score's threshold $P < 0.001$ uncorrected for multiple comparisons; cluster threshold $P < 0.05$ corrected for multiple comparisons. (E) Three orthogonal views of SPM centered on peak situated in right superior temporal gyrus (x, y, z = 48, -19, -5; BA 22) superimposed on averaged normalized MR images from 23 female subjects. (F) Positive linear correlation of BP with age in male population. Three orthogonal views of SPM (t threshold $P < 0.001$ uncorrected; cluster threshold $P < 0.05$ corrected, x, y, z = -8, 64, -18) centered on peak situated in left middle frontal gyrus (BA 11) superimposed on averaged normalized MR images from 22 male subjects. Rectus gyrus is visible on sagittal and transverse views.

MR images. The uncertainty of the delineation in the cortical and subcortical regions is not suspected. The problem might be located in the raphe nucleus. Given that this structure is not really a nucleus in the cytoarchitectural sense of the term, a delineation should be arbitrarily chosen either on a fixed volume embedding the raphe in the brainstem with an a priori knowledge of its position or with an arbitrary delineation based on the ^{18}F -MPPF activity threshold from a static equilibrium ^{18}F -MPPF image. We chose this second approach, fixing a threshold at 80% of the local maximum activity located in the brainstem. However, this delineation would not be suitable in patients presenting a severely decreased ^{18}F -MPPF binding in the raphe nucleus. In such cases, a parametric image without a priori delineation of the raphe would be more appropriate.

The question of volume delineation of structure contributes to the complication of the PVE and spillover due to the limited resolution of the PET scanner. The correction method based on geometric matrix transfer (22) can be applied. In this study we considered uncorrected results, yet we verified that the variation of volume over subjects could not explain the variation of BP. As in Tauscher et al. (21), we found that ROI volumes were not correlated with BP changes except in 2 regions—that is, the insula in women and the raphe nucleus in men. However, in these 2 regions, linear regression revealed a negative correlation between volume and BP. Therefore, the hypothesis that BP reductions were attributed to a PVE induced by ROI volume reduction was ruled out. This does not mean that no PVE affected our measures but that PVE cannot explain BP reduction in our study.

Sex Difference in ^{18}F -MPPF Binding

Sex differences are observed in several serotonin-regulated behaviors (sexual, aggression) or mental disorders (eating disorders, anxiety disorders, depression). As an example, the rate of mood disorders was shown to be almost double in females versus that in males (23).

To our knowledge, only 2 PET studies explored male/females differences in 5-HT_{1A} binding using ^{11}C -WAY100635 (20,21). Parsey et al. (20) found higher values of distribution volume in specific compartments (V3) for women compared with men. When considering the SRTM BP (i.e., V3 normalized to the nonspecific distribution volume), this sex effect disappeared as in Tauscher et al. (21). In our study, where BP was calculated with the SRTM, the 2-sample t test comparing parametric images of BP in male versus female groups consistently did not show any significant difference. However, once the effect of age had been removed by an ANCOVA, significantly higher BP values in females than in males were shown in limbic, paralimbic, and frontal regions, areas known to be particularly rich in 5-HT_{1A} receptors. It is noteworthy that Tauscher et al. found a "sex $\times$ age" interaction in some regions, but that did not survive a correction for multiple comparisons. In our study,

TABLE 3
Analysis II: Linear Correlation

Region	BA	Peak z-score	Extension <i>k</i>	Peak level P(z)<	Cluster level P(z, <i>k</i>)<	MNI coordinates		
						<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
Female: linear increase with age								
None								
Female: linear decrease with age								
R superior temporal gyrus	22	5.35	8,988	0.001	0.001	48	−6	2
L temporal pole	38	5.25	10,016	0.002	0.001	−36	8	−36
L superior temporal gyrus	6	4.98	4,137	0.006	0.001	−24	12	64
R parahippocampal gyrus	36	4.69	436	0.021	0.001	24	−16	−20
R middle temporal gyrus	21	4.43	573	0.060	0.001	52	−56	4
L middle frontal gyrus	6	4.22	204	0.131	0.020	−12	−22	46
R anterior cingulate gyrus	32	3.61	174	0.671	0.035	2	36	20
L anterior cingulate gyrus	24	3.58	190	0.696	0.026	−2	14	34
Male: linear increase with age								
L middle frontal gyrus	11	4.37	211	0.076	0.018	−8	64	−18
R rectus gyrus	11	4.34	676	0.085	0.001	6	22	−22
Male: linear decrease with age								
R precuneus	7	5.33	161	0.021	0.044	36	−74	52
L superior frontal gyrus		4.48	365	0.210	0.002	−18	28	62

BA = Brodmann's area.

SPM result of analysis II (linear regression of age on BP, with a sex group factor). Results of *t* contrasts of linear regression in female group and in male group. See legend of Table 2 for cluster selection and column definitions.

statistical differences between women and men are more likely to be attributed to a higher sensitivity resulting from a larger number of subjects (about twice as in Tauscher et al. or Parsey et al. (20)) or to the different properties of ¹⁸F-

MPPF versus ¹¹C-WAY100635 relative to 5-HT_{1A} receptors.

The higher BP values found in women can be interpreted as a higher density of 5-HT_{1A} receptors in women

TABLE 4
Analysis III: Decade Difference

Region	BA	Peak z-score	Extension <i>k</i>	Peak level <i>P</i> (<i>z</i>)<	Cluster level <i>P</i> (<i>z</i> , <i>k</i>)<	MNI coordinates		
						<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
Female 40s to 50s decrease								
Temporal superior gyrus	12	4.29	185	0.385	0.025	54	6	−8
Female 50s to 60s increase								
Fusiform gyrus	39	4.82	128	0.014	0.077	−44	−70	20
Male 20s to 30s decrease								
L inferior parietal gyrus	40	4.71	2,039	0.022	0.001	−46	−40	44
R inferior parietal gyrus	40	4.49	331	0.052	0.002	54	−48	46
R inferior parietal gyrus	39	4.02	424	0.259	0.001	54	−64	26
L middle frontal gyrus	10	3.97	528	0.304	0.001	−40	48	12
L superior frontal gyrus	8	3.82	713	0.453	0.001	−14	32	58
L posterior cingulate gyrus	32	3.69	153	0.596	0.047	−10	−6	44
Male 30s to 40s increase								
R middle frontal gyrus	9	3.70	257	0.584	0.007	6	34	−12
L middle frontal gyrus	9	3.56	166	0.744	0.036	−30	44	32

BA = Brodmann's area.

SPM result of analysis III (ANOVA with sex and decade of age group factors). Results of *t* contrast between decade of age in female groups and in male groups from their 20s to their 60s. See legend of Table 2 for cluster selection and column definitions. Only contrasts showing significant results are listed.

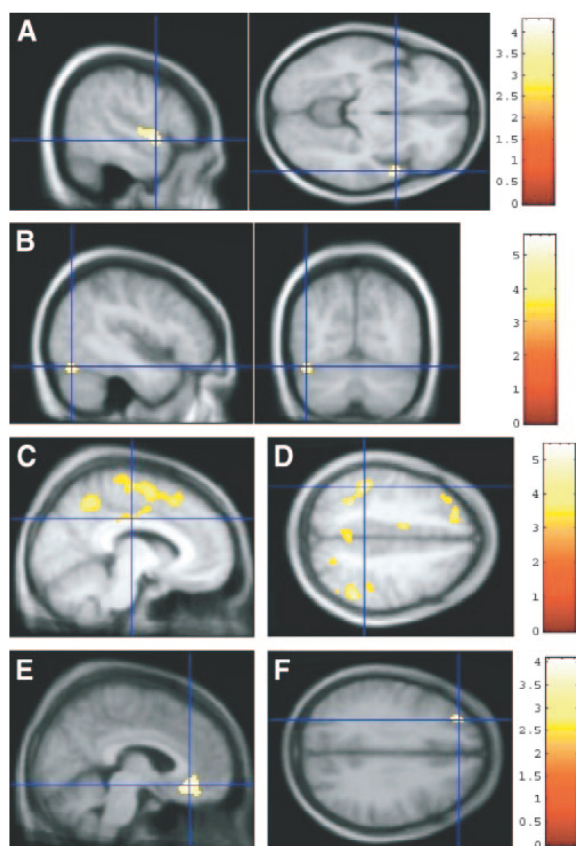


FIGURE 3. SPM of ^{18}F -MPPF binding by decade of age (analysis III). (A and B) SPM of differences between decades in female population. (A) Decrease in ^{18}F -MPPF binding between subjects in their 40s and their 50s in right superior temporal gyrus (sagittal view, $x = 54$ mm; transverse view, $z = -8$ mm). (B) Increase in ^{18}F -MPPF binding from 50s to 60s decades of age in left fusiform gyrus (sagittal view, $x = -44$ mm; coronal view, $y = -70$ mm). (C and D) SPM of differences between decade of age in male population: decrease in ^{18}F -MPPF binding between subjects in their 20s and 30s. (C) Sagittal view ($x = -10$ mm): Decrease in left posterior cingulate gyrus (cross), superior parietal lobule, and superior frontal gyrus. (D) Transverse view ($z = +44$ mm), decrease in left inferior parietal lobule (cross). BP values appear symmetric in right inferior parietal, left posterior cingulate, and left middle frontal cortex. (E and F) SPM of differences between decades in female population: Increase in ^{18}F -MPPF binding between subjects in their 30s and 40s. (E) Sagittal view ($x = +6$ mm), right middle frontal gyrus (BA 9). (F) Transverse view ($z = 32$ mm), left middle frontal gyrus.

compared with men; on the other hand, given that ^{18}F -MPPF is sensitive to endogenous variations of 5-HT concentration (24), higher BP values in women could also be interpreted as a higher availability of 5-HT_{1A} receptor sites due to a lower concentration of 5-HT. BP variations could also be interpreted as a K_d variation of ^{18}F -MPPF binding to 5-HT_{1A}. However, 5-HT synthesis has not yet been assessed in vivo in male and female

subjects, and, in addition, postmortem studies in humans using 8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino)tetralin failed to find any sex effect on B_{max} (25,26).

Variation of BP with Age

In our study, we showed that aging influenced the BP values in our healthy subjects. This is an expected result as normal aging leads to changes in most neurotransmission systems as a consequence of presynaptic reduction of the neurotransmitter (which could be due to neuronal loss, decrease in synthesis, or increase of metabolism degradation), decrease in the density of postsynaptic receptors, or deficiency in signal transduction mechanisms. Although some studies in humans fail to find any effect of aging on 5-HT_{1A} receptor binding in healthy subjects (27), other postmortem studies in humans (26) show a substantial reduction of binding with age (up to 50%) attributed to a decrease in receptor density with no change in affinity (26). These studies, however, do not provide any information on sex.

Our results revealed a sex-specific effect of age on BP. We found a linear decrease of BP with age in almost all regions in women. In men, changes in BP were region specific with no correlation between BP and age in most limbic and paralimbic regions, with either an increase or a decrease of BP with age in the remaining regions. Among PET studies using ^{11}C -WAY100635 to explore the linear relation between age and BP, the results are contradictory. Some studies found a BP decrease with age but no effect of sex (21) or a BP decrease in men but not in women (19) or no correlation between BP in men (13,28) or in men and women (20). These results, along with ours, most likely reflect differences in population sizes, age range (oldest subjects, 55–80 y), camera field of view, or affinity of the radioligand for 5-HT_{1A} receptors.

However, using comparable methodologies, postmortem studies in humans also give inconsistent results. Although Matsubara et al. (29) found a negative correlation between the 5-HT_{1A} receptor density (B_{max}) and age in male but not in female controls, Palego et al. (25) described both significant increases and decreases of B_{max} with age in women, whereas men showed a decrease of affinity with age in the occipital regions.

Analysis of BP changes by decade of age adds to the understanding of the results regarding the linear changes with age. This analysis reveals specific patterns of BP changes over the decade of age. In women, our data suggest that there is a widespread decrease of BP with age, which worsens after 50 y. In men, the analysis by decade reveals that BP decreases between 20 and 30 y but that this decrease is compensated by an increase between 30 and 40 y for almost all regions. This would explain the absence of a linear correlation between age and BP in men. Interestingly, the SPM analysis shows that the decrease between 20 and 30 y is even more significant in the parietal, frontal, and precuneus regions, which are precisely the areas where a

linear negative correlation between BP and age was identified. These specific patterns of BP changes with age in men are difficult to interpret, primarily as linear changes would be expected as a consequence of neuronal loss during aging. Unfortunately, the only study reporting such specific patterns of BP changes over the decade of age (30) explored 5-HT_{2A} receptors and pooled the results from male and female subjects. Interestingly, however, on the comparison of these data with those of Palego et al. (25) and Dillon et al. (26), the authors suggested that aging effects on the serotonergic system seem to depend on age groups and that the decrease in 5-HT_{1A} receptor density is more pronounced in younger men and older women. Whether regulation processes occur in men during midlife is difficult to state from our data but might explain differences in the incidence of psychiatric or anxiety disorders in older male and female subjects.

CONCLUSION

Our data revealed that ¹⁸F-MPPF binding to 5-HT_{1A} receptors is different in men and women independently of age and that changes of BP with age are sex specific, which corroborates the different epidemiology of psychiatric diseases in elderly. Our results justify the use of a large normative database to eliminate age and sex effects from the statistical analysis of parameters of interest in the study of patient populations with PET and ¹⁸F-MPPF.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the entire medical and radiochemistry staff of the CERMEP for their technical and human assistance. The authors thank Professor Jean-François Pujol for the initiative and his support to this research.

REFERENCES

- Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*. 1999;38:1083–1152.
- Cliffe IA. A retrospect on the discovery of WAY-100635 and the prospect for improved 5-HT_{1A} receptor PET radioligands. *Nucl Med Biol*. 2000;27:441–447.
- Pike VW, McCarron JA, Lammertsma AA, et al. Exquisite delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [carbonyl-¹¹C]WAY-100635. *Eur J Pharmacol*. 1996;301:R5–R7.
- Farde L, Ito H, Swahn CG, Pike VW, Halldin C. Quantitative analyses of carbonyl-carbon-11-WAY-100635 binding to central 5-hydroxytryptamine-1A receptors in man. *J Nucl Med*. 1998;39:1965–1971.
- Le Bars D, Lemaire C, Ginovart N, et al. High-yield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of p-[¹⁸F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635. *Nucl Med Biol*. 1998;25:343–350.
- Zhuang ZP, Kung MP, Chumpradit S, Mu M, Kung HF. Derivatives of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2"-pyridinyl-p-iodobenzamido)ethyl]piperazine (p-MPPI) as 5-HT_{1A} ligands. *J Med Chem*. 1994;37:4572–4575.
- Plenevaux A, Weissmann D, Aerts J, et al. Tissue distribution, autoradiography, and metabolism of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2"-pyridinyl)-p-[¹⁸F]fluorobenzamido]ethylpiperazine (p-[¹⁸F]MPPF), a new serotonin 5-HT_{1A} antagonist for positron emission tomography: an in vivo study in rats. *J Neurochem*. 2000;75:803–811.

- Ginovart N, Hassoun W, Le Bars D, Weissmann D, Leviel V. In vivo characterization of p-[¹⁸F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635 for visualization of 5-HT_{1A} receptors. *Synapse*. 2000;35:192–200.
- Passchier J, van Waarde A, Pieterman RM, et al. Quantitative imaging of 5-HT_{1A} receptor binding in healthy volunteers with [¹⁸F]p-MPPF. *Nucl Med Biol*. 2000;27:473–476.
- Costes N, Merlet I, Zimmer L, et al. Modeling [¹⁸F]MPPF PET kinetics for the determination of 5-HT_{1A} concentration with multi-injection. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002;22:753–763.
- Gunn RN, Lammertsma AA, Grasby PM. Quantitative analysis of [carbonyl-¹¹C]WAY-100635 PET studies. *Nucl Med Biol*. 2000;27:477–482.
- Parsey RV, Slifstein M, Hwang DR, et al. Validation and reproducibility of measurement of 5-HT_{1A} receptor parameters with [carbonyl-¹¹C]WAY-100635 in humans: comparison of arterial and reference tissue input functions. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000;20:1111–1133.
- Rabiner EA, Messa C, Sargent PA, et al. A database of [¹¹C]WAY-100635 binding to 5-HT_{1A} receptors in normal male volunteers: normative data and relationship to methodological, demographic, physiological, and behavioral variables. *Neuroimage*. 2002;15:620–632.
- Goldberg DP, Hillier VE. A scaled version of the general health questionnaire. *Psychol Med*. 1979;9:139–145.
- Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, et al. 5-HT_{1A} receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [¹⁸F]MPPF PET study. *Brain*. 2004;127:900–913.
- Merlet I, Ryvlin P, Costes N, et al. Statistical parametric mapping of 5-HT_{1A} receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage*. 2004;22:886–896.
- Gunn RN, Lammertsma AA, Hume SP, Cunningham VJ. Parametric imaging of ligand-receptor binding in PET using a simplified reference region model. *Neuroimage*. 1997;6:279–287.
- Poline JB, Worsley KJ, Evans AC, Friston KJ. Combining spatial extent and peak intensity to test for activations in functional imaging. *Neuroimage*. 1997;5:83–96.
- Meltzer CC, Drevets WC, Price JC, et al. Gender-specific aging effects on the serotonin 1A receptor. *Brain Res*. 2001;895:9–17.
- Parsey RV, Oquendo MA, Simpson NR, et al. Effects of sex, age, and aggressive traits in man on brain serotonin 5-HT_{1A} receptor binding potential measured by PET using [C-11]WAY-100635. *Brain Res*. 2002;954:173–182.
- Tauscher J, Verhoeff NP, Christensen BK, et al. Serotonin 5-HT_{1A} receptor binding potential declines with age as measured by [¹¹C]WAY-100635 and PET. *Neuropsychopharmacology*. 2001;24:522–530.
- Rousset OG, Ma Y, Evans AC. Correction for partial volume effects in PET: principle and validation. *J Nucl Med*. 1998;39:904–911.
- Oquendo MA, Ellis SP, Greenwald S, Malone KM, Weissman MM, Mann JJ. Ethnic and sex differences in suicide rates relative to major depression in the United States. *Am J Psychiatry*. 2001;158:1652–1658.
- Zimmer L, Mauger G, Le Bars D, Bonmarchand G, Luxen A, Pujol JF. Effect of endogenous serotonin on the binding of the 5-HT_{1A} PET ligand ¹⁸F-MPPF in the rat hippocampus: kinetic beta measurements combined with microdialysis. *J Neurochem*. 2002;80:278–286.
- Palego L, Marazziti D, Rossi A, et al. Apparent absence of aging and gender effects on serotonin 1A receptors in human neocortex and hippocampus. *Brain Res*. 1997;758:26–32.
- Dillon KA, Gross-Isseroff R, Israeli M, Biegon A. Autoradiographic analysis of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in the human brain postmortem: effects of age and alcohol. *Brain Res*. 1991;554:56–64.
- Lowther S, De Paermentier F, Cheetham SC, Crompton MR, Katona CL, Horton RW. 5-HT_{1A} receptor binding sites in post-mortem brain samples from depressed suicides and controls. *J Affect Disord*. 1997;42:199–207.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, et al. Brain serotonin 1A receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57:174–180.
- Matsubara S, Arora RC, Meltzer HY. Serotonergic measures in suicide brain: 5-HT_{1A} binding sites in frontal cortex of suicide victims. *J Neural Transm Gen Sect*. 1991;85:181–194.
- Gross-Isseroff R, Salama D, Israeli M, Biegon A. Autoradiographic analysis of age-dependent changes in serotonin 5-HT₂ receptors of the human brain post-mortem. *Brain Res*. 1990;519:223–227.

Résultats

Les données obtenues chez les hommes et chez les femmes présentaient des différences de fixation significatives indépendamment des variations liées à l'âge. Comparée aux hommes, la fixation du traceur chez les femmes était en moyenne supérieure dans les régions limbiques et insulaires de l'hémisphère droit. L'influence de l'âge était différente entre hommes et femmes : nous avons mis en évidence une corrélation négative entre âge et BP du [^{18}F]MPPF chez les femmes (-3,6% /an), mais pas chez les hommes. Cette corrélation impliquait l'ensemble des régions limbiques et para-limbiques. Enfin, chez les hommes âgés de 30 à 40 ans exclusivement, une décroissance significative du BP apparaissait dans la plupart des régions cérébrales.

Conclusion

Ces résultats confirment la nécessité d'employer une base de données tenant compte des différences interindividuelles liées à l'âge et au sexe. Cette étude a également permis de créer une base de données normative régionale, ainsi qu'un template anatomofonctionnel du [^{18}F]MPPF indispensable à la normalisation spatiale de futures données de sujets pour lesquels l'IRM anatomique ne serait pas disponible. En outre, elle valide l'utilisation du modèle simplifié SRTM, dont les valeurs quantitatives sont comparées aux valeurs analytiques calculées à partir des données de l'expérience multiinjection décrite dans le Chapitre II.

III.2 Reproductibilité, variabilité et robustesse

Contexte

Cette troisième étude en TEP a pour objectif d'évaluer de la fiabilité des mesures de disponibilité des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} chez le sujet sain dans les expériences test-retest³. Plusieurs études ont été réalisées ou sont en cours au CERMEP dans le cadre de protocoles cliniques ou physiologiques. Estimer la reproductibilité test-retest des mesures au MPPF en TEP est donc essentielle pour la validation de telles études.

Les sources de variabilité inhérentes à l'acquisition des images TEP peuvent être de deux ordres :

Variabilité de la mesure expérimentale

Elle est considérée en général comme aléatoire. Elle reflète l'imprécision de la mesure physique, rassemblant les sources d'erreur d'ordre technologique. On s'abstrait généralement de cette variabilité, d'une part en tentant de reproduire un bruit constant entre les examens (utilisation de la même caméra, des mêmes paramètres d'acquisition, de la même dose d'injection...), d'autre part en multipliant le nombre de mesures réalisées soit chez le même sujet lorsque les précautions en matière de dosimétrie le permettent, soit en effectuant la mesure chez un groupe de sujets représentatifs d'une population.

Variabilité physiologique

Elle peut refléter des différences inter ou intra-individuelles, dues à la variabilité d'une fonction biologique au cours du temps dans le même organisme ou entre différentes personnes. L'étude menée au CERMEP sur une large base de données de témoins révèle d'importantes variations dans la mesure quantifiée de la disponibilité des récepteurs 5-HT_{1A}, y compris au sein de groupes homogènes en termes d'âge ou de sexe. Dans l'idéal, la variabilité intra-individuelle pourrait être testée en reproduisant l'examen TEP un grand nombre de fois chez le même sujet, mais cela n'est pas envisageable pour des raisons évidentes de dosimétrie. Dans cette étude, nous avons choisi d'effectuer l'examen à deux reprises chez le même sujet, à six mois d'intervalle sur une population de dix sujets.

La réalisation d'une étude test-retest permet de qualifier la qualité de la reproductibilité en terme de biais et de corrélation intra-classe, mais surtout d'estimer *l'erreur typique* qui inclut les sources d'erreurs biologique et physique. La connaissance de cette erreur typique permet d'estimer l'intervalle de confiance autour d'une valeur normative et de calibrer par un calcul de puissance statistique la taille des groupes à

³ Costes N, Zimmer L, Reilhac A, Lavenne F, Ryvlin P, Le Bars D. (2007): Test-retest reproducibility of [18F]MPPF PET in Healthy Humans : a reliability study. *Journal of Nuclear Medicine* 48(8)1279-88.

sélectionner pour tester une hypothèse de différence de réponse entre échantillons.

Méthodes

Dix sujets volontaires sains (5 femmes, 5 hommes) de 20 à 40 ans ont été inclus dans cette étude TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$. Deux acquisitions mono-injection ont été pratiquées chez chacun dans un délais de 6 mois environ (27 ± 2 semaines). Comme contrôle de la variabilité technologique et interindividuelle (mais en l'absence de variabilité intra-individuelle), nous avons réalisé une série de 20 simulations reproduisant l'acquisition réaliste TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ de 10 sujets présentant une différence anatomique et fonctionnelle a été réalisée en test-retest (cf. chapitre IV). Les indices de fixation du traceur ont été évalués par deux modèles : le modèle SRTM permettant de calculer BP, R_1 et k_2 et le modèle graphique de Logan donnant DVR, toutes deux avec le cervelet comme région de référence. Pour les deux méthodes, et pour les données réelles et simulées, les indices ont été calculés à partir des courbes d'activité temporelles extraites de 19 régions d'intérêts d'un atlas standard, d'une part, et pour chaque voxel, formant ainsi une image paramétrique, d'autre part. Les indicateurs de fiabilité du test-retest évalués ont été : le biais, la variabilité et le coefficient de corrélation intra-classe (ICC).

Test–Retest Reproducibility of ^{18}F -MPPF PET in Healthy Humans: A Reliability Study

Nicolas Costes^{1,2}, L. Zimmer^{1,3,4}, Anthonin Reilhac¹, Franck Lavenne¹, B. Eng, Philippe Ryvlin^{2,3}, and Didier Le Bars¹

¹Imagerie du vivant, PET Department, CERMEP, Lyon, France; ²U821 INSERM, University of Lyon 1, Lyon, France; ³IFNL, Federative Institute of Neuroscience, Lyon, France; and ⁴FRE CNRS 3006, University of Lyon 1, Lyon, France

The aim of this study was to assess the reliability of 2'-methoxyphenyl-(*N*-2'-pyridinyl)-*p*- ^{18}F -fluoro-benzamidoethylpiperazine (^{18}F -MPPF) PET binding parameter's quantification via a test–retest study over a long-term period. **Methods:** Ten healthy volunteers underwent 2 dynamic ^{18}F -MPPF PET scans in an interval of 6 mo. As a methodologic control, 10 simulated datasets, including interindividual functional and anatomic variabilities, were also used to assess the measurement variations in the absence of intraindividual variability. Indices of tracer binding were computed using 2 different models: (a) the simplified reference tissue model (SRTM) and (b) the Logan graphical model. The SRTM allows computing the binding potential (BP) index and plasma-to-brain transport constants (R_1 , k_2). The Logan model evaluates the distribution volume (DV). For both methods, cerebellum was taken as the reference region. From both models, binding indices were calculated with time–activity curves extracted from regions of interest, on one hand, and for each voxel to perform parametric images on the other hand. **Results:** Reliability indices—that is, bias, variability, and intraclass correlation (ICC)—indicated a good reproducibility: the BP percentage change in mean between test and retest is close to 1% in rich regions and 2% in poor regions. The typical error is around 7%. Mean ICC is over 0.70. The DV percentage change in the mean is $\pm 2.5\%$, with a typical error close to 6% and an ICC over 0.60. **Conclusion:** Our results show a good reliability, with a reasonable level of intraindividual biologic variability that allows crossover studies with ^{18}F -MPPF in which small percentage changes are expected between test and retest measurements, in group studies and for single subject assessment.

Key Words: PET; serotonin 5-HT_{1A} receptors; test–retest study; reliability; ^{18}F -MPPF

J Nucl Med 2007; 48:1–10

DOI: 10.2967/jnumed.107.041905

Serotonin (5-HT) mediates a large variety of physiologic responses (development, pain, sleep, mood, eating, memory and attention), behaviors (stress, aggression, panic, sexual behavior), or neuropsychiatric problems (depression, sleep disturbance, eating disorders, anxiety, suicidal behavior,

schizophrenia, obsessive–compulsive disorder) through one of the widest range of receptors known for any neurotransmitter (1). 5-HT_{1A}, the best-characterized subtype of currently known 5-HT receptors, is tightly involved in the pathogenesis of the previous problems and, thus, represents an important target for drug therapy (2). Recently, the selective 5-HT_{1A} receptor antagonist 2'-methoxyphenyl-(*N*-2'-pyridinyl)-*p*- ^{18}F -fluoro-benzamidoethylpiperazine (^{18}F -MPPF) has been successfully labeled with ^{18}F -fluorine, and an increasing number of PET studies with ^{18}F -MPPF have been performed (3). The in vivo exploration of the 5-HT_{1A} receptor subtype of the 5-HT neurotransmission system with the ^{18}F -MPPF PET radiotracer has revealed significant modulations of tracer binding due to pathologic (4–6) or pharmacologic actions in humans (7), and in animals (8,9).

The ^{18}F -MPPF radiotracer has been characterized in humans in terms of selectivity (10). In addition, the modeling, studied using a 3-compartmental model, confirmed that binding potential (BP) values were linearly correlated with the maximum number of binding sites (B_{max}) and, therefore, could be considered as a reliable index of local 5-HT_{1A} receptor concentrations (11). Characterization in the healthy population has been evaluated for age and sex (12). However, reproducibility and control of variability of the measurement have not been assessed yet for this radiotracer, contrary to other serotonergic radiotracers (13–16). In several ^{18}F -MPPF studies, ^{18}F -MPPF binding was measured at consecutive sessions and compared within each subject. In this way, issues associated with variations between subjects due to individual differences (intersubject variability) can be limited. However, resting physiology may vary within an individual patient (intrasubject variability) and limits the ability to detect significant changes between baseline and “postintervention” conditions. Moreover, bias and noise introduced by the data acquisition, the reconstruction, and the correction processes, and also the simplified model used for binding parameter estimation (for the 5-HT_{1A} radiotracer ^{11}C -WAY-100635 (14,15)), must be accounted for.

Therefore, without the estimation of the test–retest reproducibility; it is difficult to accurately determine the clinical significance of pharmacologic or pathophysiologic changes of the 5-HT_{1A} receptor status. In this context,

Received Mar. 20, 2007; revision accepted May 15, 2007.
For correspondence or reprints contact: Nicolas Costes, MSc, CERMEP, 59 boulevard Pinel, 69677 BRON Cedex, France.
E-mail: costes@cermep.fr
COPYRIGHT © 2007 by the Society of Nuclear Medicine, Inc.

reliability studies are crucial when one wants to account for the error term in measurements. Because the test–retest reliability study has never been performed for ^{18}F -MPPF, to our knowledge, the objective of our work was to perform a reliability study to evaluate reproducibility and measurement error of ^{18}F -MPPF PET binding measures over a 6-mo period.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Ten healthy volunteers (5 females, 5 males; mean age $\pm$ SD, 30 ± 5 y; age range, 23–38 y) were selected to participate in the study. Subjects gave their written consent to participate in the study, which was approved by the local ethical committee (Centre Léon Bérard, Lyon, France) in accordance with the Declaration of Helsinki. According to a screening assessment of history and physical examination, all subjects were free of neurologic, psychiatric, cardiovascular, pleuropulmonary, or hematologic disease and did not meet any exclusion criteria: (a) neuroleptic, antiparkinsonian α -methyl-dopa, β -blocker, monoamine oxidase A or B inhibitor, tricyclic antidepressant, or thymoregulator treatment; (b) pregnancy; (c) hormone replacement therapy; (d) consumption of recreational drugs (cannabis, ecstasy); (e) contraindication to MRI; (f) MRI detection of brain lesion. Before the PET scan, subjects were evaluated for depression using the General Health Questionnaire (GHQ-28) of Goldberg and Hillier (17). No subject with a score above the threshold for depression (7) was included in the study. Scores ranged between 0 and 2 (mean $\pm$ SD, 0.3 ± 0.7). No significant difference in the GHQ was found between both scans (Table 1).

MRI

A 3-dimensional multiplanar reconstruction anatomic MRI scan was performed on each subject, yielding a volume containing 130–170 transverse planes of $256 \times 256 \times 1$ mm³ voxels.

PET Scan with ^{18}F -MPPF

Tracer Synthesis. The ^{18}F -MPPF was obtained by nucleophilic fluorination on a nitro precursor with a radiochemical yield of 20%–25% at the end of synthesis and a specific activity of 37–111 GBq/ μmol (18,19).

Scanning Procedure. Subjects underwent 2 ^{18}F -MPPF PET scans (test and retest) separated by a 6-mo period (mean $\pm$ SD,

27 ± 2 wk), randomly distributed along the year. Each PET session began at 1 p.m. The PET scan acquisition, correction, and reconstruction procedures followed those described in (12). PET scans were obtained with a CTI Exact HR+ camera for 60 min after the injection of 2.7 MBq/kg (mean total dose $\pm$ SD, 169 ± 30 MBq) of ^{18}F -MPPF. There was no significant difference ($P = 0.93$) in the paired t test between the injected dose of the test and retest scans.

Simulated Data. Following the methodology for the simulation of realistic PET described in (20), we performed a joint simulation of a test–retest study. Ten individual different numeric brains associated with 10 different sets of regional time–activity curves were used to simulate 10 realizations of ^{18}F -MPPF PET dynamic acquisition. The simulations were repeated to obtain the retest simulated data. The input time–activity curves used for the test and retest simulated acquisition set were identical for each subject. Therefore, the only difference between the simulated test and retest datasets was due to the degradation induced by the physical acquisition processes. Thus, physical variability can be compared with the measured one estimated from the actual data that include all sources of variability.

Image Processing

Modeling. The binding parameters of the tracer were estimated according to the 3-compartment simplified reference tissue model (SRTM) (21) and with the Logan graphical method (22). The SRTM method lies on an analytic solution of the compartment model (Eq. 1) and allows estimating 3 indices— R_1 , k_2 , and BP —without requirement of an arterial sampling input function. The SRTM works under several assumptions: (a) the existence of a reference tissue region with negligible concentration of specific binding sites, (b) the magnitude of nonspecific binding is the same in the reference and in the target regions, (c) the distribution volumes (DVs) in the free and nonspecific compartments are the same in the reference and in the target regions, and (d) the exchanges between the free and unspecific binding compartments are rapid.

The analytic solution of the partial derivatives system is of the following form:

$$C_{roi}(t) = R_1 \cdot C_{ref}(t) + \left[k_2 - \frac{R_1 k_2}{1 + BP} \right] \cdot C_{ref}(t) \otimes e^{-\frac{k_2}{1+BP}t}, \quad \text{Eq. 1}$$

where C_{ref} and C_{roi} are the PET time–activity curves of the chosen reference region and the target region of interest (ROI), R_1 is the ratio of the plasma-to-brain transport constant in the target region and in the reference region ($R_1 = k_{1,roi}/k_{1,ref}$), k_2 is the tracer's efflux in the vascular system, and BP is the binding potential of the tracer, defined as the ratio of available receptor density to the receptor affinity ($BP = B_{max}/K_d$). For the ^{18}F -MPPF, the cerebellum was taken as the reference region as it is considered devoid of binding sites (11). The Logan model is based on the parametric plot involving the PET time–activity curve of the reference region and the target region. As for the SRTM, the cerebellum was taken as the reference region. The Logan model provides the DV of the target ROI, given by the slope of the linear regression after equilibrium.

Two approaches for binding index reliability analysis were used: The first is based on mean ROI activity curve measurements (ROI Analysis) and the second is based on a voxelwise computation leading to statistical parametric maps (Parametric Image Analysis).

TABLE 1
Demographic Data

Subject no.	Age (y)	Sex	Test dose (MBq)	Retest dose (MBq)	Delay (wk)
1	30	F	167	136	26
2	26	F	149	143	30
3	24	F	146	139	27
4	38	F	148	138	28
5	31	F	151	164	23
6	23	M	194	197	28
7	27	M	161	178	27
8	32	M	180	176	29
9	35	M	190	190	25
10	38	M	204	225	25
Mean $\pm$ SD	30 ± 5		169 ± 22	169 ± 30	27 ± 2

For reorientation and registration purposes, mean ^{18}F -MPPF static images were created by summing the individual dynamic frames from 0 to 60 min after injection. The MR image was coregistered with the static ^{18}F -MPPF image by an automated method using Mutual Information criteria (Statistical Parametric Mapping [SPM], Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, U.K.). On the coregistered MRI, a large ROI was outlined on the cerebellum and used as a unique reference region for the simplified models.

ROI Analysis. The anatomic target ROIs were drawn manually on the coregistered MRI. Four hundred ROIs were drawn and regrouped into anatomic volumes of interest (VOIs) to describe a group of regions from the limbic system, known to be rich in 5-HT_{1A} receptors—that is, left and right hippocampi, amygdala, entorhinal cortex, parahippocampal gyri, anterior and posterior cingulate gyri, insula, temporal poles, and temporal cortex—and a second group of other cortical regions: left and right temporal neocortex, lateral occipitotemporal gyrus, frontal gyrus, prefrontal cortex, inferior and superior parietal cortices, occipital cortex, pole and gyrus, cerebellum. As raphe nuclei cannot be identified on MRI, this region was outlined directly on the static ^{18}F -MPPF image by thresholding the activity at 80% of the local maximum in the brain stem. This region was visualized a posteriori on the MRI to check for its proper location in the periaqueductal gray matter. Time–activity curves were measured from the dynamic PET using the set of ROIs. The measured time–activity curves were used to derive regional values of R_1 , k_2 , and BP and Logan DV for each ROI.

Parametric Image Processing. From individual voxel time–activity curves, a parametric image of R_1 , k_2 , and BP was computed for the SRTM, and a parametric image of DV was computed for the Logan model. Individual parametric images were then transformed into a standard space using the nonlinear transformation matrix derived from the spatial normalization of the individual's MR image to the T1 MRI default template (MNI template of the International Consortium for Brain Mapping Project) with SPM. The visual inspection of the spatially registered images, particularly for subcortical structures, confirmed the accuracy of the spatial normalization. Normalized parametric images were smoothed using an $8 \times 8 \times 8$ mm full width at half maximum isotropic gaussian kernel to account for the interindividual anatomy variability and to improve the sensitivity of the statistical analysis.

Reproducibility Indices. Reliability of the R_1 , k_2 , and BP indices issued from the SRTM, and the DV index issued from Logan model, were assessed by computation of 3 characteristic parameters from the test–retest measurements:

- The percentage change in mean (bias): the percentage change calculated as the difference between test and retest values divided by the test value. This index includes random changes and systematic biologic error;
- The typical error or within-subject SD of the bias: We expressed the typical error as the percentage of the mean;
- The intraclass correlation coefficient (ICC) estimates the respect of the rank in a test–retest study: It depends on the size and the quality of the sample in the population. $\text{ICC} = (\text{MSBS} - \text{MSWS})/(\text{MSBS} + \text{MSWS})$, where MSBS is the mean sum of squares between subjects, and MSWS is the mean sum of squares within subjects.

Because these variables have residuals that may be proportional to their respective mean, their computation is performed from the logarithmic transform of the variables as suggested in (23).

Statistical Inference. For the ROI analysis, mean regional binding index values were considered as independent measures.

For the voxel-based analysis, SPM99 was used on the normalized smoothed parametric images of the 10 subjects. Statistical parametric maps of the t statistic ($\text{SPM}\{t\}$) were computed with a threshold of $P = 0.001$ uncorrected at the voxel level. Significant clusters were selected at a corrected cluster level of $P < 0.05$ determined from a joint probability of peak height and cluster size (“Family-Wise Error” (24)).

RESULTS

SRTM

Actual BP. As shown in Table 2 (top) test and retest, mean regional BP values range from 0.28 ± 0.08 in the raphe to 1.47 ± 0.16 in the hippocampus. The percentage changes between test and retest values ranges from -1.15% (anterior cingulum) to 4.80% (entorhinal cortex), with a mean typical error of 7.75% in the limbic area and 7.71% in other regions. The maximal typical error is in the raphe nucleus (14.97%) and the minimal error is in the parahippocampal gyrus (4.67%). The ICC goes from 0.50 (anterior cingulum) to 0.93 (inferior parietal cortex). Mean ICC values are 0.69 in the limbic area and 0.84 in other cortical regions. None of the regional BP differences was found to be statistically significant with a paired t test comparison.

Actual R_1 (Table 2, Middle). Reproducibility of the relative perfusion parameter (R_1) in the ROI is also excellent, with an average percentage changes of 1.63% in the limbic area (from -5.03% in the temporal pole to 5.21% in the hippocampus), and a mean typical error of 5.77% . The typical error of the R_1 parameter is generally inferior to the error of the BP parameter, going from 4.60% (raphe) to 7.86% (hippocampus). The average change is -3.43% in the other cortical regions, with a mean typical error of 5.98% . The ICC revealed very puzzling values, from -0.17 in the prefrontal cortex to 0.67 in the temporal cortex. The mean ICC is 0.37 in the limbic areas and 0.25 in the other cortical regions.

Actual k_2 (Table 2, Bottom). The k_2 values go from $0.11 \pm 0.01 \text{ min}^{-1}$ in the raphe, to $0.35 \pm 0.05 \text{ min}^{-1}$ in the occipital gyrus. The percentage changes in the mean between test and retest series go from -4.42% in the entorhinal cortex to $+2.25\%$ in the prefrontal cortex. In the limbic areas, the average percentage change in mean was -0.50% , very similar to that of the other regions (-0.51%). The mean typical error is 9.50% in the limbic regions and 10.53% in the other cortical regions. The mean ICC value is 0.40 , with a large range from -0.03 in the anterior cingulate cortex to 0.77 in the parahippocampal gyrus. In other regions, the mean ICC value is 0.31 , with a range from 0.15 in the occipital cortex to 0.42 in the occipital gyrus.

Simulated Data. Simulated data have an excellent ICC (>0.95), a mean percentage change in BP values around

TABLE 2
Test-Retest Characteristics of BP, Delivery in ROI Relative to Cerebellum (R_1), and Tracer Efflux Constant from Tissue to Plasma (k_2) Computed with SRTM with Actual ^{18}F -MPPF Data of 10 Subjects

Actual SRTM BP Region	Test (mean $\pm$ SD)	Retest (mean $\pm$ SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired <i>t</i> test <i>P</i>
Hippocampus	1.43 $\pm$ 0.17	1.47 $\pm$ 0.16	2.48	7.30	0.57	0.426
Amygdala	1.16 $\pm$ 0.15	1.21 $\pm$ 0.16	4.04	8.68	0.57	0.270
Entorhinal cortex	1.25 $\pm$ 0.19	1.30 $\pm$ 0.16	4.80	7.43	0.73	0.188
Parahippocampal gyrus	0.90 $\pm$ 0.11	0.91 $\pm$ 0.10	1.67	4.67	0.84	0.474
Anterior cingulum	0.75 $\pm$ 0.09	0.74 $\pm$ 0.09	1.15	9.08	0.50	0.771
Posterior cingulum	0.65 $\pm$ 0.07	0.65 $\pm$ 0.07	-0.47	6.12	0.67	0.876
Insula	0.96 $\pm$ 0.10	0.97 $\pm$ 0.11	-0.68	6.86	0.67	0.818
Temporal pole	0.91 $\pm$ 0.14	0.91 $\pm$ 0.12	-0.46	7.10	0.77	0.994
Temporal cortex	0.90 $\pm$ 0.11	0.90 $\pm$ 0.11	-0.02	5.32	0.81	0.986
Raphe	0.28 $\pm$ 0.08	0.28 $\pm$ 0.09	-0.50	14.97	0.78	0.944
Mean limbic area	0.92 $\pm$ 0.12	0.93 $\pm$ 0.12	0.97	7.75	0.69	
Temporal neocortex	0.85 $\pm$ 0.10	0.84 $\pm$ 0.11	1.54	5.43	0.80	0.565
Lateral occipitotemporal gyrus	0.80 $\pm$ 0.13	0.77 $\pm$ 0.09	3.90	6.47	0.79	0.155
Frontal gyrus	0.61 $\pm$ 0.11	0.60 $\pm$ 0.11	1.85	7.36	0.83	0.564
Prefrontal cortex	0.53 $\pm$ 0.09	0.52 $\pm$ 0.11	1.68	7.14	0.84	0.703
Inferior parietal cortex	0.61 $\pm$ 0.13	0.59 $\pm$ 0.11	2.65	5.47	0.93	0.179
Superior parietal cortex	0.57 $\pm$ 0.10	0.55 $\pm$ 0.08	2.09	7.80	0.78	0.451
Occipital cortex	0.61 $\pm$ 0.12	0.60 $\pm$ 0.11	1.94	6.31	0.88	0.485
Occipital pole	0.40 $\pm$ 0.15	0.39 $\pm$ 0.16	1.56	14.30	0.87	0.900
Occipital gyrus	0.55 $\pm$ 0.11	0.53 $\pm$ 0.11	2.20	9.11	0.82	0.548
Mean other area	0.61 $\pm$ 0.12	0.60 $\pm$ 0.11	2.16	7.71	0.84	
Actual SRTM R_1 Region	Test (mean $\pm$ SD)	Retest (mean $\pm$ SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired <i>t</i> test <i>P</i>
Hippocampus	0.79 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.09	5.21	7.86	0.13	0.175
Amygdala	0.73 $\pm$ 0.04	0.75 $\pm$ 0.06	3.00	6.36	0.23	0.309
Entorhinal cortex	0.76 $\pm$ 0.05	0.80 $\pm$ 0.06	4.18	4.96	0.35	0.090
Parahippocampal gyrus	0.82 $\pm$ 0.06	0.86 $\pm$ 0.09	4.87	5.96	0.54	0.097
Anterior cingulum	0.92 $\pm$ 0.07	0.96 $\pm$ 0.07	4.35	6.88	0.24	0.204
Posterior cingulum	0.94 $\pm$ 0.06	0.96 $\pm$ 0.07	2.83	4.87	0.53	0.228
Insula	0.97 $\pm$ 0.04	1.00 $\pm$ 0.09	-2.59	5.31	0.36	0.274
Temporal pole	0.73 $\pm$ 0.07	0.77 $\pm$ 0.07	-5.03	5.52	0.67	0.063
Temporal cortex	0.80 $\pm$ 0.07	0.83 $\pm$ 0.07	-3.74	5.42	0.59	0.161
Raphe	0.31 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.02	3.19	4.60	0.03	0.153
Mean limbic area	0.78 $\pm$ 0.05	0.81 $\pm$ 0.07	1.63	5.77	0.37	
Temporal neocortex	0.91 $\pm$ 0.06	0.93 $\pm$ 0.07	-2.07	5.03	0.48	0.377
Lateral occipitotemporal gyrus	0.91 $\pm$ 0.06	0.95 $\pm$ 0.08	-3.63	5.80	0.45	0.176
Frontal gyrus	0.91 $\pm$ 0.05	0.93 $\pm$ 0.05	-2.65	5.73	0.05	0.324
Prefrontal cortex	0.91 $\pm$ 0.05	0.93 $\pm$ 0.05	-2.75	6.19	-0.17	0.327
Inferior parietal cortex	0.91 $\pm$ 0.04	0.94 $\pm$ 0.07	-2.83	6.34	-0.01	0.321
Superior parietal cortex	0.95 $\pm$ 0.04	0.97 $\pm$ 0.06	-2.54	5.56	-0.02	0.307
Occipital cortex	0.86 $\pm$ 0.08	0.90 $\pm$ 0.07	-4.66	6.35	0.46	0.126
Occipital pole	0.79 $\pm$ 0.08	0.83 $\pm$ 0.09	-4.74	7.24	0.51	0.163
Occipital gyrus	1.02 $\pm$ 0.07	1.08 $\pm$ 0.10	-5.00	5.55	0.52	0.064
Mean other area	0.91 $\pm$ 0.06	0.94 $\pm$ 0.07	-3.43	5.98	0.25	
Actual SRTM k_2 Region	Test (mean $\pm$ SD)	Retest (mean $\pm$ SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired <i>t</i> test <i>P</i>
Hippocampus	0.25 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.02	-2.83	9.66	0.45	0.417
Amygdala	0.25 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.02	-1.26	11.58	0.21	0.648
Entorhinal cortex	0.23 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.02	-4.42	9.64	0.37	0.250
Parahippocampal gyrus	0.27 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.04	1.69	7.25	0.77	0.707
Anterior cingulum	0.32 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.03	-2.88	13.36	-0.03	0.574
Posterior cingulum	0.30 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.04	0.24	8.69	0.47	0.929
Insula	0.29 $\pm$ 0.04	0.28 $\pm$ 0.03	1.22	9.48	0.46	0.713
Temporal pole	0.24 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.02	0.14	7.67	0.55	0.923
Temporal cortex	0.27 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.03	1.21	10.00	0.35	0.763
Raphe	0.11 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01	1.90	7.66	0.41	0.573
Mean limbic area	0.25 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.03	-0.50	9.50	0.40	

TABLE 2
(Continued)

Actual SRTM k ₂ Region	Test (mean ± SD)	Retest (mean ± SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired <i>t</i> test <i>P</i>
Temporal neocortex	0.27 ± 0.04	0.27 ± 0.03	0.64	10.09	0.40	0.832
Lateral occipitotemporal gyrus	0.31 ± 0.04	0.32 ± 0.03	−3.81	9.05	0.36	0.387
Frontal gyrus	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.03	−0.02	8.77	0.23	0.977
Prefrontal cortex	0.29 ± 0.03	0.29 ± 0.03	−0.35	9.65	0.33	0.939
Inferior parietal cortex	0.30 ± 0.04	0.29 ± 0.04	2.25	12.18	0.20	0.699
Superior parietal cortex	0.32 ± 0.04	0.32 ± 0.04	0.01	10.43	0.35	0.991
Occipital cortex	0.29 ± 0.04	0.29 ± 0.03	−0.09	11.66	0.15	0.988
Occipital pole	0.27 ± 0.04	0.27 ± 0.05	1.14	13.34	0.32	0.907
Occipital gyrus	0.34 ± 0.04	0.35 ± 0.05	−4.39	9.58	0.42	0.282
Mean other area	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04	−0.51	10.53	0.31	

−1%, with a mean typical error of 2.5% (Table 3, top). The R₁ parameter shows a percentage change in the mean around zero and a typical error of 1.79% in the limbic areas and 0.85% in the other regions (Table 3, middle). The k₂ of simulated data has a percentage change in the mean of <1% and a typical error of <3% (Table 3, bottom).

Logan Model

The DV in the ROI of test and retest series goes from 0.56 ± 0.07 in the raphe nucleus to 2.45 ± 0.24 in the hippocampus (Table 4). No difference was found between test and retest paired *t* test comparisons. The mean percentage change by region goes from −4.37% in the occipital pole to +8.05% in the amygdala, with a range of typical error from 3.45% in the anterior cingulate cortex to >12.85% in the amygdala. The mean typical error is at 6.48% in the limbic area and 5.65% in the other cortical regions. ICC values range from 0.42 in the amygdala to 0.88 in the posterior cingulate gyrus, with a mean value of 0.66 in the limbic area and 0.74 in the other regions.

SPM

SPM results did not show any significant difference between test and retest scan series, in terms of variance and the mean difference with a paired *t* test model.

DISCUSSION

This test–retest reliability study of ¹⁸F-MPPF binding was designed to support interpretation of clinical studies implying a long delay between the first PET scan and the second. The obtained pairs of ¹⁸F-MPPF PET images were apparently identical by visual inspection, as exemplified in Figure 1. This similarity includes experimental conditions, such as reproducibility of head positioning, and injected radioactivity. Nineteen regions were studied and their binding index was calculated. This reliability of PET ¹⁸F-MPPF binding index, assessed by a long-term test–retest acquisition procedure, has shown high reproducibility. This reliability study gives the precision of the measurement and the ability to test differences between measurements with PET ¹⁸F-MPPF.

Methodologic Considerations

Bias and Typical Error. The mean percentage changes for the BP are inferior in the limbic areas (<1%) to that in the other cortical regions (>2%); however, the typical errors are similar (around 7%). The simulated data predicted a mean percentage change of around 1%, with a typical error of 2%. Thus, we can conclude in favor of a better stability of the test–retest measurement close to the ideal—with a biologic uncertainty equivalent in regions rich and poor in 5-HT_{1A} receptors—larger than the simple measurement error due to the PET image formation process. The R₁ parameter has a variability around ±5% in rich regions, which systematically increases (values from 2% to 5%) in poor regions. For the 2 classes of regions, the typical error is close to 6%. The simulation study indicates that the reproducibility should be near zero and the typical error should be between 1% and 2%. Because R₁ is related to cerebral blood flow, we can emit the hypothesis that the regional cerebral blood flow was greater during the retest scan than during the first scan. Because this finding is not observable in the BP results, we can state that modeled parameters are effectively identified independently. Finally, the k₂ parameter has a very good stability (1% in the mean) for a typical error of measurement close to 10%, whereas simulation predicted a 3% typical error in the absence of intraindividual variability. In conclusion with the SRTM, the R₁ is the estimated parameter that presents the lowest measurement error (5%), followed by the BP (7%) and by the k₂ (10%). The Logan model shows a reliability result similar to the BP reliability. Precisely, DV has a higher variability but a lower typical error than the BP.

Variability. The ICC is a measure of the correlation between the values obtained with 2 methods within the same subject (25). It is used as an index of reliability of the test–retest measurements and combines information of the systemic difference between methods (test and retest) and of the measurement variations. In a PET study on ¹¹C-WAY 100635, ICC values above 0.50 and 0.75 were considered as acceptable and excellent, respectively (16). In our study, the ICC values of BP and DV were poor (<0.5) to excellent (>0.75). On average, the ICC is slightly inferior in the

TABLE 3
Test-Retest Characteristics of BP, Delivery in ROI Relative to Cerebellum (R_1), and Tracer Efflux Constant from Tissue to Plasma (k_2) Computed with SRTM with Simulated ^{18}F -MPPF Data of 10 Subjects

Simulated SRTM BP Region	Test (mean $\pm$ SD)	Retest (mean $\pm$ SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired t test P
Hippocampus	0.86 $\pm$ 0.15	0.87 $\pm$ 0.14	-1.21	1.99	0.99	0.189
Amygdala	0.71 $\pm$ 0.16	0.73 $\pm$ 0.15	-2.90	3.52	0.97	0.135
Entorhinal cortex	0.63 $\pm$ 0.15	0.63 $\pm$ 0.15	-0.26	2.34	0.99	0.938
Parhippocampal gyrus	0.53 $\pm$ 0.13	0.54 $\pm$ 0.13	-1.51	1.79	1.00	0.108
Anterior cingulum	0.48 $\pm$ 0.13	0.49 $\pm$ 0.13	0.22	3.21	0.99	0.690
Posterior cingulum	0.45 $\pm$ 0.15	0.45 $\pm$ 0.14	-1.00	1.83	1.00	0.396
Insula	0.68 $\pm$ 0.17	0.69 $\pm$ 0.17	-1.30	1.11	1.00	0.043
Temporal pole	0.49 $\pm$ 0.15	0.50 $\pm$ 0.15	-0.42	1.99	1.00	0.898
Temporal cortex	0.57 $\pm$ 0.15	0.57 $\pm$ 0.15	-0.32	1.24	1.00	0.759
Raphe	0.09 $\pm$ 0.04	0.09 $\pm$ 0.04	-1.37	1.98	1.00	0.415
Mean limbic area	0.55 $\pm$ 0.14	0.55 $\pm$ 0.13	-1.05	2.10	0.99	
Temporal neocortex	0.57 $\pm$ 0.14	0.57 $\pm$ 0.13	0.06	1.13	1.00	0.810
Lateral occipitotemporal gyrus	0.53 $\pm$ 0.16	0.53 $\pm$ 0.15	-0.81	1.61	1.00	0.492
Frontal gyrus	0.30 $\pm$ 0.11	0.30 $\pm$ 0.11	-1.32	2.28	1.00	0.360
Prefrontal cortex	0.24 $\pm$ 0.13	0.24 $\pm$ 0.12	-3.12	6.26	0.99	0.542
Inferior parietal cortex	0.47 $\pm$ 0.14	0.46 $\pm$ 0.14	0.20	1.02	1.00	0.449
Superior parietal cortex	0.36 $\pm$ 0.15	0.36 $\pm$ 0.14	-0.97	2.80	1.00	0.798
Occipital cortex	0.44 $\pm$ 0.11	0.44 $\pm$ 0.10	-0.32	2.81	0.99	0.932
Occipital pole	0.24 $\pm$ 0.10	0.25 $\pm$ 0.09	-2.65	3.17	1.00	0.179
Occipital gyrus	0.42 $\pm$ 0.12	0.42 $\pm$ 0.12	-0.57	1.49	1.00	0.595
Mean other area	0.40 $\pm$ 0.13	0.40 $\pm$ 0.12	-1.06	2.51	1.00	
Simulated SRTM R Region ₁	Test (mean $\pm$ SD)	Retest (mean $\pm$ SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired t test P
Hippocampus	0.80 $\pm$ 0.07	0.80 $\pm$ 0.07	-0.37	2.17	0.95	0.716
Amygdala	0.73 $\pm$ 0.06	0.73 $\pm$ 0.07	-0.51	3.90	0.83	0.833
Entorhinal cortex	0.70 $\pm$ 0.07	0.68 $\pm$ 0.08	-2.58	1.93	0.97	0.022
Parhippocampal gyrus	0.75 $\pm$ 0.08	0.75 $\pm$ 0.09	-0.17	2.00	0.97	0.993
Anterior cingulum	0.80 $\pm$ 0.12	0.80 $\pm$ 0.12	-0.13	2.58	0.97	0.922
Posterior cingulum	0.72 $\pm$ 0.13	0.72 $\pm$ 0.13	0.07	1.12	1.00	0.755
Insula	0.84 $\pm$ 0.10	0.85 $\pm$ 0.11	-0.78	1.44	0.99	0.179
Temporal pole	0.63 $\pm$ 0.08	0.63 $\pm$ 0.08	-0.11	1.58	0.99	0.802
Temporal cortex	0.75 $\pm$ 0.09	0.75 $\pm$ 0.10	0.16	0.60	1.00	0.730
Raphe	0.26 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.03	-0.10	0.55	1.00	0.860
Mean limbic area	0.70 $\pm$ 0.08	0.70 $\pm$ 0.09	-0.45	1.79	0.97	
Temporal neocortex	0.74 $\pm$ 0.09	0.74 $\pm$ 0.10	0.22	0.75	1.00	0.605
Lateral occipitotemporal gyrus	0.92 $\pm$ 0.11	0.92 $\pm$ 0.11	-0.13	0.61	1.00	0.514
Frontal gyrus	0.83 $\pm$ 0.11	0.83 $\pm$ 0.11	0.18	0.54	1.00	0.581
Prefrontal cortex	0.64 $\pm$ 0.10	0.64 $\pm$ 0.10	-0.24	0.77	1.00	0.446
Inferior parietal cortex	0.74 $\pm$ 0.11	0.74 $\pm$ 0.12	0.33	1.11	0.99	0.518
Superior parietal cortex	0.87 $\pm$ 0.13	0.87 $\pm$ 0.13	0.32	0.57	1.00	0.268
Occipital cortex	0.75 $\pm$ 0.10	0.74 $\pm$ 0.10	1.00	1.38	0.99	0.161
Occipital pole	0.86 $\pm$ 0.13	0.86 $\pm$ 0.13	-0.14	1.30	0.99	0.921
Occipital gyrus	1.07 $\pm$ 0.15	1.07 $\pm$ 0.15	0.09	0.56	1.00	0.878
Mean other area	0.82 $\pm$ 0.11	0.82 $\pm$ 0.09	0.18	0.85	1.00	
Simulated SRTM k_2 Region	Test (mean $\pm$ SD)	Retest (mean $\pm$ SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired t test P
Hippocampus	0.21 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.04	-0.06	3.33	0.97	0.761
Amygdala	0.20 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.04	1.95	5.47	0.94	0.352
Entorhinal cortex	0.18 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.04	2.15	3.02	0.98	0.106
Parhippocampal gyrus	0.19 $\pm$ 0.04	0.18 $\pm$ 0.04	-0.95	2.55	0.99	0.289
Anterior cingulum	0.25 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.04	-3.06	5.38	0.90	0.199
Posterior cingulum	0.26 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.05	-0.53	1.66	0.99	0.493
Insula	0.29 $\pm$ 0.06	0.29 $\pm$ 0.06	0.84	1.77	0.99	0.290
Temporal pole	0.14 $\pm$ 0.03	0.14 $\pm$ 0.03	0.36	2.66	0.99	0.791
Temporal cortex	0.18 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.04	0.46	1.18	1.00	0.479
Raphe	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.20	1.17	0.99	0.668

TABLE 3
(Continued)

Simulated SRTM k ₂ Region	Test (mean ± SD)	Retest (mean ± SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired <i>t</i> test <i>P</i>
Mean limbic area	0.19 ± 0.04	0.19 ± 0.04	0.14	2.82	0.97	
Temporal neocortex	0.25 ± 0.05	0.25 ± 0.05	0.46	1.09	1.00	0.311
Lateral occipitotemporal gyrus	0.18 ± 0.04	0.18 ± 0.04	1.45	2.48	0.99	0.224
Frontal gyrus	0.16 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.26	1.48	0.99	0.697
Prefrontal cortex	0.20 ± 0.04	0.20 ± 0.04	0.30	1.40	1.00	0.490
Inferior parietal cortex	0.26 ± 0.05	0.26 ± 0.05	0.07	1.84	0.99	0.985
Superior parietal cortex	0.18 ± 0.05	0.18 ± 0.04	0.49	2.10	0.99	0.690
Occipital cortex	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.04	-0.89	2.59	0.98	0.471
Occipital pole	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02	-1.97	5.49	0.94	0.551
Occipital gyrus	0.13 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.35	3.73	0.96	0.711
Mean other area	0.19 ± 0.04	0.19 ± 0.04	0.06	2.47	0.98	

limbic area than in the other cortical regions. Because this parameter is representative of the individual stability between test and retest scans, it appeared that it was more variable in regions with high 5-HT_{1A} receptor densities than in poor regions. The SDs of the value in test-retest are similar in the limbic area and in the other regions (0.12 for the BP), so the difference in the ICC is due to a higher intrasubject variability in rich regions than in poor regions.

This phenomenon must be considered when individual test-retest results are examined, but it does not affect the reproducibility of a group comparison according to Parsey et al. (2000) and Hirvonen et al. (2006) with ¹¹C-WAY 100635. Many studies reported moderate ICC values: ICC values are higher with the SRTM than with graphical or

nonlinear fitting techniques with peripheral arterial blood function (14-16,26,27).

Physiologic Considerations

The 5-HT_{1A} receptors are implicated in a range of behaviors and in many neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. It explains why an increasing number of academic and industrial centers use the selective 5-HT_{1A} receptor antagonist, ¹⁸F-MPPF, as the radiotracer in PET clinical studies (3). It must be noted that several ¹⁸F-MPPF PET studies have been designed either as a group's comparison or as repeated measures in the same individuals. Repeated measures in the same individuals are performed (a) when addressing drug effects in occupancy studies, (b) when

TABLE 4
Test-Retest Characteristics of Tracer DV Computed with Logan Model with Actual ¹⁸F-MPPF Data of 10 Subjects

Actual Logan DV Region	Test (mean ± SD)	Retest (mean ± SD)	Change in mean (%)	Typical error as CV (%)	ICC	Paired <i>t</i> test <i>P</i>
Hippocampus	2.38 ± 0.23	2.45 ± 0.24	3.01	7.11	0.44	0.344
Amygdala	2.02 ± 0.32	2.17 ± 0.30	8.05	12.85	0.42	0.143
Entorhinal cortex	2.10 ± 0.24	2.23 ± 0.22	6.35	6.53	0.67	0.052
Parahippocampal gyrus	1.78 ± 0.14	1.84 ± 0.16	3.55	5.00	0.60	0.143
Anterior cingulum	1.68 ± 0.22	1.77 ± 0.20	5.12	6.68	0.72	0.119
Posterior cingulum	1.58 ± 0.17	1.61 ± 0.16	1.72	3.45	0.88	0.312
Insula	1.97 ± 0.16	2.04 ± 0.18	-3.38	5.04	0.66	0.147
Temporal pole	1.71 ± 0.14	1.77 ± 0.14	-3.42	4.20	0.75	0.103
Temporal cortex	1.79 ± 0.21	1.85 ± 0.18	-3.25	4.69	0.80	0.162
Raphe	0.56 ± 0.07	0.59 ± 0.10	5.71	9.33	0.63	0.193
Mean limbic area	1.76 ± 0.19	1.83 ± 0.19	2.34	6.48	0.66	
Temporal neocortex	1.81 ± 0.18	1.86 ± 0.17	-2.59	4.97	0.71	0.273
Lateral occipitotemporal gyrus	1.68 ± 0.16	1.69 ± 0.13	-0.45	6.12	0.47	0.905
Frontal gyrus	1.54 ± 0.19	1.60 ± 0.17	-3.64	5.26	0.80	0.143
Prefrontal cortex	1.48 ± 0.19	1.52 ± 0.16	-3.19	5.03	0.82	0.193
Inferior parietal cortex	1.58 ± 0.18	1.62 ± 0.15	-2.47	4.75	0.78	0.296
Superior parietal cortex	1.55 ± 0.17	1.58 ± 0.13	-2.07	4.24	0.78	0.333
Occipital cortex	1.55 ± 0.19	1.60 ± 0.17	-3.52	4.78	0.83	0.147
Occipital pole	1.12 ± 0.19	1.19 ± 0.27	-4.37	10.47	0.79	0.255
Occipital gyrus	1.49 ± 0.13	1.53 ± 0.16	-1.94	5.27	0.71	0.399
Mean other area	1.53 ± 0.17	1.58 ± 0.17	-2.69	5.65	0.74	

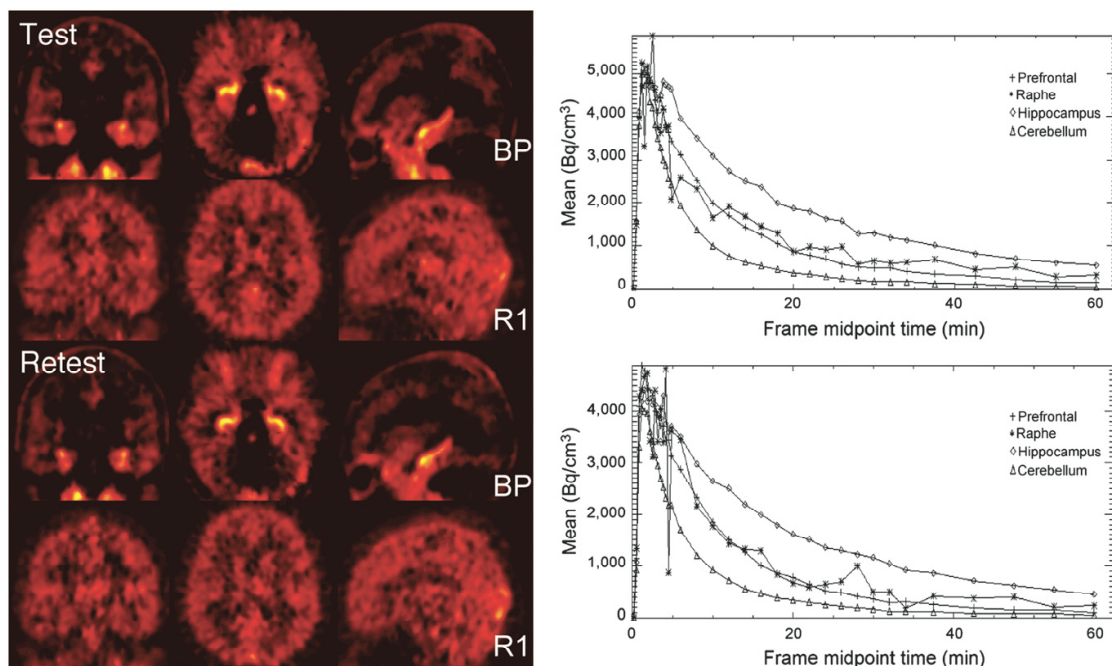


FIGURE 1. (Left) Example of an individual SRTM parametric BP (binding potential) and R_1 (delivery in region of interest relative to cerebellum) images in test and in retest conditions. (Right) Example of time-activity curves of 1 subject after injection of 148 MBq (test) and 138 MBq (retest) of ^{18}F -MPPF. For clarity, only 4 of the 19 regions are included (hippocampus, raphe, prefrontal cortex, and reference cerebellum).

after a disease condition over time, and (c) when measuring variability in receptor densities. The time interval between these measurements may well be several weeks or months. Therefore, interpretation of these studies requires understanding of the test-retest reliability of the methodology, particularly when the degree of change is subtle. This is important because 5-HT_{1A} receptor availability can be physiologically or pharmacologically modified and, therefore, could lead to a modification of the apparent binding of ^{18}F -MPPF. For example, preclinical studies suggested that ^{18}F -MPPF was sensitive to 5-HT, because of its affinity close to endogenous 5-HT (3). Because it is known that increases in 5-HT release are largely due to several physiologic, environmental, and behavioral manipulations (28), it can be hypothesized that the ^{18}F -MPPF binding is reduced when the 5-HT concentration is increased. Recently, a ^{18}F -MPPF study suggested that 5-HT_{1A} receptor availability was increased during sleep (4). Other physiologic processes, such as aging, could have a direct impact on the 5-HT_{1A} receptor density (29). Therefore, a long period between the test and retest scans could lead to subtle but significant intraindividual variabilities. Finally, as recently described, 5-HT_{1A} receptors in the raphe dorsalis can be partially internalized, leading to a considerable decrease in ^{18}F -MPPF binding (>30%) (9,30). It must be noted, that although these multiple factors could theoretically modify the BP of ^{18}F -MPPF,

our results showed that the biologic variability was moderate (<10%). Furthermore, the paired t test between test and retest scans in the ROI analysis and in the SPM analysis did not showed significant changes. These results revealed a strong stability of individual measurements and, therefore, opportunity to use ^{18}F -MPPF tracer for testing longitudinal clinical evolutions over periods of a few months.

Use of Reliability Study

Potential Use for Group Comparison. The results of the reliability study may help to determine the minimal size of the sample of a study as far as the delay between consecutive pairs of trials is similar to the delay of the reliability study (around 6 mo in that experiment). Under that condition of delay, we take into account the 2 components of the typical error: the experimental error and the biologic variability. For a test-retest study with short delay, the biologic error may be different and ideally reduced to zero. In that case, variability of measurements is only due to experimental error rather than close to the typical error found in the simulated data presented in this article. But in specific cases of long-term clinical studies, the natural biologic variability of the control population has to be known to determine the minimal sample size allowing optimal conditions for detection. In crossover studies, a simplified formula useful to fix sample size is $n = 8 s^2/d^2$, where “d”

is the minimal difference to be detected between pre- and post test acquisitions, and “s” is the typical error found in the reliability study (23). The coefficient 8 is an approximation of 2 times the inverse Student distribution for a confidence level of 95%. As an example, expecting a difference of 5% of the variation of BP in the hippocampus (typical error of 7.4% in our reliability study) in a crossover test–retest study will require a sample size of 17 subjects for a statistical power of 95%. That sample size must be multiplied by 4 when another independent group is used as control. When the expected differences are much larger than noise—for example, looking for a difference of 15% in BP in the hippocampus—only 2 subjects are required ($8 \times 7.4^2/15^2 = 1.9$). In that case, the only restriction is to ensure that the selected 2 subjects are representative of a wider population. The major advantage of conducting a reliability study is that it allows performing a crossover study without a healthy control group, just from the knowledge of the typical error of the present reliability study.

Assessing for Individual Measurement. In that case, the typical error is used quite differently. One approach consists of assessing the difference between 2 scans: if the difference exceeds a confidence interval based on the typical error found in the reliability study (mean $\pm$ 2 SD for a 95% likelihood). Another approach, more powerful and less restrictive, consists of establishing whether an expected difference between test and retest acquisitions is exceeded by measurement of an individual subject, with reasonable likelihood. That approach forces one to make an estimation of what smallest clinically important changes between measurements would have a significant importance. So, a priori knowledge of biologic variability is required. Let’s suppose that a 10% modification of ^{18}F -MPPF BP is an expected value for evidence of clinical variation in the serotonergic system. With that case, if an individual patient presented a scan difference of 14% in the hippocampus, knowledge of the test–retest typical error allows evaluation of the confidence interval of the true value of changes for a determinate likelihood—that is, for an 80% likelihood, the factor to be applied to the typical error around the measurement is 1.81. With that value, the confidence interval around the patient variation of 14% will be [12.2;15.9]. We can assume that, with an 80% likelihood, true change of the measured change of 14% is greater than a 10% change, so that a change actually occurred between test and retest conditions. This approach is less conservative but is more effective and clinically practical for deciding on an effect in therapeutics.

More generally, a general usage of parametric imaging is the established individual or group comparison at a voxel level, thanks to the usual and friendly approach of SPM. In that study, we verified that the parametric images did not present significant bias between test and retest measurements: This database is then suitable for statistical inference in group comparisons and individual assessment via the general linear model.

CONCLUSION

The results of this study demonstrate—to our knowledge, for the first time—that ^{18}F -MPPF is reliable for performing PET of brain 5-HT_{1A} receptors in longitudinal studies: ^{18}F -MPPF parametric imaging of BP, R₁, and k₂ by noninvasive SRTM and DV by XXXX was reproducible with long-term delay. The choice of the analytic method and of the measure of interest can be freely selected and motivated by the purpose of the study, as the results presented in this article showed that both models allow computing indices with similar reproducibility. The parametric data also provide knowledge of noise, allowing the estimation of sample size for group comparison, and confidence interval for individual subject assessment.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Damien Dufournel and Caroline Cohen for help in image analysis and the chemistry team in the CERMEP.

REFERENCES

1. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*. 1999;38:1083–1152.
2. Lanfumey L, Hamon M. 5-HT₁ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2004;3:1–10.
3. Aznavour N, Zimmer L. [^{18}F]MPPF as a tool for the in vivo imaging of 5-HT_{1A} receptors in animal and human brain. *Neuropharmacology*. 2007;52:695–707.
4. Derry C, Benjamin C, Bladin P, et al. Increased serotonin receptor availability in human sleep: evidence from an [^{18}F]MPPF PET study in narcolepsy. *Neuroimage*. 2006;30:341–348.
5. Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, et al. 5-HT_{1A} receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [^{18}F]MPPF-PET study. *Brain*. 2004;127:900–913.
6. Merlet I, Ryvlin P, Costes N, et al. Statistical parametric mapping of 5-HT_{1A} receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage*. 2004;22:886–896.
7. Praschak-Rieder N, Hussey D, Wilson AA, et al. Tryptophan depletion and serotonin loss in selective serotonin reuptake inhibitor-treated depression: an [^{18}F]MPPF positron emission tomography study. *Biol Psychiatry*. 2004;56:587–591.
8. Riad M, Zimmer L, Rbahi L, Watkins KC, Hamon M, Descarries L. Acute treatment with the antidepressant fluoxetine internalizes 5-HT_{1A} autoreceptors and reduces the in vivo binding of the PET radioligand [^{18}F]MPPF in the nucleus raphe dorsalis of rat. *J Neurosci*. 2004;24:5420–5426.
9. Aznavour N, Rbahi L, Riad M, Reilhac A, Costes N, Descarries LA. PET imaging study of 5-HT_{1A} receptors in cat brain after acute and chronic fluoxetine treatment. *Neuroimage*. 2006;33:834–842.
10. Passchier J, van Waarde A, Pieterman RM, et al. Quantitative imaging of 5-HT_{1A} receptor binding in healthy volunteers with [^{18}F]p-MPPF. *Nucl Med Biol*. 2000;27:473–476.
11. Costes N, Merlet I, Zimmer L, et al. Modeling [^{18}F]MPPF PET kinetics for the determination of 5-HT_{1A} concentration with multi-injection. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002;22:753–763.
12. Costes N, Merlet I, Ostrowsky K, et al. A ^{18}F -MPPF PET normative database of 5-HT_{1A} receptor binding in men and women over aging. *J Nucl Med*. 2005;46:1980–1989.
13. Soares JC, van Dyck CH, Tan P, et al. Reproducibility of in vivo brain measures of 5-HT_{2A} receptors with PET and [^{18}F]deuteoraltanserin. *Psychiatry Res*. 2001;106:81–93.
14. Hirvonen J, Kajander J, Allonen T, Oikonen V, Nagren K, Hietala J. Measurement of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding using positron emission tomography and [carbonyl- ^{11}C]WAY-100635: considerations on the validity of cerebellum as a reference region. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27:185–195.

15. Gunn RN, Lammertsma AA, Grasby PM. Quantitative analysis of [carbonyl- ^{11}C]WAY-100635 PET studies. *Nucl Med Biol.* 2000;27:477–482.
16. Parsey RV, Slifstein M, Hwang DR, et al. Validation and reproducibility of measurement of 5-HT $_{1A}$ receptor parameters with [carbonyl- ^{11}C]WAY-100635 in humans: comparison of arterial and reference tissue input functions. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000;20:1111–1133.
17. Goldberg DP, Hillier VF. A scaled version of the general health questionnaire. *Psychol Med.* 1979;9:139–145.
18. Le Bars D, Lemaire C, Ginovart N, et al. High-yield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of p-[^{18}F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635. *Nucl Med Biol.* 1998;25:343–350.
19. Le Bars D, Bonmarchand G, Alvarez G, Lemaire C, Mosdzianowski C. New automation of MPPF using a coincidence synthesizer. *J Labelled Compds Radiopharm.* 2001;44(suppl):S1045.
20. Reilhac A, Evans A, Gimenez G, Costes N. Creation and application of a simulated database of dynamic [^{18}F]MPPF PET acquisitions incorporating inter-individual anatomical and biological variability. *IEEE Trans Med Imaging.* 2006;25:1431–1439.
21. Gunn RN, Lammertsma AA, Hume SP, Cunningham VJ. Parametric imaging of ligand-receptor binding in PET using a simplified reference region model. *Neuroimage.* 1997;6:279–287.
22. Logan J. Graphical analysis of PET data applied to reversible and irreversible tracers. *Nucl Med Biol.* 2000;27:661–670.
23. Hopkins WG. A new view of statistics. *Internet Society for Sport Science.* 2000; Available at: <http://www.sportsci.org/resource/stats/>. Accessed month, day, year. [AQ22]
24. Worsley KJ, Marrett S, Neelin P, Vandal AC, Friston KJ, Evans AC. A unified statistical approach for determining significant signals in images of cerebral activation. *Hum Brain Mapp.* 1996;4:58–73.
25. Snedecor G, Cochran W, Cox D. *Statistical Methods.* Ames, IA: The Iowa State University Press; 1989.
26. Kim JS, Ichise M, Sangare J, Innis RB. PET imaging of serotonin transporters with [^{11}C]DASB: test-retest reproducibility using a multilinear reference tissue parametric imaging method. *J Nucl Med.* 2006;47:208–214.
27. Frankle WG, Slifstein M, Gunn RN, et al. Estimation of serotonin transporter parameters with ^{11}C -DASB in healthy humans: reproducibility and comparison of methods. *J Nucl Med.* 2006;47:815–826.
28. Rueter LE, Fornal CA, Jacobs BL. A critical review of 5-HT brain microdialysis and behavior. *Rev Neurosci.* 1997;8:117–137.
29. Meltzer CC, Drevets WC, Price JC, et al. Gender-specific aging effects on the serotonin 1A receptor. *Brain Res.* 2001;895:9–17.
30. Zimmer L, Riad M, Rbahl L, et al. Toward brain imaging of serotonin 5-HT $_{1A}$ autoreceptor internalization. *Neuroimage.* 2004;22:1421–1426.

V1

Résultats

Les indicateurs de fiabilité montraient une bonne reproductibilité de la mesure : le pourcentage de changement moyen entre test et retest (biais) était proche de 1% dans les régions riches en 5-HT_{1A} et 2% dans les autres régions. Les cartes statistiques paramétriques (CSP) de comparaison appariées entre test et retest ne montraient aucune différence significative. L'erreur typique de la mesure test-retest était de 7%. La moyenne de l'ICC était au-dessus de 0.70. Nous avons obtenu des résultats similaires pour les paramètres R_1 et k_2 du modèle SRTM. Pour le DVR, le biais était autour de 2,5 % et l'erreur typique autour de 6 %. L'ICC se situait en moyenne au-dessus de 0,6. Les résultats des données simulées donnaient un biais quasi nul, et une erreur typique de 2 à 3 %, pour un ICC de 0,99. Elles révélaient que 5% de l'erreur des données réelles provenait de la reproductibilité biologique intra-individuelle, qui expliquait aussi l'ICC.

Conclusions

Cette étude montre une bonne reproductibilité des indices de fixations calculés par les modèles SRTM et Logan pour la mesure test-retest au [¹⁸F]MPPF. La variabilité intra-individuelle est la source principale d'erreur, mais elle est limitée et permet d'envisager des études de détection de variation de mesure de quelques pour cent avec des échantillons de taille raisonnable (par exemple 17 sujets pour 95% de fiabilité dans la détection d'une variation de 5%, ou encore 4 sujets pour une variation attendue de 15% entre test et retest). Les résultats de l'étude permettent aussi de calculer les intervalles de confiance autour de données normatives et d'évaluer les anomalies chez un sujet seul.

Chapitre IV

Conditions méthodologiques pour le développement et la validation d'outils de mesures quantitatives TEP au $[^{18}\text{F}]$ MPPF : base de données simulées

IV.1 Base de données simulées

Contexte

Dans l'ensemble des procédures méthodologiques de mise au point d'outils d'utilisation d'un nouveau traceur, il est nécessaire d'estimer les performances et de valider les algorithmes de traitement avec un jeu de données représentant la *vérité terrain* (« the ground truth »). Cette vérité terrain est difficilement accessible en TEP car aucun autre moyen d'investigation n'existe pour accéder de manière non-invasive à la mesure directe *in vivo*, non-biaisée du phénomène physiologique observé. Récemment plusieurs équipes ont tenté de standardiser les méthodes d'évaluation et de validation, en créant en particulier un cadre conceptuel et un lexique associé à la validation (Buvat, *et al.* 1999; Jannin, *et al.* 2006; Yoo, *et al.* 2000). L'adoption d'un lexique nous a encouragé à préciser entre parenthèses dans ce chapitre les termes anglais pour lesquels nous proposons une traduction.

Parmi les concepts introduits pour la validation, nous avons retenu ceux de (Lehmann 2002). Ces auteurs ont tenté de réunir les conditions conceptuelles de validation algorithmique en imagerie médicale par un jeu de données de référence. Ils ont pour cela défini des critères d'existence d'un jeu de données de référence (*Gold standard*) pour la validation :

- *Confiance (reliance)* : le jeu de données de référence doit résulter d'un protocole de fabrication déterminé et reproductible.
- *Equivalence (Equivalence)* : le jeu de données de référence doit reproduire avec justesse les données réelles en termes de bruit et de signal.
- *Indépendance (Independence)* : la procédure de création de la base de données doit être indépendante de la procédure de traitement à évaluer.
- *Pertinence (Relevance)* : la procédure de traitement à évaluer par le jeu de données de référence doit elle-même être reproductible.

-
- Significativité (*Significance*) : la taille du jeu de données de référence doit être suffisante pour autoriser une analyse statistique des performances évaluées.

Dans cette optique, nous avons créé un jeu de données de référence d'acquisition de TEP dynamiques au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ à l'aide d'un logiciel de simulation basée sur la méthode de Monte-Carlo (SORTEO, écrit par Anthonin Reilhac, (Reilhac, *et al.* 2004), <http://sorteo.cermep.fr/>). Cette base de données de référence est destinée à remplir l'ensemble des critères de Lehmann ; elle est suffisamment grande et réaliste, c'est-à-dire respectant la variabilité anatomique et fonctionnelle d'un échantillon de sujets sains. Le travail présenté inclut la procédure de création de la base de données et les vérifications de conformité aux critères de Lehmann. Nous avons notamment confronté cette base simulée aux données réelles des travaux précédemment exposés⁴.

Méthode

GENERATION DU JEU DE DONNEES STANDARD

La méthodologie de création est illustrée par la Figure 43.

Elle procède de la manière suivante :

- A. Sélection de 16 IRMs anatomiques haute résolution de sujets sains réels. Cet échantillon contient la variabilité anatomique représentative de la population normale. Un algorithme de segmentation puis de classification automatique en 64 régions cérébrales et extra-cérébrales est utilisé pour mener à l'étape C.
- B. L'expérimentation sur cinq sujets sains d'un protocole multiinjection de $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ TEP (cf chapitre II.1) et l'identification des paramètres du modèle dans 12 régions d'intérêts permet de constituer une base de valeurs standard (moyennes et écart-type) pour le quintuplet de paramètres $\{K_1, k_2, k_{on}/V_r, k_{off}, B_{max}\}$. Un tirage pseudo-aléatoire sur ces valeurs permet de générer pour chaque région d'intérêt un ensemble de 16 quintuplets $\{K_1, k_2, k_{on}/V_r, k_{off}, B_{max}\}$, dans la gamme de la variabilité biologique des sujets expérimentaux, c'est-à-dire en particulier dans le respect de leur distribution sous-jacente.
- C. Le modèle compartimental et les quintuplets $\{K_1, k_2, k_{on}/V_r, k_{off}, B_{max}\}$ permettent de générer des courbes d'activité temporelles TEP non-bruitées pour une mono-injection de $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ sur 60 minutes, pour chacune des 12 régions d'intérêts et pour chacun des 16 sujets. Ces TACs représentent la *réalité terrain* des TACs régionales lors d'un examen simple au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$, pour lesquelles les valeurs du modèle sous-jacent sont parfaitement connues.

⁴ Reilhac A, Evans A, Gimenez G, Costes N. (2006): Creation and Application of a Simulated Database of Dynamic $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ PET Acquisitions Incorporating Inter-Individual Anatomical and Biological Variability. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 25(11):1431-39.

-
- D. Les IRMs classifiées sont simplifiées en 32 régions pour constituer les 16 fantômes numériques d'émission du processus de simulation. Pour 12 de ces régions (corticales et sous-corticales du système limbic), les TACs simulées par la modélisation sont adjointes, et pour 20 autres régions (autres régions corticales, LCR, matière blanche, Sinus, régions non-spécifiques...), des TACs extraites de données réelles débruitées, corrigées du volume partiel et normalisées sont fabriquées et adjointes aux ROIs. Ces ensembles, fantômes et TACs, forment les données d'entrée du simulateur de Monte-Carlo.
- E. Le processus de simulation reproduit le processus d'acquisition TEP multiframe dynamique en générant toutes les désintégrations de positons des régions émettrices pendant les 60 minutes de l'acquisition virtuelle. Seize sinogrammes sont réalisés (un par sujet virtuel) et reconstruits avec les mêmes paramètres de correction que dans la réalité. Ces images de TEP dynamiques au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ simulées ainsi générées constituent le jeu de données de référence. Les TACs régionales en sont extraites. Elles représentent également un jeu de données de référence de TAC TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$.
- F. Les images dynamiques subissent la même modélisation simplifiée avec le modèle SRTM que dans la réalité. La TAC du cervelet est prise comme région de référence. Les images paramétriques de BP, R_1 , k_2 sont créées pour chacun des 16 sujets. Elles représentent un jeu de données de référence d'images paramétriques TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ pour un échantillon de 16 sujets virtuels.

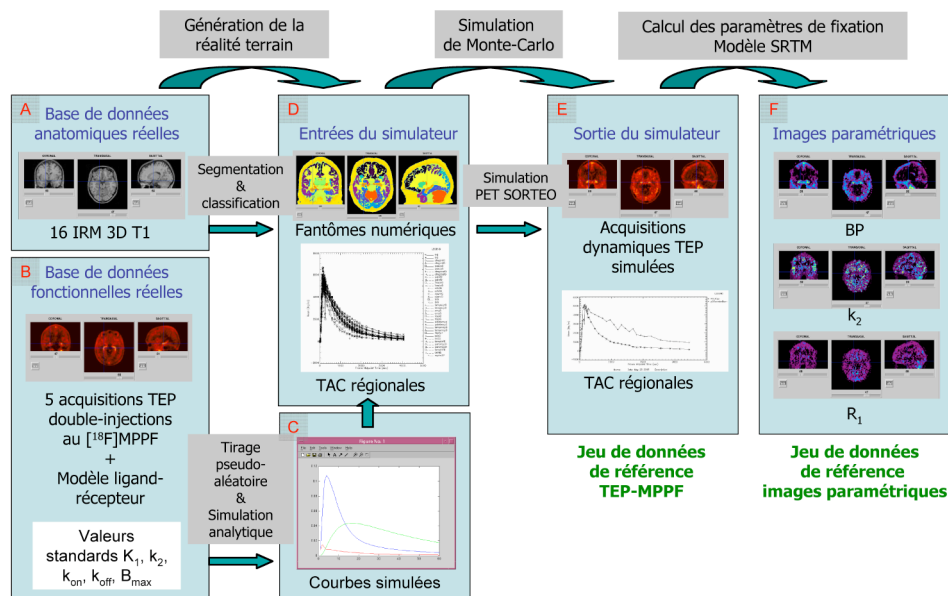


Figure 43
Synopsis de création d'une base de données simulées réaliste reproduisant une variabilité anatomique et fonctionnelle proche du réel

VALIDATION DU JEU DE DONNEES STANDARD

Nous avons validé les jeux de données de référence simulées sont validés en termes *d'équivalence* en les comparant avec une base de données réelles d'acquisition mono-injection TEP (cf. chapitre II.2)

APPLICATION DU JEU DE DONNEES DE REFERENCE

À titre d'exemple d'application de ce jeu de données de référence, nous avons évalué la détectabilité sur les images BP d'un abaissement de 20% et 40% du B_{max} induit dans les régions simulées (20% dans les régions simulées de l'hémisphère droit, et 40% dans les régions homologues de l'hémisphère gauche).

Creation and Application of a Simulated Database of Dynamic [^{18}F]MPPF PET Acquisitions Incorporating Inter-Individual Anatomical and Biological Variability

Anthoin Reilhac*, Alan C. Evans, Gérard Gimenez, and Nicolas Costes

Abstract—During the process of validation of a new tracer, estimation of performance and validation of processing algorithms have to be investigated with data sets representative of the ground truth. Because this ground truth is hardly accessible in positron emission tomography (PET), validations of processing algorithms often rely on the use of simulated data sets. Considering that Monte Carlo simulators are very time consuming and are not very easy to use, the building of publicly available databases of simulated PET volumes are becoming highly desirable. We present here the methodology employed for the creation of a database of simulated dynamic [^{18}F]MPPF-PET data, including inter-individual anatomical and biological variability which meets the criteria of a gold standard database as defined by Lehmann: reliance, equivalence, independence, relevance, significance. The assessment of the realism of the built database against actual MPPF PET data is also presented here. Whereas the database was specifically created for the investigations of quantification of activity and binding of ligand-receptor with the [^{18}F]MPPF PET tracer, it may serve the community with countless purposes. The full strength of this database, does not only stem from the knowledge of important information such as the true activity map and underlying anatomical data, but also from the possibility to fully control the biological difference between sets of simulated PET data. Indeed, time activity curves included in the simulated data sets are controlled by a multicompartmental model of ligand-receptor exchanges. This latter feature is of a great interest in the context of the improvement of the detectability of biological variation in PET.

Index Terms—Compartmental modeling, database, positron emission tomography (PET), simulation, validation.

I. INTRODUCTION

THE quantitative measurements and the sensitivity of positron emission tomography (PET), are some of the most relevant aspects of this *in vivo* imaging technique. In addition, PET offers the opportunity to explore a large spectra of biological functions of living tissues according to an important range of available radiotracers. During the process

of validation of a new tracer, from experimental to clinical applications, estimation of performances, and validation of processing algorithms have to be investigated with data sets representative of the ground truth. Because this ground truth is not accessible in PET, validation of processing algorithms often relies on the use of simulated data sets, in which activity, attenuation, and emission volumes are known. It is now well accepted that Monte Carlo-based simulated PET data offer the most reliable means to assess the robustness and sensitivity of methods to the different sources of noise and bias of the acquisition PET process, such as Poisson emission, inhomogeneity of the spatial resolution and sensitivity, scatter and random [1]. The realism of the simulated data is indeed important for the validation of algorithms whose performances can be affected by those sources of noise. In the case of PET ligand-receptor modeling, noise in the image impacts the outcome of the parameter estimates and compromises the detectability of physiological phenomena. Considering that Monte Carlo simulators often require important computational resources and are not very easy to use, publicly available databases of simulated PET volumes are becoming highly desirable. Up to now, two such databases have been reported in PET [1], [2]. The first one gathers simulated data of various sorts, generated using different Monte Carlo codes and for different scanners. Although very appropriate for the validation of reconstruction or correction methods, it does not offer suitable data in the context of biological phenomenon detectability. Indeed, this case requires a database with anatomical and biological inter-individual variability. The second publicly available database offers simulated [^{18}F]FDG, [^{11}C]Raclopride and [^{18}F]FluoroDopa brain data for the Ecat Exact HR⁺ scanner. The inter-individual anatomical variability relies on the use of 17 different numerical brain phantoms derived from actual T1-weighted magnetic resonance imaging (MRI) acquisitions. However, no attempt was made in this work to take the inter-individual biological variability into account. The aim of this work was to create a specific database of simulated dynamic [^{18}F]MPPF-PET scans including inter-individual anatomical and biological variability with respect to criteria defined by Lehmann [3] for data processing evaluation.

- **Reliance:** the database results from a determined reproducible protocol.
- **Equivalence:** the database accurately reproduces real-life data (noise and signal).

Manuscript received February 8, 2006; revised May 31, 2006. Asterisk indicates corresponding author.

*A. Reilhac is with the CERMEP, F-69667 Bron, France (e-mail: anthoin.reilhac@cermep.fr).

A. C. Evans is with the McConnell Brain Imaging Centre, Montreal Neurological Institute and Hospital, Montreal, QC H3A 2B4, Canada.

G. Gimenez, and N. Costes are with the CERMEP, F-69667 Bron, France.

Digital Object Identifier 10.1109/TMI.2006.879922

0278-0062/\$20.00 © 2006 IEEE

- *Independence*: the database creation and the processing to be evaluated rely on different procedures.
- *Relevance*: the self-reproducibility of the processing to be evaluated must be ascertained.
- *Significance*: the size of the database is large enough to enable statistical analysis.

Our database is specifically built within the framework of ligand-receptor exploration with PET in the case of physiopathological diseases involving the serotonergic system. The selected molecule, the [^{18}F]MPPF, is a competitor to endogenous serotonin binding on 5-HT $_{1A}$ receptors [4] and has been quantified and validated for clinical investigations [5], [6]. Studies in rats [7] have shown that variations in serotonin concentration can be detected with MPPF, which would be of particular interest for human *in vivo* examination. 5-HT $_{1A}$ receptors are largely involved in psychiatric and neurological disorders such as depression, schizophrenia, dementia, Alzheimer's, anorexia, or epilepsy. A first application of the database for the detectability of the MPPF binding variation is presented here. To our knowledge, this database is the first logically built for PET in the context of ligand-receptor quantification. It is fully accessible online.¹

II. MATERIAL AND METHODS

Different stages were required for the building of the database. First, we built a database of 16 numerical phantoms from actual brain MRI, thus ensuring the anatomical variability. Then we modeled the time course of the tracer in each cerebral and extra cerebral structure of the brain models using actual PET data. Some time activity curves (TAC) directly came from PET measurements while others, with the objective to fully control the biological model, were issued using a three-compartment model. We aimed at introducing, in the simulation process, TACs which mirror the intrasubject and intersubject variability observed with actual PET studies. The numerical phantoms, associated with their respective sets of TACs were then introduced as activity maps for the generation of realistic PET data using a Monte Carlo-based PET simulator (Fig. 1).

A. Phantom Generation

The underlying anatomical variability relies on the use of 16 different numerical models describing 32 anatomical structures and cerebral regions. Each model was derived from a T1-weighted MRI of an adult subject without pathology, acquired at the McConnell Brain Imaging Centre of Montreal. Each MRI volume contains $181 \times 217 \times 181$ voxels of $1 \times 1 \times 1$ mm and completely covers the brain. Four basic steps were actually required to generate the numerical phantoms using the automated processing tools designed at the McConnell Brain Imaging Centre.

- 1) *Reliance*: The raw MRI volumes were first corrected for intensity nonuniformity using a nonparametric methodology [8].
- 2) *Equivalence*: Then the voxels were classified as gray matter (GM), white matter (WM), or cerebro spinal fluid (CSF) using a three-dimensional (3-D) tissue classifier [9].

¹<http://sorteo.cermep.fr>

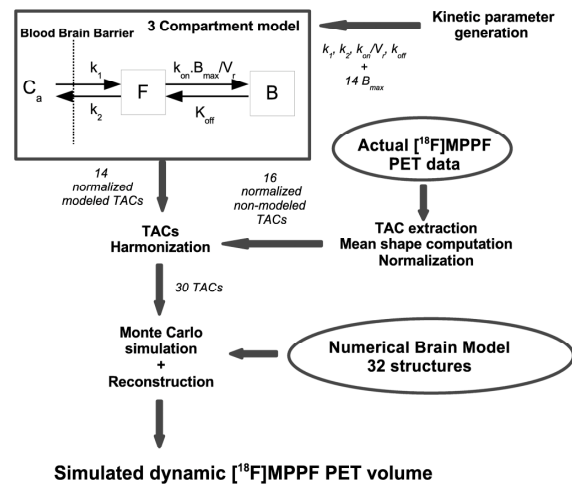


Fig. 1. Synopsis of the generation of the simulated PET volume for a single subject: 1) the generation of the kinetic parameters. $k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, k_6, k_7, k_8, k_9, k_{10}, k_{11}, k_{12}, k_{13}, k_{14}, k_{15}, k_{16}, k_{17}, k_{18}, k_{19}, k_{20}, k_{21}, k_{22}, k_{23}, k_{24}, k_{25}, k_{26}, k_{27}, k_{28}, k_{29}, k_{30}, k_{31}, k_{32}, k_{33}, k_{34}, k_{35}, k_{36}, k_{37}, k_{38}, k_{39}, k_{40}, k_{41}, k_{42}, k_{43}, k_{44}, k_{45}, k_{46}, k_{47}, k_{48}, k_{49}, k_{50}, k_{51}, k_{52}, k_{53}, k_{54}, k_{55}, k_{56}, k_{57}, k_{58}, k_{59}, k_{60}, k_{61}, k_{62}, k_{63}, k_{64}, k_{65}, k_{66}, k_{67}, k_{68}, k_{69}, k_{70}, k_{71}, k_{72}, k_{73}, k_{74}, k_{75}, k_{76}, k_{77}, k_{78}, k_{79}, k_{80}, k_{81}, k_{82}, k_{83}, k_{84}, k_{85}, k_{86}, k_{87}, k_{88}, k_{89}, k_{90}, k_{91}, k_{92}, k_{93}, k_{94}, k_{95}, k_{96}, k_{97}, k_{98}, k_{99}, k_{100}$ are global for the subject, whereas B_{max} varies from region to region. A total of 14 modeled TACs are issued from selected kinetic parameters using a three-compartment model; 2) 16 nonmodeled TACs are derived from actual PET measurements; 3) the TACs are harmonized together so as to mirror realistic contrast between structures; 4) the raw PET data are simulated from the set of 30 TACs and a numerical phantom. Note that there is no activity defined for two structures, the skull and the CSF. The raw data are finally fully corrected and reconstructed.

- 3) *Independence*: The segmentation step consisted in mapping a digital atlas onto the classified MRI, using a non-linear registration algorithm, so as to automatically delineate the different cerebral and extra cerebral structures [10].
- 4) *Relevance*: Finally, we merged structures showing similar uptakes into a single label.

The original MRI volumes do not exhibit the raphe nucleus, and consequently, it could not be automatically delineated. This structure was manually drawn from each MRI volume and added to the label volume.

B. Kinetics Generation

From the 32 TACs to be defined for each subject, 20 correspond to extra cerebral regions or to cerebral regions which are devoid of interest with respect to the tracer. The corresponding TACs, referred hereafter as “nonmodeled TAC” were generated using actual kinetics extracted from actual PET scans of healthy subjects using regions of interest (ROIs). The remaining 12 structures correspond to regions of peculiar interest regarding the tracer, and therefore, regarding the subsequent analysis. Hence, the corresponding TACs were fully modeled using a three-compartmental model. Those generated TACs of kinetics are referred to as “modeled TACs,” in the subsequent citations.

1) *Generation of the Nonmodeled TACs*: The average shape of each nonmodeled TAC was derived from the dynamic MPPF PET scan of 16 actual healthy male subjects. For each region, a noise free normalized TAC was built from ROI-based measurements in three steps. First, the measured TACs were extracted

from the dynamic volumes and corrected for partial volume effects using a ROI-based correction method [11]. Those phenomena may lead to major activity underestimations and shape distortions, depending on the size and shape of the region and on the spatial resolution of the imaging system. Then the corrected TACs were normalized by the activity integral and finally averaged together, yielding noise-free TACs.

2) *Generation of the Modeled Tacs*: Regional modeled TACs were generated according to a three-compartment model which characterizes the exchanges of MPPF between vascular networks, tissues, and 5-HT_{1A} receptors (see Fig. 1). The first compartment, the circulating plasma of the arterial network, is represented in the model by the concentration $Ca(t)$ of unmetabolized MPPF in plasma. The second and third compartments are the free or nonspecific compartment and the specific compartment, respectively, quantifying the free or nonspecific bound ligand (F) and the specifically bound ligand (B) in the tissues. The involved transfer rates and binding parameters, which rule the exchanges between the compartments are as follows:

- $k_1(\text{min}^{-1})$: inflow rate of ligand from plasma compartment to the free and nonspecific compartment;
- $k_2(\text{min}^{-1})$: escape rate from tissues to blood circulation;
- $k_{on}(\text{ml} \cdot \text{pmol}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$: bimolecular association rate;
- $k_{off}(\text{min}^{-1})$: dissociation rate;
- V_r : volume of reaction. V_r is not discernable from k_{on} as only the ratio k_{on}/V_r is experimentally estimable.

Finally, the specific binding to 5-HT_{1A} receptors depends on B_{max} ($\text{pmol} \cdot \text{ml}^{-1}$), being the available local density of receptors. In our functional model, we fixed the transfer rates, k_1 , k_2 , k_{on}/V_r , and k_{off} for all the structures within the same subject and decided to leave B_{max} as the only source of inter regional variability. The determination of their value was based on their respective distribution (mean and standard deviation) measured in a previous study where individual identification from actual PET measurements was performed. To select the parameters, k_1 and k_{on}/V_r , k_{off} and B_{max} were randomly drawn with a Gaussian random numbers generator using actual measurements of the hippocampi kinetic parameters [12]. We found that k_1 and k_2 were linearly bound, therefore, k_2 was analytically fixed from the value of k_1 . The randomly drawn quintuplet was actually selected if the corresponding dissociation constant ($K_d = k_{off}/k_{on}/V_r$) lay between limits (mean, $\pm$ standard deviation) established from the observations of actual data [12]. Once the kinetic parameters were selected for the hippocampi, the parameter B_{max} was randomly selected for each other region using a similar methodology. Each modeled TAC was finally analytically simulated using the set of kinetic parameters with a Runge–Kutta algorithm (MATLAB) and actual blood sample measurements corrected for metabolites as input functions.

3) *TACs Harmonization*: The TAC generation process led to normalized curves, unrealistic in terms of amplitude. Therefore, for each subject simulation, the individual TAC (modeled or not) was scaled up so as to match its integral over time to the integral calculated on the corresponding region from an actual PET volume and corrected for partial volume effects. This methodology guaranteed the generation of TACs mirroring the inter-regional variability in terms of contrast observed within individual actual PET volumes.

C. Monte Carlo Dynamic Acquisition Simulation

1) *Simulator*: For the generation of the raw data (emission and transmission), we used the PET-SORTEO PET simulator configured for the Ecat Exact HR⁺ scanner. This Monte Carlo-based simulation tool is able to generate realistic data in accordance with the numerical phantom description, as well as with the scanner geometry and physical characteristics and takes into account most of the phenomena that alter the final image quality (scatter and random events, dead-time). It has been thoroughly validated for the geometry of the Ecat Exact HR⁺ scanner [13]. The simulated detection system is made of 32 crystal rings with 576 detection units each, allowing the simultaneous acquisition of 63 transverse planes of 56.2 cm each over an axial extent of 15.52 cm. More details regarding the geometry and performances can be found in [14] and [15].

2) *Two-Dimensional (2-D) Transmission*: So as to correct each emission scan from photon attenuation, the simulation of the transmission acquisition for each numerical phantom was performed following a standard 10 min 2-D acquisition protocol ($\text{span} = 15, \text{mrd} = 7, \text{lld} = 350, \text{uld} = 650$) using the three rotating rod sources (⁶⁸Ge, 200 Mbq each). The 3-D correction factors were then derived for each phantom from the simulated transmission scan in 3 steps. First, the 2-D factors were computed from the 2-D transmission data and a simulated blank scan. Then, an attenuation map was reconstructed from the 2-D factors and forward projected to generate the oblique correction factors, leading to the set of 3-D attenuation correction factors.

3) *3-D Emission*: Each of the 16 dynamic emission scans was simulated from the numerical phantoms for the Ecat Exact HR⁺ scanner operating in 3-D mode ($\text{span} = 9, \text{mrd} = 22, \text{lld} = 350, \text{uld} = 650$). The protocol consisted in the collection of the events over a 60 min period onto 35 time-frames: 15 of 20 s, 15 of 120 s, and 5 of 300 s.

4) *Correction and Reconstruction*: Each dynamic emission scan was normalized and corrected for randoms, scatter contamination, attenuation, dead-time, and radioelement decay. The corrected scans were reconstructed using a standard 3-D filtered back projection algorithm with the Hanning filter and a cutoff frequency of 0.5 mm⁻¹. Each reconstruction yielded 35 time-frames of data volumes ($128 \times 128 \times 63$ voxels of $2.06 \times 2.06 \times 2.425$ mm³ each).

D. Data Analysis

The reconstructed dynamic PET acquisitions were processed to extract parametric indices with two different simplified techniques usually employed in clinical studies when no arterial blood samples are available. The first technique is based on the linearization at equilibrium of the Patlak graphics between a region of interest and a reference region [16]. This method estimates the total equilibrium distribution volume in the tissue compartment (DV_{logan}). The Binding potential (BP) can be derived from DV_{logan} figures [12]. The second technique calculates an analytic solution of the partial derivative equation system issued from the three compartment model [17]. It computes by linearization the Binding potential (BP_{SRTM}) of a region of interest with respect to a reference region (the cerebellum here). It also computes R_1 the ratio of k_1 parameter in ROI with respect to k_1 in the reference region, as well as

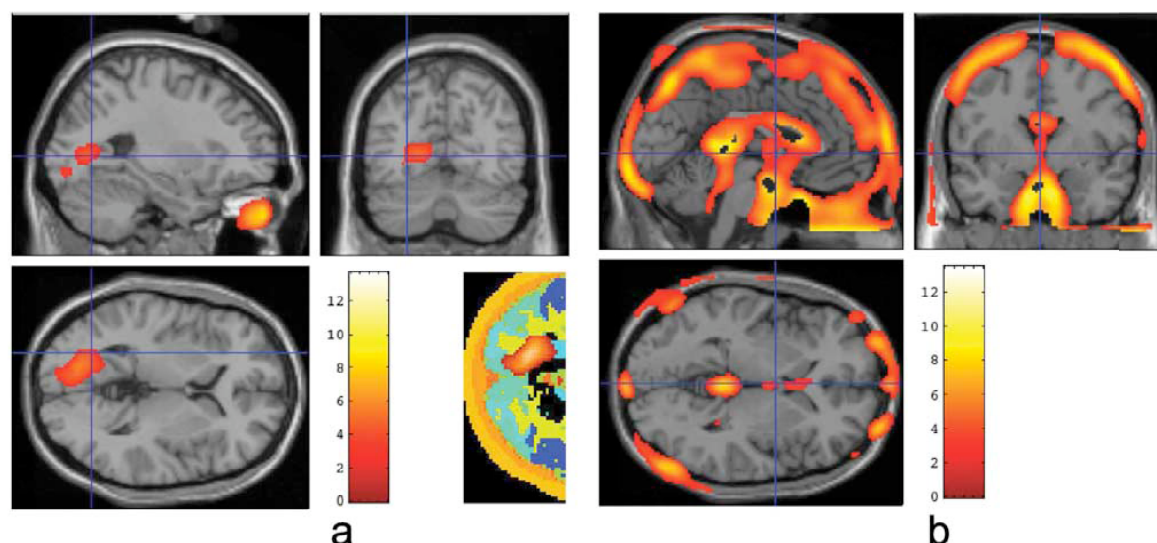


Fig. 2. Results of the SPM analysis of the comparison between time average integrated activity (a) between 16 PET MC simulated subjects minus 16 actual PET subjects and (b) between 16 actual subjects minus the 16 PET MC simulated subjects. Significant clusters are reported on the sagittal, coronal, and transverse view of a standard MRI, and on the labeled segmented MRI used as input of the emission simulation process (down-right part).

the k_2 parameter. Regional time activity curves were measured from the simulated dynamic PET using the label volume. We applied the $DV_{\log an}$ and BP_{SRTM} simplified modeling techniques over 20 cerebral selected regions. Parametric images of $DV_{\log an}$ and BP_{SRTM} were also computed and spatially normalized with SPM99 according to the individual T1 MRI to the MNI space [18]. Mean PET images were also derived from the dynamic PET data and spatially normalized in the MNI space.

E. Database Evaluation

Reliance and equivalence of the simulated database were appreciated with a correlation test and by comparing images from actual and simulated data with paired and unpaired t -test with SPM99 using a significant threshold of 0.05 corrected for multiple comparisons by the theory of Random Gaussian fields. Equivalence of the inter-individual variability of the binding parameters of MPPF issued from the simplified models were evaluated with a one-way anova. This statistical test was performed on a selection of 20 cortical and sub-cortical regions with the $DV_{\log an}$, BP_{SRTM} , R_1 , and k_2 parameters and using a significant threshold of 0.05.

III. RESULTS

A. Reliance Criteria

A two sample unpaired t -test performed on two groups of eight mean PET images randomly drawn from the 16 of the database did not show any differences. The test was replicated with different random selection and led to the same conclusion.

B. Equivalence Criteria

1) *On Images*: A two sample unpaired t -test comparing the 16 mean images of the simulated database with actual mean images from 16 actual subjects did not show any differences

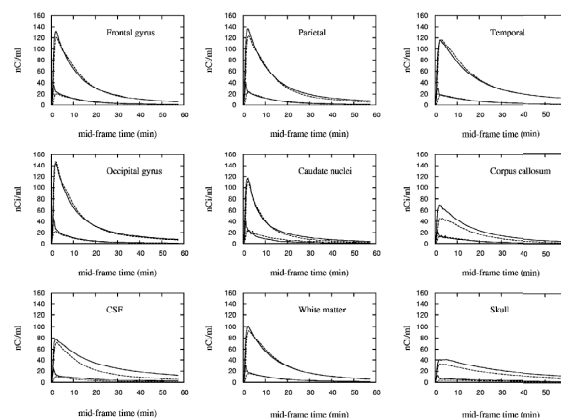


Fig. 3. Mean time activity curves (upper curves) and standard deviation (lower curves) for nine selected nonmodeled regions, computed from the set of simulated (broken line), and the actual (continuous line) $[^{18}F]$ MPPF PET data.

except in a right occipital area and in the regions covering the eye globes [Fig. 2(a)] in the comparison of simulated data minus actual data, and in the region corresponding to the peri-cerebral CSF [Fig. 2(b)] in the actual data minus the simulated data.

2) *On Time Activity Curves*: Extracted activities are shown in Fig. 3 for nonmodeled TACs and Fig. 4 for modeled TACs. Each subgraph plots the mean activity curves and standard deviation across time, of nine selected structures, computed from the set of simulated (broken line) and the actual MPPF PET data (continuous line). Broadly speaking, mean curves of simulated and measured data are very close in shape and amplitude. Also, the standard deviation computed from the simulated database seems to mirror the inter-subject variability observed on the actual samples. We can note, however, that some curves extracted

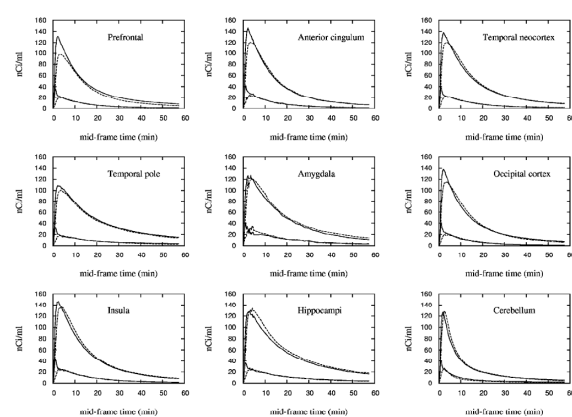


Fig. 4. Mean time activity curves (upper curves) and standard deviation (lower curves) for nine selected modeled regions, computed from the set of simulated (broken line) and the actual (continuous line) [^{18}F]MPPF PET data.

TABLE I

COMPARISON OF $DV_{\logan}$ PARAMETERS OVER REGIONS OF INTEREST FOR 16 ACTUAL SUBJECTS VERSUS 16 SIMULATED SUBJECTS. FOR SIMULATED DATA, REGIONS ARE ISSUED FROM EITHER THE "NONMODELED" PROCEDURE OR FROM "MODELED" PROCEDURE. IN BOLD, STATISTIC TEST EXCEEDS THE SIGNIFICANT THRESHOLD OF 0.05

DV of actual versus simulated data						
Region	type	F	p	mean diff	t	p
Total		1.18	0.198	-0.01	-0.19	0.846
Frontal gyrus	non-modeled	1.91	0.230	0.09	1.20	0.239
Lateral occipital cortex	non-modeled	2.35	0.116	0.02	0.18	0.858
Occipital gyrus	non-modeled	2.78	0.061	-0.03	-0.44	0.665
Occipital pole	non-modeled	2.54	0.086	0.02	0.28	0.783
Medial occipito-temporal cortex	non-modeled	2.80	0.059	-0.09	-1.14	0.263
Parietal cortex	non-modeled	1.33	0.391	0.09	1.03	0.311
Putamen	non-modeled	3.11	0.038	-0.02	-0.21	0.838
temporal neocortex	non-modeled	1.78	0.286	-0.05	-0.58	0.565
Amygdala	modeled	1.74	0.303	-0.16	-1.66	0.108
cingulum cortex	modeled	2.54	0.087	0.01	0.09	0.926
Entorhinal cortex	modeled	2.90	0.051	-0.03	-0.27	0.789
Hippocampus	modeled	3.13	0.037	-0.16	-1.41	0.169
Insula	modeled	2.61	0.078	-0.07	-0.70	0.487
Occipital cortex	modeled	2.05	0.164	0.04	0.44	0.666
Parahippocampal gyrus	modeled	2.63	0.076	0.00	0.03	0.978
Superior parietal cortex	modeled	1.33	0.556	0.03	0.36	0.721
Posterior cingulate	modeled	1.87	0.245	0.01	0.08	0.937
Prefrontal cortex	modeled	1.49	0.455	0.13	1.59	0.124
temporal cortex	modeled	2.36	0.114	-0.02	-0.22	0.826
temporal pole	modeled	1.63	0.366	0.11	1.41	0.169

from the simulated data set exhibit lower maximum activities than the actual curves. This is especially true for TACs from the modeled category, which, for some regions, reach their maximum at a later time (1–2 min) as well. Curves from simulated data clearly underestimate the observed inter subject variability for the short portion before the peak. Four regions escape from this general picture though. Indeed, the extracted TACs from two nonmodeled regions, the corpus callosum, and scalp (not shown), and from the two nonemitting regions, namely the CSF and the skull, exhibit underestimated activities when compared to actual measurements.

3) *On Binding Parameter*: Equivalence of the inter-individual variability of binding parameters was evaluated over a set of 20 regional parameters. The parameters were computed with two simplified models from the 16 simulated subjects and compared to the analogous parameters computed from 16 actual dynamic PET. Logan model. The comparison of the actual versus simulated data for the distribution volume ($DV_{\logan}$, Table I), does not show any significant differences in variance and mean values over the ROIs, except for the hippocampi

TABLE II

COMPARISON OF BP_{SRTM} BINDING PARAMETERS OVER REGIONS OF INTEREST FOR 16 ACTUAL SUBJECTS VERSUS 16 SIMULATED SUBJECTS. FOR SIMULATED DATA, REGIONS ARE ISSUED FROM EITHER THE "NONMODELED" PROCEDURE OR FROM "MODELED" PROCEDURE. IN BOLD, STATISTIC TEST EXCEEDS THE SIGNIFICANT THRESHOLD OF 0.05

BP of actual versus simulated data						
Region	type	F	p	mean diff	t	p
Total		1.09	0.456	0.06	2.13	0.033
Frontal gyrus	non-modeled	1.80	0.380	0.12	1.84	0.076
Lateral occipital cortex	non-modeled	2.20	0.146	0.10	1.19	0.244
Occipital gyrus	non-modeled	0.30	0.027	-0.06	-0.46	0.647
Occipital pole	non-modeled	0.89	0.832	0.02	0.28	0.781
Medial occipito-temporal cortex	non-modeled	0.28	0.022	-0.11	-0.88	0.388
Parietal cortex	non-modeled	1.06	0.919	0.12	1.57	0.128
Putamen	non-modeled	2.54	0.086	0.08	1.02	0.315
temporal neocortex	non-modeled	1.90	0.233	0.00	-0.05	0.962
Amygdala	modeled	1.80	0.277	0.01	0.06	0.955
cingulum cortex	modeled	1.97	0.210	0.08	1.04	0.308
Entorhinal ctx	modeled	2.72	0.066	0.16	1.88	0.126
Hippocampus	modeled	2.94	0.049	-0.06	-0.50	0.519
Insula	modeled	2.01	0.196	0.04	0.37	0.712
Occipital ctx	modeled	1.79	0.280	0.05	0.68	0.505
Parahippocampal gyrus	modeled	2.44	0.100	0.11	1.24	0.225
Superior parietal cortex	modeled	0.99	0.981	0.01	0.14	0.892
Posterior cingulate	modeled	1.47	0.474	0.07	0.91	0.372
Prefrontal cortex	modeled	1.11	0.850	0.16	2.22	0.034
temporal cortex	modeled	1.98	0.206	0.06	0.75	0.457
temporal pole	modeled	2.00	0.201	0.17	2.19	0.037

TABLE III

COMPARISON OF k_2 PARAMETERS FROM THE SRTM MODEL OVER REGIONS OF INTEREST FOR 16 ACTUAL SUBJECTS VERSUS 16 SIMULATED SUBJECTS. FOR SIMULATED DATA, REGIONS ARE ISSUED FROM EITHER THE "NONMODELED" PROCEDURE OR FROM "MODELED" PROCEDURE. IN BOLD, STATISTIC TEST EXCEEDS THE SIGNIFICANT THRESHOLD OF 0.05

k2 of actual versus simulated data						
Region	type	F	p	mean diff	t	p
Total		0.01	<0.001	-0.0010	-1.09	0.275
Frontal gyrus	non-modeled	2.12	0.164	0.0010	4.38	<0.001
Lateral occipital cortex	non-modeled	2.90	0.052	0.0010	4.45	<0.001
Occipital gyrus	non-modeled	0.00	<0.001	-0.0000	-0.84	0.407
Occipital pole	non-modeled	0.00	<0.001	-0.0000	-0.73	0.472
Medial occipito-temporal cortex	non-modeled	0.00	<0.001	-0.0010	-0.79	0.433
Parietal cortex	non-modeled	2.19	0.148	0.0010	2.99	0.006
Putamen	non-modeled	0.05	<0.001	-0.0030	-1.01	0.320
temporal neocortex	non-modeled	1.71	0.320	0.0005	2.04	0.051
Amygdala	modeled	0.80	0.672	0.0003	1.02	0.315
cingulum cortex	modeled	1.96	0.214	0.0010	2.56	0.016
Entorhinal ctx	modeled	1.56	0.405	-0.0010	-1.53	0.063
Hippocampus	modeled	0.80	0.684	-0.0001	-0.23	0.818
Insula	modeled	1.54	0.420	-0.0002	-0.38	0.707
Occipital ctx	modeled	2.82	0.058	0.0010	2.26	0.032
Parahippocampal gyrus	modeled	0.83	0.728	-0.0001	-0.38	0.710
Superior parietal cortex	modeled	3.09	0.040	-0.0003	-0.80	0.429
Posterior cingulate	modeled	2.39	0.108	0.0004	0.95	0.350
Prefrontal cortex	modeled	2.72	0.066	0.0005	1.16	0.255
temporal cortex	modeled	1.88	0.243	0.0004	1.16	0.255
temporal pole	modeled	1.70	0.327	0.0004	1.88	0.070

regions and the putamen. Indeed, both regions exhibit a variance estimated from the simulated data set three times smaller than the actual value. SRTM model. For the SRTM model parameters (Table II BP_{SRTM} ; k_2 , Table III, and R_1 , Table IV), results of comparison between actual and simulated data are more puzzled. For the BP, calculated over the 20 tested regions, three regions present a significant difference in variance, and two regions present a significant difference in mean. In regions with modeled TAC, the hippocampi have an underestimated variance (without implication in mean value), whereas the prefrontal cortex and the temporal pole present lower mean values than the actual data. This implies a significant global mean of mean BP_{SRTM} from simulated data under the actual data (mean difference of 0.06). In regions with nonmodeled activity, occipital gyrus, and medial occipito-temporal gyrus present a variance about three times above the actual value. The variance of R_1 parameter, computed from the simulated data set is overestimated when compared to actual data. This is explained by a significant difference of ratio values in four nonmodeled regions: namely the occipital gyrus, occipital pole, medial occipito-temporal cortex, and the putamen. No mean difference was found in these regions though. Conversely, no

TABLE IV
COMPARISON OF R_1 PARAMETERS FROM THE SRTM MODEL OVER REGIONS OF INTEREST FOR 16 ACTUAL SUBJECTS VERSUS 16 SIMULATED SUBJECTS. FOR SIMULATED DATA, REGIONS ARE ISSUED FROM EITHER THE "NONMODELED" PROCEDURE OR FROM "MODELED" PROCEDURE. IN BOLD, STATISTIC TEST EXCEEDS THE SIGNIFICANT THRESHOLD OF 0.05

R1 of actual versus simulated data						
Region	Type	F	p	mean diff	t	p
Totals		0.16	<0.001	0.08	3.76	<0.001
Frontal gyrus	non-modeled	0.42	0.112	0.03	0.64	0.530
Lateral occipital cortex	non-modeled	1.15	0.789	0.03	0.73	0.469
Occipital gyrus	non-modeled	0.02	<0.001	-0.23	-1.08	0.290
Occipital pole	non-modeled	0.06	<0.001	-0.16	-1.24	0.227
Medial occipito-temporal cortex	non-modeled	0.03	<0.001	-0.23	-1.17	0.252
Parietal cortex	non-modeled	0.40	0.092	0.08	1.66	0.107
Putamen	non-modeled	0.14	0.001	-0.02	-0.23	0.821
temporal neocortex	non-modeled	0.89	0.822	-0.04	-1.08	0.288
Amygdala	modeled	1.47	0.473	0.12	3.46	0.002
cingulum cortex	modeled	0.71	0.523	0.20	4.86	<0.001
Entorhinal ctx	modeled	0.70	0.512	0.20	5.90	<0.001
Hippocampus	modeled	0.80	0.869	0.04	1.14	0.265
Insula	modeled	1.16	0.785	0.21	4.46	0.000
Occipital ctx	modeled	0.78	0.650	0.20	4.40	<0.001
Parahippocampal gyrus	modeled	1.27	0.633	0.14	3.86	0.001
Superior parietal cortex	modeled	0.55	0.267	0.21	4.90	<0.001
Posterior cingulate	modeled	0.59	0.318	0.31	8.61	<0.001
Prefrontal cortex	modeled	0.64	0.413	0.33	8.48	<0.001
temporal cortex	modeled	0.89	0.827	0.19	4.75	<0.001
temporal pole	modeled	2.47	0.097	0.11	3.28	0.003

significant variance difference was detected between actual and simulated ROIs with modeled TAC, whereas mean differences were found in 11 ROIs, i.e., anterior and posterior cingulate gyrus, entorhinal cortex, frontal and prefrontal cortice, insula, occipital, parahippocampic, superior parietal cortices, temporal cortex, and pole. Only the hippocampi show similar means between actual and simulated data. For the k_2 parameter, overall variance of the 20 tested ROIs is found significantly superior in simulated data as compared to actual data. This discrepancy is due to difference in five nonmodeled TACs: occipital gyrus, occipital pole, medial occipito-temporal cortex and the putamen. Inversely, the superior parietal cortex presents a variance of the k_2 value three times inferior to the actual variance value. For the mean comparisons, frontal, parietal gyri, and lateral occipital gyrus present mean values inferior to the real life data, whereas in modeled regions, cingulate cortex, and occipital cortex present mean values superior to the actual data.

IV. APPLICATION: DETECTION OF BINDING POTENTIAL DECREASES

This simulated database of dynamic PET MPPF acquisition was used to investigate the detectability of binding potential decreases of the PET ligand.

A. Material and Methods

Upon the same set of numerical phantoms, we regenerated a new database (retest) using the same method, and from the same TACs excepting for six modeled regions (Amygdala, parahippocampus, Insula, hippocampus temporal pole, and prefrontal cortex). Indeed, for those regions, the kinetic parameter $B_{\max}$ representing the available receptor site were lowered by 20% in the right hemisphere and by 40% in the left hemisphere. Same process was employed for the TAC measurements and BP estimation as for the normal group of simulated test binding potential. On each ROI from the 16 subjects, a paired t test of comparison between the two simulated groups (test and retest) was performed.

B. Results and Discussion

The theoretical input BP_{SRTM} parameters computed from the input TACs, and BP_{SRTM} parameters computed on TACs extracted after MC simulation for the test and retest data set are reported in Table V. One can first observe that the input BP_{SRTM} do not reflect the theoretical decrease of $B_{\max}$. Indeed, the observed BP decreases calculated from the input TACs range from 8% to 17% in the right hemisphere instead of the theoretical 20%, and from 11% to 29% in the left hemisphere instead of the theoretical 40%. We noticed that this bias is proportional to the $B_{\max}$ density. This comparison reveals that the SRTM model might not be appropriate here. In fact, some assumptions of the model might be violated (the reference region, i.e., the cerebellum, is not totally devoid of specific receptors, and/or the distribution volume in the nonspecific and free compartment is not close enough to the ROI DV). Further investigations must be carried out to better select the model and parameters for BP evaluation. BP_{SRTM} measured from the right regions range from 5% to 21%, except for the prefrontal cortex, where an increase of 11% was found. Left decreased regions have measured BP ranging from 8% to 28%, with an exception for the prefrontal cortex and the amygdala which respectively present increases of 20% and 15%. All these decreases are significant according to the paired t -test comparing the test and retest regional BP. Furthermore, the exception found in prefrontal cortex, which has an apparent BP lower than 0.2 suggested that the decreases must be searched in rich regions, (over 0.4 in absolute BP) to avoid erroneous conclusions. In addition, these results highlight the impact of the spillover effect of hippocampus over the amygdala region. Output BP of amygdala are increased from input to output especially in left when hippocampus increased theoretically from 40%. Regions in which no theoretical decrease was applied between test and retest have a mean variation ranging from -3.6% (occipital pole) to 3.56% (entorhinal cortex). Only three regions over 13 present a variation parameter significantly different from 0: entorhinal cortex, temporal cortex, and lateral occipital cortex. Occipital pole presented an important standard deviation between subjects explained by the size of the region and low BP. Relative increases of 2% and 3% of the lateral occipital cortex and entorhinal cortex could be induced by BP decreases of adjacent regions in the retest data. This application of the simulated data set does not fully respond to the question of binding decrease detection between two scans of [^{18}F]MPPF, but it has the merit of accurately measuring the bias of the quantification. It is a suitable tool for the determination of the most adequate model to quantify a specific binding, and to evaluate the relevance of post reconstruction recovery techniques such as partial volume correction. These investigations could not have been conducted without a fully controlled realistic database.

V. DISCUSSION

We have constructed a database of simulated dynamic PET acquisitions. Such ground truth data are highly suitable for the evaluation of processing methods in the context of the quantification of activity and binding of ligand-receptor interaction

TABLE V
COMPARISON OF TEST AND RETEST BP COMPUTED WITH THE SRTM MODEL OVER REGIONS. PARAMETERS ARE COMPUTED FROM NOISELESS INPUT TAC OF THE SIMULATION PROCESS (LEFT PART), AND FROM MEASURED TAC AFTER MC PET ACQUISITION SIMULATION PROCESS (RIGHT PART). MEAN AND STANDARD DEVIATION WERE COMPUTED OVER 16 SIMULATED SUBJECTS. THEORETICAL $B_{\max}$ DECREASES BETWEEN TEST AND RETEST DATA SET ARE INDICATED IN THE SECOND COLUMN FOR SIX SELECTED REGIONS

Region	Test-retest Decrease	INPUT parameters					OUTPUT parameters					Test-retest Paired t-test
		Test	S.D.	Retest	S.D.	Variation	Test	S.D.	Retest	S.D.	Variation	
Frontal gyrus	No	0.68	0.24	0.68	0.24	0.00%	0.31	0.17	0.31	0.17	-0.73%	3.25%
Lateral occipital cortex	No	1.13	0.32	1.13	0.32	0.00%	0.59	0.19	0.57	0.18	2.01%	2.03%
Occipital gyrus	No	0.61	0.19	0.61	0.19	0.00%	0.40	0.14	0.40	0.14	-0.86%	2.51%
Occipital pole	No	0.42	0.21	0.42	0.21	0.00%	0.24	0.14	0.25	0.14	-3.61%	8.38%
Occipital cortex	No	0.80	0.32	0.80	0.32	0.00%	0.41	0.19	0.42	0.19	-1.68%	3.33%
Medial occipito-temporal cortex	No	0.53	0.21	0.53	0.21	0.00%	0.42	0.15	0.41	0.15	1.36%	4.15%
Parietal cortex	No	0.68	0.34	0.68	0.34	0.00%	0.31	0.22	0.31	0.22	-0.64%	6.09%
Superior parietal cortex	No	0.82	0.31	0.82	0.31	0.00%	0.45	0.22	0.45	0.22	-0.13%	2.84%
Temporal neocortex	No	0.96	0.27	0.96	0.27	0.00%	0.59	0.19	0.59	0.19	0.20%	2.14%
Temporal cortex	No	1.07	0.28	1.07	0.28	0.00%	0.68	0.19	0.68	0.19	0.86%	2.06%
Entorhinal cortex	No	1.88	0.36	1.88	0.36	0.00%	0.83	0.21	0.80	0.19	3.56%	6.22%
Anterior cingulum cortex	No	0.75	0.25	0.75	0.25	0.00%	0.48	0.18	0.48	0.19	0.72%	5.52%
Posterior cingulum cortex	No	0.84	0.26	0.84	0.26	0.00%	0.46	0.20	0.47	0.20	-0.11%	2.44%
R amygdala	Yes 20 %	0.52	0.25	0.50	0.23	9.70%	0.83	0.21	0.66	0.21	21.10%	9.67%
L amygdala	Yes 40 %	0.52	0.25	0.43	0.24	21.73%	0.81	0.22	0.93	0.23	-15.05%	15.44%
R parahippocampal gyrus	Yes 20 %	1.20	0.29	1.02	0.29	9.31%	0.61	0.19	0.53	0.19	14.05%	5.98%
L parahippocampal gyrus	Yes 40 %	1.10	0.29	0.90	0.29	18.95%	0.59	0.19	0.53	0.19	11.41%	5.28%
R hippocampus	Yes 20 %	1.81	0.36	1.57	0.33	13.22%	1.11	0.23	0.94	0.23	15.93%	5.12%
L hippocampus	Yes 40 %	1.81	0.36	1.34	0.30	25.96%	1.11	0.23	0.91	0.20	18.38%	3.38%
R insula	Yes 20 %	1.17	0.30	1.11	0.31	5.07%	0.74	0.22	0.70	0.23	5.63%	4.09%
L insula	Yes 40 %	1.17	0.30	1.05	0.30	11.23%	0.74	0.22	0.69	0.23	7.68%	5.06%
R temporal pole	Yes 20 %	1.28	0.33	1.05	0.30	17.13%	0.63	0.18	0.54	0.19	14.59%	11.53%
L temporal pole	Yes 40 %	1.28	0.33	0.92	0.29	28.93%	0.63	0.18	0.47	0.17	27.01%	6.11%
R prefrontal cortex	Yes 20 %	0.46	0.32	0.44	0.32	8.50%	0.19	0.20	0.18	0.20	-11.88%	34.22%
L prefrontal cortex	Yes 40 %	0.46	0.32	0.43	0.32	16.22%	0.19	0.20	0.19	0.21	-20.30%	49.14%

between an exogenous PET tracer, the [^{18}F]MPPF, the endogenous serotonin, and the 5-HT_{1A} receptor subtype. Construction methods for the database tried to stick with criteria of a gold standard database. We evaluated criteria defined by Lehmann to characterize such a gold data set for medical applications. These evaluations, the limits and extension of our database are discussed in this part.

A. Reliance of the Database

The construction methodology of the database avoided manual and operator-dependant steps. Indeed, segmentation and classification of the anatomical models in brain structures were conducted by automated algorithms. Although such algorithms can be biased and may lead to suboptimal solutions, they have the advantage of being deterministic and, therefore, reproducible. Two specific steps of the database generation involve random processes: the time activity curve generation for the “modeled” regions and the Monte Carlo procedure of PET acquisition with PET-SORTEO. Reproducibility of PET-SORTEO with respect to acquisition processes has been demonstrated in previous publications [2]. The selection of the model parameters was achieved following a random process subject to systematic constraints fixed from actual data observations. The reproducibility of the entire process was successfully tested by comparing randomly chosen database subsets. The comparisons were not only limited to summed images of integrated radioactivity, but were also performed on parametric images in order to ascertain the random distribution of the modeled TAC parameters as estimated by the simplified Logan and SRTM models. This test could be extended in a formal bootstrap procedure but was here judged sufficient to establish the reliance of the small samples.

B. Equivalence of the Database

The fulfillment of this criterion was evaluated according to three levels of observation. First, we performed in a spatially normalized space, a voxel to voxel comparison of the time average images computed from the actual and simulated PET

scans. Then, for each brain region, we compared the mean time activity curve measured from the simulated data sets with the analogous curve computed from the actual PET scans. And finally we compared the distribution of modeled parameters of transport and binding of the ligand over regions. The analysis evidences an important under estimation of activity in the CSF, the skull and the corpus callus, and in some parts of the venous system. These are nonmodeled regions, where TACs are issued from actual PET measurements. We suspected the quality of the segmentation, used in this case for the ROI definition, to be at the origin of an underestimation of the activity in the skull, the corpus callus, and the venous system. The underestimation of the activity within the skull region induces a lower apparent activity within the CSF region. Inversely, other extra-cortical regions are active in simulated data such as eye globes. In our numerical model, those structures were assimilated to the “scalp” structure. However, we did not observe any impact of these discrepancies over the binding parameters in cortical regions, and therefore on the ensued analysis. Nevertheless, a reflection on the quality of numerical models is required. Indeed, the methodology used to build them presents some obvious limits. Systematic bias in the segmentation process may induce significant discrepancy in the built database. This is the case with the amygdala delineation, which occurs to be systematically bigger in the right hemisphere than in the left hemisphere. While it seems to have no impact on the realism of the database, this bias might be at the origin of difference in BP variation detectability between the left and right amygdala (see Table V). Also, we must note that some functional structures, such as the raphe nucleus, have no possible automated delineation from anatomical MRI. In our study, we manually drew this structure without anatomical support, leading to possible mispositioning and inaccurate description. Finally, in real brains, we can reasonably guess that there is no such clear boundary between regions in terms of receptors density and uptakes. However, the use of discrete brain phantoms entails sharp distinction between the brain regions which may compromise the realism of the simulated PET volumes. This limit

might be partially overcome in the future by using probabilistic phantoms exhibiting softer region delineations [19]. For other regions, the TAC comparison computed from the simulated and actual data sets showed that the whole cortical and subcortical washout parts of the TAC measured from the simulated data were equivalent to the real life analogous data. This is a noteworthy fact, as it validates the employed procedure to generate the nonmodeled input TAC, and it especially comforts us about the relevance of correcting them from partial volume effects using the automated MRI segmentation. The MC simulation process led to degraded signal, and activity measured from simulated data fitted actual data. This procedure actually (somehow) validates the use of the partial volume correction algorithm. Consequently, $DV_{\log an}$ has an excellent equivalence to actual data, not only in nonmodeled TAC, but also in modeled TACs. The only detected difference is the variance of the hippocampus. This result is partially explained by the fact that we used constraints during the selection process of the nonspecific distribution volume parameters (k_1 and k_2), and affinity parameter ($k_{on}/V_r, k_{off}$). Indeed, they were individually determined by the comparison of the hippocampus selected kinetic parameters with parameters measured from actual scans. In this process, we excluded parameters set if the input hippocampus TAC exceeded mean ± 1 standard deviation at each time step of the curve. Therefore, the resulting parameter selection could be biased by this constraint. It has apparently no consequence for the identification of k_2 and R_1 parameters with the SRTM analysis, but has an influence on the variance of the BP_{SRTM} variance, in hippocampus only. A conclusion is that for a more realistic hippocampus TAC generation, the procedure of randomized compartmental model parameters selection should be less restrictive. BP and $DVA_{\log an}$ shortcomings have been evidenced in the initial part of the modeled TACs, mainly representing the tracer inflow. This is due to the fact that we did not introduce any delay and dispersion in the arterial input function according to region [20]. Arterial input functions come from a mean peripheral measurement and should include a regional delay and dispersion adapted to temporal distribution of the tracer in tissues. One consequence is the differences found in the R_1 parameter estimations for modeled regions. For a more accurate definition of regional input function in the analytic resolution of the compartmental model, a complete methodology close to the procedure of quantification employed in noninvasive modeling should be applied [21].

C. Independence

The respect of this criterion is strongly bound to the application to be evaluated, and not only to the database creation process. In the presented application here, we evaluate the accuracy and the ability of a simplified modeling technique to detect imposed BP variation on selected structures. The evaluated BP computation technique relies on a different method than the one employed for the TAC generations within the process of the database creation. Hence, we estimate that the independence criterion is fulfilled. Nevertheless, in future work, attention will be paid so as not to evaluate methods employed within the database creation process.

D. Relevance

To our understanding, the relevance of the use of a database for processing algorithm validations must be evaluated separately.

E. Significance

The size of the database is large enough to enable statistical analysis. Typical ligand PET studies involve about this amount of individual scans.

To close this discussion, we must say that the success of such an enterprise lies on many things, some of them unexpected. We first learned that the limits of such a simulated database creation are more conditioned by the knowledge and the reproduction of anatomo-functional models, than by the PET simulation process itself. As to our knowledge, there is no available set of realistic numerical brain models large enough for the creation of a database, we used an automated segmentation algorithm to generate them. While this method ascertains the realism of the models with respect to the anatomical variability, this study shows also its limits and the danger we got exposed to: we failed in detecting some systematic biases within the generated phantoms. Finally, the challenge here was to rule the biological aspect of the database, its realism is therefore dictated by the appropriateness of the model and the accuracy of the kinetic parameters employed for the time activity curve generation.

VI. CONCLUSION

We have developed and presented a method for the generation of a database of simulated MPPF PET data with inter-individual anatomical and biological variability. Such ground truth data are highly desirable for the assessment and validation of PET data correction and processing methods. The realism of the built database was successfully assessed by statistical comparisons against a base of actual MPPF PET data. Construction methods tried to meet the criteria of a gold standard database as defined by Lehmann. Although specifically built for the investigations of quantification of activity and binding of ligand-receptor with the [^{18}F]MPPF PET tracer, this database may serve the community with countless purposes. A first application of the database, concerning the detectability of the variation of the MPPF uptake is presented. This application does not fully exploit the strength of such ground truth data. Nevertheless, it hints to us that the possibilities of the presented database go beyond the simple assessment of accuracy and robustness of correction and processing algorithms. Indeed, as the biological difference between two sets of simulated data is fully controlled, such data also gives a suitable means to assess the real impact and usefulness of some corrections and parameters tuning on phenomenon detectability. The database is publicly available and is accessible.²

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to thank L. Collins, C. Pierre, C. Chardes, and A. Martinez for discussions, helpful tips, or technical assistance.

²<http://sorteo.cermep.fr>

REFERENCES

- [1] I. Castiglioni, I. Buvat, G. Rizzo, M. C. Gilardi, J. Feuardent, and F. Fazio, "A publicly accessible Monte Carlo database for validation purposes in emission tomography," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.*, vol. 32, pp. 1234–1239, 2005.
- [2] A. Reilhac, G. Batan, C. Michel, C. Grova, J. Tohka, N. Costes, and A. C. Evans, "PET-SORTEO: Validation and development of database of simulated PET volumes," *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, vol. 52, no. 5, pp. 1321–1328, Oct. 2005.
- [3] T. Lehmann, "From plastic to gold: A unified classification scheme for references standards in medical imaging processing," in *SPIE Image Processing*, E. B. K. Hansom, Ed. Bellingham, WA: SPIE, 2002.
- [4] A. Plenevaux, C. Lemaire, J. Aerts, G. Lacan, D. Rubins, W. P. Melega, C. Brihaye, C. Degueldre, S. Fuchs, E. Salmon, P. Maquet, S. Laureys, P. Damhaut, D. Weissmann, D. L. Bars, J. Pujol, and A. Luxen, "[¹⁸F]p-MPPF: A radiolabeled antagonist for the study of 5-HT_{1A} receptors with PET," *Nucl. Med. Biol.*, vol. 47, pp. 467–471, 2000.
- [5] I. Merlet, P. Ryvlin, N. Costes, D. Dufournel, J. Isnard, I. Faillenot, K. Ostrowsky, F. Lavenne, D. L. Bars, and F. Mauguier, "Statistical parametric mapping of 5-HT_{1A} receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG," *NeuroImage*, vol. 22, pp. 886–896, 2004.
- [6] I. Merlet, K. Ostrowsky, N. Costes, P. Ryvlin, J. Isnard, I. Faillenot, D. D. F. Lavenne, D. L. Bars, and F. Mauguier, "5-HT_{1A} receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: An [¹⁸F]MPPF-PET study," *Brain*, vol. 127, Feb. 2004.
- [7] L. Rbahr, V. Leviel, and L. Zimmer, "Displacement of the PET ligand 18F-MPPF by the electrically evoked serotonin release in the rat hippocampus," *Synapse*, vol. 49, pp. 239–245, 2003.
- [8] J. Sled, A. Zijdenbos, and A. Evans, "A non-parametric method for automatic correction of intensity non-uniformity in MRI data," *IEEE Trans. Med. Imag.*, vol. 17, no. 1, pp. 87–97, Jan. 1998.
- [9] C. A. Cocosco, A. P. Zijdenbos, and A. C. Evans, "A fully automatic and robust brain mri tissue classification method," *Med. Image Anal.*, vol. 7, pp. 513–527, 2003.
- [10] D. L. Collins, A. P. Zijdenbos, W. F. Baaré, and A. C. Evans, "ANIMAL+INSECT: Improved cortical structure segmentation," in *Proc. IPMI'99*, 1999, pp. 210–223.
- [11] V. Frouin, C. Comtat, A. Reilhac, and M.-C. Grégoire, "Correction of partial-volume effect for PET striatal imaging: Fast implementation and study of robustness," *J. Nucl. Med.*, vol. 43, no. 12, pp. 1715–1726, Dec. 2002.
- [12] N. Costes, I. Merlet, L. Zimmer, F. Lavenne, L. Cinotti, J. Delforge, A. Luxen, J.-F. Pujol, and D. L. Bars, "Modeling [¹⁸F]MPPF pet kinetics for the determination of 5-HT_{1A} concentration with multi-injection," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 22, pp. 753–763, 2002.
- [13] A. Reilhac, C. Lartizien, N. Costes, S. Sans, C. Comtat, R. N. Gunn, and A. C. Evans, "PET-SORTEO: A Monte Carlo-based simulator with high count rate capabilities," *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, vol. 51, no. 1, pp. 46–52, Feb. 2004.
- [14] G. Brix, J. Zaers, L.-E. Adam, M. E. Bellemann, H. Ostertag, H. Trojan, U. Haberkorn, J. Doll, F. Oberdorfer, and W. J. Lorenz, "Performance evaluation of a whole-body PET scanner using the NEMA protocol," *J. Nucl. Med.*, vol. 38, no. 10, pp. 1614–1623, Oct. 1997.
- [15] L.-E. Adam, J. Zaers, and H. Ostertag, "Performance evaluation of the whole-body PET scanner ECAT Exact HR⁺ following the IEC standard," *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, vol. 44, no. 3, pp. 299–302, Jun. 1997.
- [16] J. Logan, "Graphical analysis of PET data applied to reversible and irreversible tracers," *Nucl. Med. Biol.*, vol. 27, pp. 661–670, 2000.
- [17] R. N. Gunn, A. A. Lammertsma, S. P. Hume, and V. J. Cunningham, "Parametric imaging of ligand-receptor binding in pet using a simplified reference region model," *NeuroImage*, vol. 6, no. 6, pp. 279–287, 1997.
- [18] K. J. Friston, J. Ashburner, C. D. Frith, J.-B. Poline, J. D. Heather, and R. J. S. Frackowiak, "Spatial realignment and normalization of images," *Hum. Brain Mapp.*, vol. 2, pp. 165–189, 1995.
- [19] B. Aubert-Broche, D. Collins, and A. Evans, "A new improved version of the realistic digital brain phantom," *NeuroImage*, 2006, submitted for publication.
- [20] H. Iida, I. Kanno, S. Miura, M. Murakami, K. Takahashi, and K. Uemura, "Error analysis of a quantitative cerebral blood flow measurement using H₂(¹⁵O) autoradiography and positron emission tomography, with respect to the dispersion of the input function," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 6, pp. 536–545, 1986.
- [21] M. C. Asselin, V. J. Cunningham, S. Amato, R. N. Gunn, and C. Nahmias, "Parametrically defined cerebral blood vessels as non-invasive blood input functions for brain PET studies," *Phys. Med. Biol.*, vol. 49, pp. 1033–1054, 2004.

Résultats

Par construction, les critères d'*indépendance* et de *significativité* des jeux de données de référence étaient assurés. Nous avons donc traité les résultats en terme de *confiance* et d'*équivalence*. La reproductibilité a été testée par un bootstrap, et l'équivalence a été testée en comparaison avec les données réelles de notre base de témoins [^{18}F]MPPF. Dans le cerveau, nous n'avons trouvé aucune différence significative sur les images entre base simulée et base réelle, excepté au niveau d'une région occipitale droite. Cette différence peut s'expliquer par l'étape de segmentation. Au niveau des régions extra-corticales, il s'est avéré que la radioactivité injectée dans la région dite CSF (Fluide cérébro-spinal) était insuffisante par rapport à la réalité. Ces résultats se retrouvaient sur les courbes d'activité temporelles, qui coïncidaient avec les données réelles dans les régions corticales, mais étaient sous-évaluées dans les régions extra-cérébrales. La comparaison des paramètres BP, R_1 et k_2 , ne mettait pas en évidence de différences significatives, à quelques exceptions près (moins de 5% des régions, pour lesquelles la variance ou la moyenne des données simulées sortaient de la normalité).

L'application à la détection d'abaissement du BP montrait une utilisation possible du jeu de référence. Elle a permis de mesurer sur le BP la magnitude de variation du $B_{\max}$ de 20 ou 40%. Ainsi une réduction du $B_{\max}$ de 20% induisait une réduction du BP de 8 à 17, et une réduction du $B_{\max}$ de 40% induisait une réduction du BP de 11 à 29%. En outre, cette étude a également souligné les phénomènes de spill-over aux niveaux des régions amygdaliennes, proches de l'hippocampe.

Conclusion

Nous avons développé et présenté une méthode de génération d'un jeu de données de référence pour les acquisitions dynamiques TEP. Les défauts d'*équivalence* trouvés peuvent aisément être corrigés en modifiant les données d'entrée de la base simulée.

Cette base offre la possibilité d'optimiser et de valider de nombreux outils de traitement et correction de données, comme nous l'exposons dans les paragraphes suivants.

IV.2 Exploitation pour la détection de variation de fixation : variation de fixation, influence du ligand endogène

Contexte

Une question essentielle soulevée par l'utilisation du [^{18}F]MPPF est sa compétitivité potentielle avec la sérotonine endogène. Bien que mise en évidence chez l'animal, la déplaçabilité du [^{18}F]MPPF n'a jamais été quantifiée. Chez l'homme, il est très hypothétique de pouvoir contrôler une libération de sérotonine. C'est pourquoi la simulation est un outil précieux pour évaluer ce phénomène. Dans cette étude, notre objectif a été de simuler une augmentation soudaine et transitoire du taux de sérotonine endogène extracellulaire et de tenter d'en mesurer l'impact sur les valeurs de BP régionales mesurées par une acquisition de TEP [^{18}F]MPPF⁵.

Méthode

Nous avons créé un modèle compartimental qui tenait compte de la fonction de libération et de capture d'un ligand endogène (Figure 44).

Avec ce modèle, on peut générer, par simulation numérique, des courbes analytiques de TEP non-bruitées. Les variables de ce modèle sont les paramètres standard de transport et de liaison du [^{18}F]MPPF, ainsi que les paramètres d'association et de dissociation du ligand endogène sur le récepteur 5-HT_{1A}.

Nous avons choisi les vitesses d'association et de dissociation pour la sérotonine de telle façon que l'affinité connue de la 5-HT pour les 5-HT_{1A} (rapport des deux constantes) soit respectée, mais que les vitesses soient 100 fois plus élevées que pour le MPPF.

Les entrées du modèle sont la fonction d'entrée plasmatique de [^{18}F]MPPF et la fonction de libération de sérotonine. Nous avons placé un échelon de libération, d'une durée d'une minute, vingt minutes après injection du traceur, pour une intensité de 200% de la valeur de concentration initiale.

⁵ Costes N, Reilhac A, Martinez A, Merlet I. Displacement detectability of [^{18}F]MPPF from 5-HT_{1A} receptors by endogenous serotonin: a Monte Carlo simulation study; 2005; Amsterdam. J Cereb Blood Flow Metab. p S648-S648.

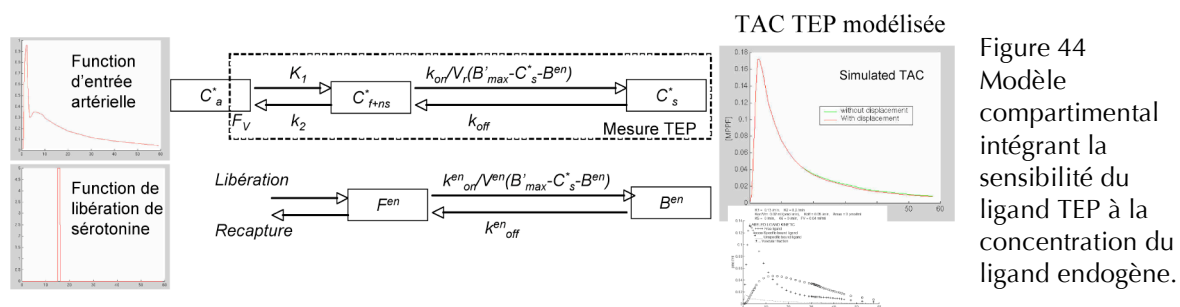


Figure 44
Modèle
compartmental
intégrant la
sensibilité du
ligand TEP à la
concentration du
ligand endogène.

Ces courbes générées (Figure 45) sont venues remplacer les courbes de la simulation décrites dans le chapitre III.1, pour les 12 régions modélisées de l'hémisphère droit seulement. L'hémisphère gauche a servi de contrôle test-retest puisque les TACs d'entrée de la simulation étaient identiques pour les deux réalisations TEP. Le processus de simulation de Monte-Carlo a été reproduit, donnant des acquisitions de TEP dynamiques avec décharge de sérotonine. Nous avons comparé les images paramétriques de BP, calculées avec les modèles SRTM et Logan, en présence ou en l'absence de décharge sérotoninergique.

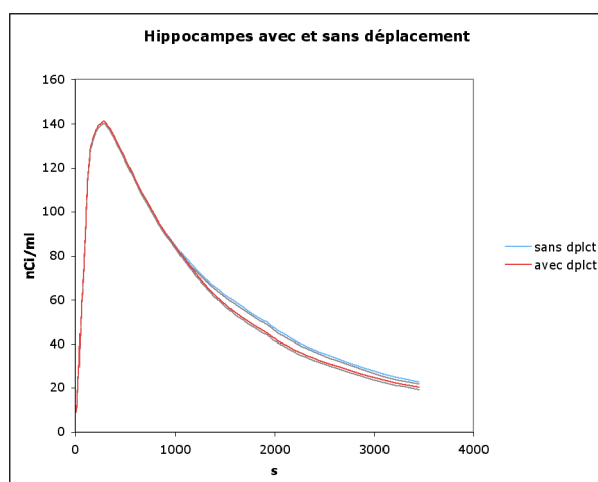


Figure 45
Courbe TEP
simulée
analytiquement à
partir du modèle
compartmental
intégrant une
composante
endogène pour une
décharge de 5-HT
à 20 minutes

Displacement detectability of [^{18}F]MPPF from 5-HT $_{1A}$ receptors by endogenous serotonin: a Monte Carlo simulation study

Nicolas Costes¹, Anthonin Reilhac^{1,3}, Axel Martinez¹, Isabelle Merlet²

¹CERMEP- Imagerie du vivant, PET centre, 59 boulevard Pinel, 69003 Lyon, FRANCE

²EA1880, Federative Institute of Neurosciences, Claude Bernard university, 69003 Lyon, FRANCE

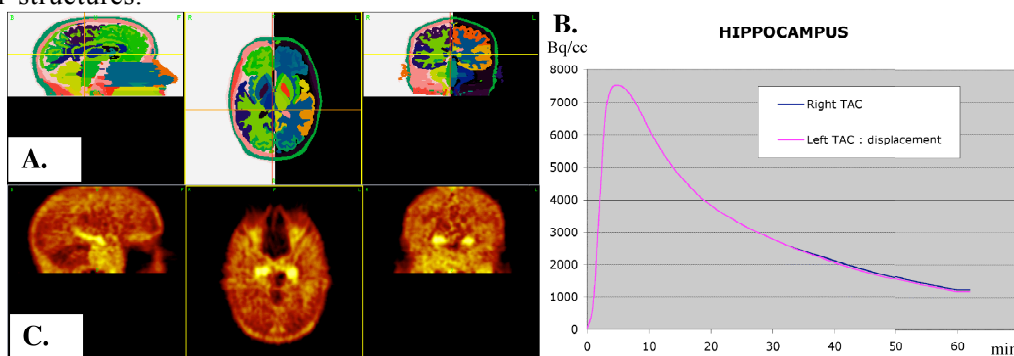
³Mc Connell Brain Imaging Centre, Montreal Neurological Institut, Mc Gill university, Montreal, QUEBEC, CANADA

Introduction: 5-HT $_{1A}$ receptors are largely involved in psychiatric and neurological disorders such as depression, schizophrenia, dementia, or epilepsy. The MPPF fluorine 18 labeled tracer, competitor to endogenous serotonin binding on 5-HT $_{1A}$ receptors [1], has been quantified and validated for clinical investigations [2]. Studies in rat [3] have shown that variations in serotonin concentration can be detected with MPPF, which would be of particular interest for human *in vivo* examination. Although theoretically, the discrimination of a displacement in non-noisy modeled kinetic is obvious, it may be undetectable in noisy real conditions of measure with PET.

Objective: The aim of this study was to evaluate the detectability of a displacement of MPPF binding consecutive to a serotonin release on a Monte-Carlo simulated PET data set.

Methods: Six MPPF PET dynamic data set were simulated with the SORTEO Monte-Carlo simulator [4] reproducing the physical disintegration process, the photon transport and the detection by CTI Exact HR+ camera. Emission volumes came from segmented MRI brain images classified in labeled cortical and subcortical brain structures (Fig A.). In regions rich in 5-HT $_{1A}$ receptor, emission kinetics were analytically simulated from the compartmental model. Regions from the right hemisphere had a standard kinetics resulting from a single bolus injection of [^{18}F]MPPF tracer dose, whereas homologous regions of the left hemisphere resulted from a more complex model including an endogenous compartment from which a release of serotonin was simulated 20 minutes post-injection (Fig B). In regions poor in 5-HT $_{1A}$ receptors and in background, kinetics were extracted from actual PET data obtained from a normative database acquired with our HR+ camera. After the simulation of PET acquisition processes (Fig C), regional time-activity curves were extracted from dynamic PET data to compute MPPF binding parameters with an adequate model. Parametric images were also computed. A statistical analysis of normal regions versus regions with displacement was performed to detect serotonin concentration modifications, both in ROI level and in a voxel based level with SPM. Simulated data were compared with actual data to evaluate realism of the simulations and detectability of displacement.

Results: Comparisons between left and right mean ROI values revealed a significant difference induced by the serotonin release. The individual SPM analysis did not reveal significant differences with normal subjects, whereas in the SPM group analysis, significant differences were found in some clusters located in regions with displacement. In conclusion, the sensitivity for detecting a displacement depended on the availability of 5-HT $_{1A}$ receptor, the number of subjects, and the size of cortical structures.



[1] Zimmer L, et al., JNeurochem 2002; 80: 278-86

[2] Costes N, et al. JCBF 2002; 22: 753-763

[3] Rbahi L, Synapse. 2003 ; 49(4):239-45

[4] Reilhac, et al. IEEE TNS 2004; 51: 46-52

Résultats

Avec le modèle SRTM, sur un ensemble de 16 sujets, les variations relatives moyennes de BP entre test et retest avec déplacement étaient de 1,4 %. Cette différence (test-t apparié) était significative lorsque toutes les régions avec déplacement étaient regroupées. Dans les régions ne comportant pas de déplacement (simple test-retest) la différence relative moyenne n'était pas significative. Une analyse plus fine des résultats région par région a permis de détecter un déplacement dans 4 régions sur 12 (pôle temporal, gyrus parahippocampique, hippocampe et amygdale). Les statistiques avant simulation ne donnaient pas un taux de chance supérieur. En utilisant le DVR, nous n'avons pas pu détecter de déplacement. Les fausses détections (les régions n'ayant pas eu de déplacement) montraient globalement une différence non-significative, mais régionalement, une différence significative dans le gyrus frontal et le gyrus temporal entre déplacement et non-déplacement.

Au moyen des cartes statistiques paramétriques nous n'avons pas réussi à détecter des modifications que ce soit à partir des images paramétriques de BP, ou à partir des images DVR.

Conclusion

La puissance statistique permettant la détection d'une très faible variation de signal induite par la présence d'une décharge transitoire de sérotonine endogène en cours d'acquisition n'est pas atteinte dans l'échantillon de 16 sujets, à un niveau régional. En revanche elle est atteinte pour l'ensemble des régions. Le BP SRTM est plus sensible que le DVR pour ce type de détection, comme le montre d'ailleurs la formule littérale du BP SRTM (Equation 46). À ce jour, nous n'avons pas poussé l'investigation plus avant, cependant l'outil que nous avons mis en place montre que l'on pourrait déterminer des conditions de challenges de la décharge de sérotonine différentes de l'exemple unique que nous venons de présenter. Yoder *et al.* ont en effet montré l'extrême sensibilité des paramètres de challenge de la décharge sur la détectabilité TEP (Yoder, *et al.* 2004). Il apparaît alors intéressant de rechercher les meilleures conditions de réalisation d'une telle détection. En particulier, la sensibilité intrinsèque du traceur [¹⁸F]MPPF pourrait être évaluée à partir de l'analyse de cinétiques simulées avec la méthodologie décrite dans (Morris and Yoder 2007). Le choix du modèle compartimental est également déterminant. Il serait possible de générer, sur la base des outils de simulation réaliste présentés dans ce travail, des expériences multi-injections à partir d'un modèle complexe décrit dans (Delforge, *et al.* 1990), puis de tenter de simplifier la détection à partir des travaux de (Maeda, *et al.* 2001).

On peut aussi, grâce à cet outil de simulation réaliste, déterminer la taille des échantillons nécessaire pour détecter sur un groupe une modification de la fixation du MPPF due à un déplacement par la 5-HT endogène. À ce jour, et avec le protocole de décharge transitoire envisagée dans notre

exemple, il paraît très peu vraisemblable de pouvoir détecter un déplacement à un niveau individuel.

IV.3 Exploitation pour la validation d'outils de correction : correction de l'effet de volume partiel

Contexte

Le phénomène d'effet de volume partiel a été exposé dans le paragraphe I.2.4. Ce biais de quantification est problématique dès lors que l'on souhaite obtenir une quantification absolue fiable et non-biaisée de la fonction biologique observée par la mesure TEP. Néanmoins, dans des conditions de répétitions de la mesure, c'est-à-dire par exemple pour la comparaison test-retest d'une mesure, ce biais dû à l'EVP est identique sur les deux mesures, du fait qu'il est inhérent à la taille de la structure mesurée et non pas à l'activité. En revanche, lorsque l'on compare des mesures réalisées sur des structures de taille différentes, il devient crucial de prendre en compte l'EVP. Dans le cas du [^{18}F]MPPF, on constate que les valeurs de BP observées sur les noyaux du raphé sont deux fois inférieures aux valeurs de l'hippocampe. Or, on sait que, dans la réalité, la concentration de récepteurs 5-HT_{1A} dans le raphé est très nettement supérieure à celle des hippocampes. Une comparaison aussi simple que celle des volumes émetteurs (moins de 1 cm³ pour le raphé et quelques cm³ pour les hippocampes) explique en grande partie de cette erreur de quantification. Le problème de l'EVP se pose également lorsque l'on effectue des comparaisons entre populations présentant des structures cérébrales de taille et de forme différentes. C'est le cas en particulier lorsque l'on compare une population saine et population présentant une atrophie morphologique.

L'objectif de cette étude a été de d'implémenter une méthode de correction de volume partiel, d'évaluer ses performances sur la récupération du BP en termes de biais, et d'évaluer l'effet sur le bruit, grâce à l'utilisation d'un jeu de données de référence obtenues par simulation de Monte-Carlo (voir chapitre III.1). Par extension, nous avons utilisé un jeu de données de référence, dans une population dite « atrophique », pour démontrer l'efficacité de la récupération quantitative⁶.

Méthode

L'évaluation de la méthode GTM pour la mesure quantitative de BP par la méthode SRTM sur des données acquises en [^{18}F]MPPF a été réalisée pour deux jeux de données de référence. Le premier comportait 16 sujets sains (décrit dans III.1). L'autre comportait 8 sujets virtuels pour lesquels une atrophie hippocampique de 40% en volume avait été générée par érosion de la structure hippocampique normale. À partir des images IRM

⁶ Costes N, Reilhac A. Evaluation of PET tracer binding recovered by partial volume correction technique in case of hippocampic atrophy; 2006; San Diego. IEEE Medical Imaging Conference.

segmentées, nous avons appliqué la méthode GTM aux TACs extraites après simulation de l'acquisition par SORTEO. Les TACs corrigées ont été modélisées par SRTM et les valeurs régionales quantitatives de BP, k_2 et R_1 ont été comparées aux valeurs non corrigées, ainsi qu'aux valeurs d'entrée de la simulation. Dans les cas atrophiques, nous avons injecté avant simulation dans les hippocampes les mêmes courbes d'activité temporelles que dans le cas normal.

Evaluation of PET Tracer Binding Recovered by Partial Volume Correction Technique in Case of Hippocampus Atrophy

Nicolas Costes, Anthonin Reilhac

Abstract Analysis of binding potential of cerebral PET tracer have a major interest in clinical applications. Because of the limited resolution of PET, partial volume effect (PVE) affects the quantitative measurements. Therefore, physiological interpretation of functional data may be confusing when signal intensity is affected by structural difference of emitting regions, such as atrophy for example. This study presented here aimed at addressing the impact PVE correction on the BP calculated from small groups of dynamic PET studies.

With a well-controlled dynamic PET database of simulated [^{18}F]MPPF PET data incorporating inter-individual anatomical and biological variability, we estimated the recovery of true binding potential in specific regions and in case of structural atrophy. Partial volume correction based on geometrical transfer matrix calculation was applied to regional kinetics. Input, output and corrected output transport and binding parameters were compared. Results showed an excellent recovery of true values, and revealed the necessity to correct for PVE to avoid false interpretation of binding decrease, specially tested for the hippocampic atrophic case.

I. INTRODUCTION

The *in vivo* exploration of the 5HT_{1A} receptors with [^{18}F]MPPF PET imaging has particular interest in limbic areas known to be rich in 5HT_{1A} receptors. In some pathological cases involving serotonergic system such as Alzheimer disease, or epilepsy, biological interpretation of tracer binding potential (BP) level may be confusing due to the partial volume effect (PVE). Indeed in case of structural atrophy of emitting regions such as the hippocampus, the partial volume effect induces a reduction of the apparent BP that can be confounding with an actual reduction of the BP due to the pathology. Necessity to correct for PVE has been demonstrated, and different recovery methods have been validated [1]. Sensitivity to noise of PVE correction methods have been evidenced and may lead to uncertain statistical result interpretations when comparing binding parameters of experimental groups [2, 3].

A rigorous quantitative study of the impact of correction method on binding parameters as BP has to be performed. Because ground truth of *in vivo* binding can not be access, this assessment is conducted using well-controlled PET images from a database of simulated [^{18}F]MPPF PET data which incorporates inter-individual anatomical and

biological variability [4]. In addition to offering PET data mirroring real life normal MPPF data, the database also contains a group of patients exhibiting predefined atrophic regions. The study presented here aimed at evaluating the impact of PVE correction on the accuracy of the BP estimated in study when comparing BP from small groups in dynamic PET studies.

II. MATERIAL AND METHODS

A. Simulation

Our study is based on numerical phantoms. Sixteen different brain numerical models describing 32 anatomical structures are available. These brain models can be seen as 16 virtual subjects. For 8 brain phantoms, the hippocampus regions were extracted and replaced by atrophic hippocampus obtained by morphomathematical erosion. Normal hippocampus have a volume of $4327 \pm 151 \text{ mm}^3$, and atrophic hippocampus have volume's reduction of $41.5 \pm 1.7 \%$, as found in recent actual study with AD in our lab. Time Activity Curves (TACs) and numerical phantoms used as activity maps for the generation of data with the simulation code were derived from actual human PET [4]. In addition, a 3-compartment model was used to analytically generated TACs of regions rich in 5HT_{1A} so as to fully control the kinetics and especially the binding parameters (see [5] for details). Emission and transmission PET data were simulated using the PET SORTEO Monte Carlo PET simulator, modeling the Ecatt Exact HR+ scanner operating in 3D mode acquisition. This simulator allows generating realistic data in accordance with the numerical phantom description as well as with the scanner geometry and physical characteristics. A complete description of the simulator and some validation results can be found in [6, 7]. Two set of data were generated: 16 dynamic brain MPPF acquisitions without atrophy, and 8 brain acquisitions from the same TACs using the phantoms with atrophic hippocampi.

B. Reconstruction

A 3D set of attenuation factors was derived from the transmission data and a high statistic blank scan for our head model. Emission data were normalized, and corrected for random, scatter, attenuation, dead-time and radio-element decay before reconstruction. Data were reconstructed with FBP (Hanning 0.5) leading to 35 time frames of 63 slices (128×128 voxels, dimensions: $2.01 \times 2.01 \times 2.42 \text{ mm}^3$, reconstruction zoom=2.5).

Nicolas Costes is with the CNRS, in the CERMEP – imagerie du vivant, Lyon PET centre, 59 boulevard Pinel, 69677 Bron, FRANCE, (Phone: 33-472-68-86-13, e-mail: costes@cermep.fr), and also with the INSERM U280 Mental process and cerebral activation laboratory, Centre hospitalier le Vinatier, 95 boulevard Pinel, 69500 Bron, FRANCE.

Anthonin Reilhac is with the CNRS, in the CERMEP – imagerie du vivant, (Phone: 33-472-68-86-13, e-mail: reilhac@cermep.fr).

TABLE 1
R₁ PARAMETER . N = 16

ROI NAME	R1 in	R1 out	% R1out - R1in	R1corr	% R1corr - R1in
	mean ± SD	mean ± SD	mean ± SD	mean ± SD	mean ± SD
Frontal Gy	1.16 ± 0.18	0.88 ± 0.13	-23.7% * ± 1.7%	1.18 ± 0.19	2.1% ± 1.6%
Prefrontal Ctx	0.61 ± 0.15	0.63 ± 0.11	3.9% ± 7.8%	0.63 ± 0.16	2.5% ± 3.6%
Ant. Cing Ctx	0.70 ± 0.13	0.75 ± 0.12	8.6% ± 9.0%	0.77 ± 0.15	10.7% ± 11.3%
Post Cing Ctx	0.74 ± 0.15	0.69 ± 0.11	-5.6% ± 4.3%	0.73 ± 0.13	-0.8% ± 3.4%
Parietal	1.17 ± 0.24	0.89 ± 0.16	-23.8% * ± 2.5%	1.22 ± 0.25	3.6% ± 1.3%
Inf. Parietal Ctx	0.74 ± 0.16	0.70 ± 0.13	-4.7% ± 4.0%	0.77 ± 0.17	3.0% ± 2.2%
Temporal Neo Ctx	0.77 ± 0.15	0.73 ± 0.11	-4.6% ± 3.8%	0.81 ± 0.16	5.7% ± 2.7%
Temporal Ctx	0.94 ± 0.16	0.81 ± 0.11	-13.5% * ± 3.0%	0.94 ± 0.16	0.5% ± 2.0%
Tempal pole	0.70 ± 0.09	0.64 ± 0.07	-7.3% ± 3.6%	0.67 ± 0.09	-3.5% ± 4.4%
Entorhinal Ctx	0.86 ± 0.13	0.69 ± 0.10	-19.4% * ± 7.7%	0.85 ± 0.19	-1.5% ± 13.7%
Lat. Occipito-temp Ctx	1.16 ± 0.19	0.96 ± 0.12	-16.1% * ± 3.6%	1.19 ± 0.19	3.0% ± 2.5%
Amygdala	0.58 ± 0.10	0.69 ± 0.08	20.4% * ± 14.9%	0.59 ± 0.15	2.9% ± 26.6%
Parahipp Ctx	0.76 ± 0.13	0.76 ± 0.09	1.2% ± 6.8%	0.77 ± 0.12	3.1% ± 10.4%
Occipital pole	1.09 ± 0.19	0.95 ± 0.14	-12.8% * ± 4.6%	1.08 ± 0.19	-1.5% ± 2.4%
Occipital Gy	1.29 ± 0.18	1.08 ± 0.13	-15.9% * ± 2.1%	1.32 ± 0.19	2.9% ± 1.0%
Occipital Ctx	0.74 ± 0.16	0.73 ± 0.13	-0.1% ± 5.9%	0.77 ± 0.19	4.5% ± 5.6%
Insular Ctx	0.84 ± 0.15	0.80 ± 0.12	-4.0% ± 4.3%	0.88 ± 0.15	4.9% ± 4.6%
Hippocampus	0.86 ± 0.13	0.79 ± 0.11	-7.7% ± 3.7%	0.93 ± 0.18	7.8% ± 7.5%
Raphe Nuclei	2.15 ± 0.33	1.02 ± 0.21	-52.3% * ± 9.1%	2.08 ± 0.70	-3.2% ± 29.7%

R₁ (min⁻¹/min⁻¹), ROI to reference regional k₁ ratio modeled with SRTM on 16 simulated cases ; SD; Standard deviation; * Student t, p<0.05

TABLE 2
k₂ PARAMETER . N = 16

ROI NAME	k2 in	k2 out	% k2out - k2in	k2corr	% k2corr - k2in
	mean ± SD	mean ± SD	mean ± SD	mean ± SD	mean ± SD
Frontal Gy	0.21 ± 0.06	0.17 ± 0.04	-19.6% * ± 4.4%	0.22 ± 0.06	3.9% ± 6.6%
Prefrontal Ctx	0.31 ± 0.07	0.23 ± 0.05	-26.0% * ± 5.6%	0.33 ± 0.07	7.4% ± 6.5%
Ant. Cing Ctx	0.32 ± 0.07	0.26 ± 0.06	-14.0% ± 9.4%	0.35 ± 0.09	7.3% ± 16.1%
Post Cing Ctx	0.36 ± 0.07	0.29 ± 0.06	-18.6% * ± 2.7%	0.38 ± 0.08	5.7% ± 7.8%
Parietal	0.24 ± 0.07	0.20 ± 0.05	-14.4% ± 5.0%	0.25 ± 0.07	7.6% ± 7.4%
Inf. Parietal Ctx	0.37 ± 0.06	0.28 ± 0.05	-22.8% * ± 3.7%	0.40 ± 0.07	7.2% ± 6.6%
Temporal Neo Ctx	0.34 ± 0.06	0.26 ± 0.05	-23.2% * ± 3.1%	0.34 ± 0.06	1.9% ± 5.2%
Temporal Ctx	0.20 ± 0.04	0.17 ± 0.03	-13.4% ± 4.1%	0.19 ± 0.04	-3.1% ± 4.0%
Tempal pole	0.20 ± 0.04	0.15 ± 0.03	-21.7% * ± 4.9%	0.18 ± 0.03	-9.0% ± 7.4%
Entorhinal Ctx	0.24 ± 0.04	0.20 ± 0.04	-16.4% * ± 11.4%	0.26 ± 0.07	10.5% ± 22.1%
Lat. Occipito-temp Ctx	0.23 ± 0.06	0.18 ± 0.04	-18.5% * ± 4.9%	0.23 ± 0.06	3.4% ± 5.8%
Amygdala	0.24 ± 0.05	0.23 ± 0.06	-6.4% ± 10.2%	0.26 ± 0.12	2.9% ± 38.2%
Parahipp Ctx	0.27 ± 0.05	0.21 ± 0.05	-22.7% * ± 5.4%	0.29 ± 0.08	6.4% ± 16.1%
Occipital pole	0.14 ± 0.04	0.12 ± 0.03	-13.9% ± 16.6%	0.14 ± 0.04	2.4% ± 17.9%
Occipital Gy	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.03	-6.0% ± 4.4%	0.15 ± 0.04	1.7% ± 8.6%
Occipital Ctx	0.37 ± 0.07	0.26 ± 0.06	-28.8% * ± 5.3%	0.39 ± 0.09	5.5% ± 8.4%
Insular Ctx	0.36 ± 0.07	0.31 ± 0.06	-12.3% ± 5.7%	0.40 ± 0.08	12.0% ± 8.3%
Hippocampus	0.24 ± 0.04	0.22 ± 0.04	-9.5% ± 9.4%	0.25 ± 0.04	4.0% ± 8.9%
Raphe Nuclei	0.59 ± 0.10	0.17 ± 0.04	-72.0% * ± 7.0%	0.50 ± 0.12	-15.3% * ± 19.7%

k₂ (min⁻¹), ROI regional tissue to vascular compartment transport rate modeled with SRTM on 16 simulated cases ; SD; Standard deviation; * Student t, p<0.05

C. Analysis

For each reconstructed dynamic simulated PET volume, the time activity curves (TACs) were measured in the 32 structural regions. Output TACs were corrected from partial volume effect using the geometric transfer matrix (GTM) correction methods [2] with the numerical brain phantom of the 32 ROIs used as the input structural data. Individual GTM matrix gives correction coefficient for within region spill-in and between regions spill-over effect.

D. Binding parameter modeling

In 19 tracer specific cortical and sub-cortical regions (list in Table 1, 2, and 3), transport and binding potential of the tracer were computed with the simplified tissue reference model (SRTM) method [8] with the cerebellum being the reference regions. This method of parameter identification is based on a three compartment model (vascular, free&non-specific, and specific compartments). It provides three parameters of the ligand transport and binding:

TABLE 3

BP PARAMETER, N = 16

ROI NAME	BP in	BP out	% BPout - BPin	BPcorr	% BPcorr - BPin
	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD
Frontal Gy	0.68 $\pm$ 0.24	0.31 $\pm$ 0.16	-58.3% * $\pm$ 11.2%	0.67 $\pm$ 0.23	-0.9% $\pm$ 2.6%
Prefrontal Ctx	0.49 $\pm$ 0.30	0.22 $\pm$ 0.19	-75.7% * $\pm$ 45.8%	0.48 $\pm$ 0.29	-0.4% $\pm$ 7.5%
Ant.Cing Ctx	0.76 $\pm$ 0.25	0.48 $\pm$ 0.18	-37.3% * $\pm$ 8.1%	0.76 $\pm$ 0.23	1.9% $\pm$ 7.0%
Post Cing Ctx	0.83 $\pm$ 0.25	0.46 $\pm$ 0.19	-47.0% * $\pm$ 8.6%	0.80 $\pm$ 0.24	-4.2% $\pm$ 3.5%
Parietal Ctx	0.69 $\pm$ 0.32	0.31 $\pm$ 0.21	-60.2% * $\pm$ 15.4%	0.69 $\pm$ 0.32	0.2% $\pm$ 4.7%
Inf. Parietal Ctx	0.82 $\pm$ 0.30	0.45 $\pm$ 0.22	-47.6% * $\pm$ 7.7%	0.85 $\pm$ 0.31	4.1% $\pm$ 3.4%
Temporal Neo Ctx	0.96 $\pm$ 0.27	0.59 $\pm$ 0.19	-39.0% * $\pm$ 4.8%	1.00 $\pm$ 0.27	4.5% $\pm$ 3.6%
Temporal Ctx	1.08 $\pm$ 0.27	0.69 $\pm$ 0.19	-36.4% * $\pm$ 3.3%	1.04 $\pm$ 0.26	-3.9% $\pm$ 2.5%
Tempal pole	1.27 $\pm$ 0.30	0.63 $\pm$ 0.18	-51.3% * $\pm$ 2.5%	1.05 $\pm$ 0.27	-17.5% * $\pm$ 3.6%
Enthorinal Ctx	1.92 $\pm$ 0.38	0.84 $\pm$ 0.21	-56.1% * $\pm$ 4.6%	1.83 $\pm$ 0.39	-4.6% $\pm$ 6.5%
Lat.Occipito-temp Ctx	1.13 $\pm$ 0.31	0.58 $\pm$ 0.18	-48.6% * $\pm$ 3.0%	1.05 $\pm$ 0.31	-7.3% $\pm$ 3.1%
Amygdala	0.53 $\pm$ 0.24	0.82 $\pm$ 0.22	75.9% * $\pm$ 62.4%	0.60 $\pm$ 0.30	14.8% $\pm$ 29.5%
Parahipp Ctx	1.11 $\pm$ 0.29	0.59 $\pm$ 0.18	-46.7% * $\pm$ 5.0%	0.99 $\pm$ 0.28	-10.9% $\pm$ 5.3%
Occipital pole	0.43 $\pm$ 0.21	0.24 $\pm$ 0.14	-44.1% * $\pm$ 19.1%	0.35 $\pm$ 0.20	-20.4% $\pm$ 12.8%
Occipital Gy	0.61 $\pm$ 0.19	0.38 $\pm$ 0.15	-39.0% * $\pm$ 4.7%	0.61 $\pm$ 0.19	-0.4% $\pm$ 3.1%
Occipital Ctx	0.81 $\pm$ 0.31	0.42 $\pm$ 0.19	-49.7% * $\pm$ 6.3%	0.81 $\pm$ 0.31	0.0% $\pm$ 3.9%
Insular Ctx	1.17 $\pm$ 0.30	0.73 $\pm$ 0.22	-37.8% * $\pm$ 6.1%	1.22 $\pm$ 0.30	4.4% $\pm$ 3.9%
Hippocampus	1.80 $\pm$ 0.34	1.12 $\pm$ 0.22	-38.0% * $\pm$ 2.9%	1.89 $\pm$ 0.35	5.0% $\pm$ 3.9%
Raphe Nuclei	5.99 $\pm$ 0.89	1.00 $\pm$ 0.28	-83.4% * $\pm$ 3.3%	5.44 $\pm$ 0.99	-8.9% $\pm$ 12.0%

BP (pmol.min⁻¹/pmol.min⁻¹), Binding potential, modeled with SRTM on 16 simulated cases ; SD; Standard deviation; * Student t, p<0.05

R_1 (min⁻¹/min⁻¹), which is the ratio of entrance rate k_1 (min⁻¹), from vascular compartment to the free&non-specific tissue compartment in the ROI to the k_1 in reference region.

$$R_1 = k_{1ROI}/k_{1REF}$$

k_2 (min⁻¹), which is the washout transport rate from free&non-specific compartment to vascular compartment;

BP (pmol.min⁻¹/pmol.min⁻¹) which is the binding potential (BP), defined as the ratio of specific available receptor concentration B_{max} (pmol.ml⁻¹), to the receptor affinity for the tracer K_d (pmol.ml⁻¹). BP = B_{max}/K_d

For the 19 specific ROIs of each subject, the model was applied to noise free TACs used as input of the Monte-Carlo simulation (R_{1in} , k_{2in} and BP_{in}). It was then applied to output uncorrected TACs, (R_{1out} , k_{2out} and BP_{out}), and to PVC corrected TACs (R_{1corr} , k_{2corr} and BP_{corr}).

III. RESULTS

Results of the BP, R_1 , k_2 regional parameters identification with TACs are reported for 19 regions of interest in Tables 1, 2, 3.

R_1 parameter

In Tables 1, input R_1 parameter goes from 0.58 to 2.15, whereas, after the PET simulation process, output R_1 goes from 0.63 to 1.08. After PVC correction, R_1 goes from 0.59 to 2.08. Table 1 also reports the mean error term between input R_1 and corrected and uncorrected output R_1 . Uncorrected data have a bias of -52 % in raphe nuclei to +20.4 % in Amygdala with typical error of 9 % and 15 % respectively. Although partial volume effect did not specially affect the R_1 parameter, 50% of the regions presented a statistically significant bias: in Frontal gyrus, in parietal, temporal, enthorinal, lateral occipito temporal cortices, in amygdala, occipital pole and gyrus. These regions are very closed to the main vascular venous and arterial network, and consequently suffered from spill-over effect. For corrected data, bias goes from -3.5 % in temporal pole to +10.7 % in anterior cingulate gyrus, with

a respective typical error 4.4 and 11.3 %, but none of these differences were statistically significant. PVC accurately corrected the blood spill over effect.

k_2 parameter

Table 2 reports comparisons of k_2 parameters computed from input, output and corrected TACs. Input k_2 is quite homogenous in cerebral regions (form 0.14 to 0.36), except in raphe nuclei (0.59). Output uncorrected k_2 goes from 0.10 to 0.20 in cerebral regions, and is largely underestimated in raphe nuclei with a value of 0.17. Corrected k_2 goes form 0.11 to 0.40 in cerebral regions, and is recovered to 0.50 in raphe nuclei. Results revealed that bias is systematically negative (from -72 % to -6 %) and statistically significant for 11 regions. Other regions are closed to the significance, except amygdala, occipital gyrus and hippocampus. Bias of corrected values is centered on zero, going from -15 % in the raphe nucleus, to +12 % in insular cortex. The typical error is sometimes excessive as in amygdala (38 %). Partial volume effect is accurately corrected (no more significant bias), except in raphe nucleus, where bias of 15 % remains significant.

BP parameter

Table 3 reports binding potential parameters of the tracer. Input regional binding goes from 0.43 in occipital pole, to 1.80 in hippocampus. It has a special density of 6 in raphe nuclei known to be particularly rich in 5HT_{1A} receptors. In output, BP goes from 0.22 to 1.12. Raphe nuclei has uncorrected BP of 1.0. Table 3 revealed a systematic significant bias from -36 to -83 % (raphe nuclei). Corrected BP restore interval BP values from 0.35 to 1.89. Raphe nuclei is restored to 5.44. Bias of corrected BP is round zero, with extrema in occipital pole (-20 %) and hippocampus (+ 5%). Typical error is particularly high in amygdala, but relatively small in other regions. Only the region of temporal pole still had a significant bias of 17 % after PVC correction. Variance comparison of input and output data revealed that : for uncorrected BP, within region variance is significantly different from input in 4 regions, whereas it has no differences between input and corrected output variance. Within subject variance is

systematically different for the 16 cases between input and uncorrected output BP, whereas, it is never different between input and corrected output BP.

A linear correlations between input BP with corrected and uncorrected output BP are presented for individual cases in fig. 4. For all virtual cases, slopes of the regression curves go from 0.02 to 0.44, mainly affected by the raphe nuclei influence, whereas slopes of corrected data are in the interval of 0.62 (case #13) to 1.15. Corrected values has a excellent correlation coefficient (over 0.95, except in case #13). Individual paired t-test between input and output BP values revealed significant differences with uncorrected BP, whereas, it does not detect any differences with corrected

BP (except with case 13, $p = 0.02$).

These comparisons validate the use of the GTM method as a mean to improve the estimations for regions of various shape and size. In most of the small regions, the correction led to BP values close to the theoretical values. Some small regions adjacent to very specific regions have a corrected BP inferior to uncorrected BP. This is the case of amygdala region that have mean BP out of 0.82 ± 0.22 , and a corrected BP of 0.60 ± 0.30 , close to the theoretical value of 0.53 ± 0.24 . This indicates that spill over effect due to the contamination of hippocampus activity over the amygdala is also well corrected.

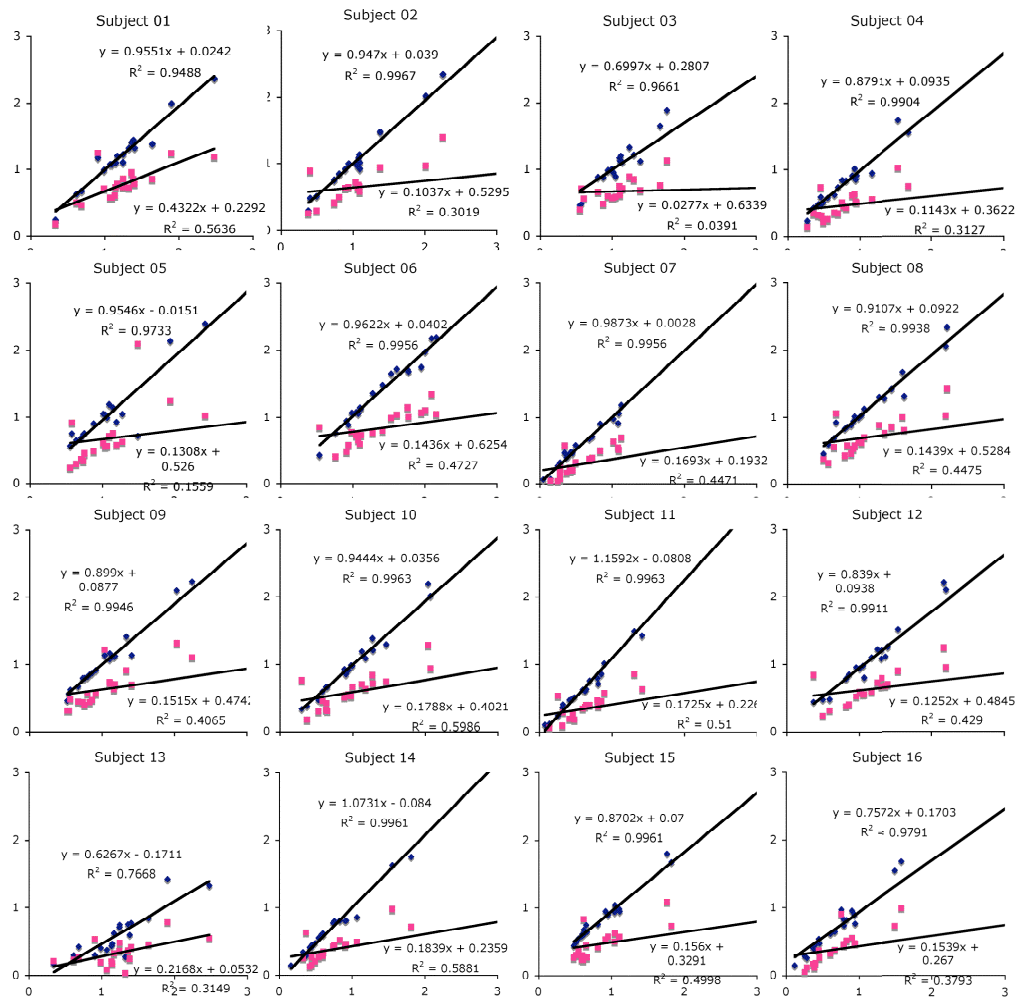


Fig. 1 : Scatter plot and linear regression of output parameter BP, versus input parameter BP for the 16 cases. In red squares, uncorrected output BP (BPout), in bleu diamond, PVC corrected BP (BPcorr). Linear equation and regression coefficient are given for each cases

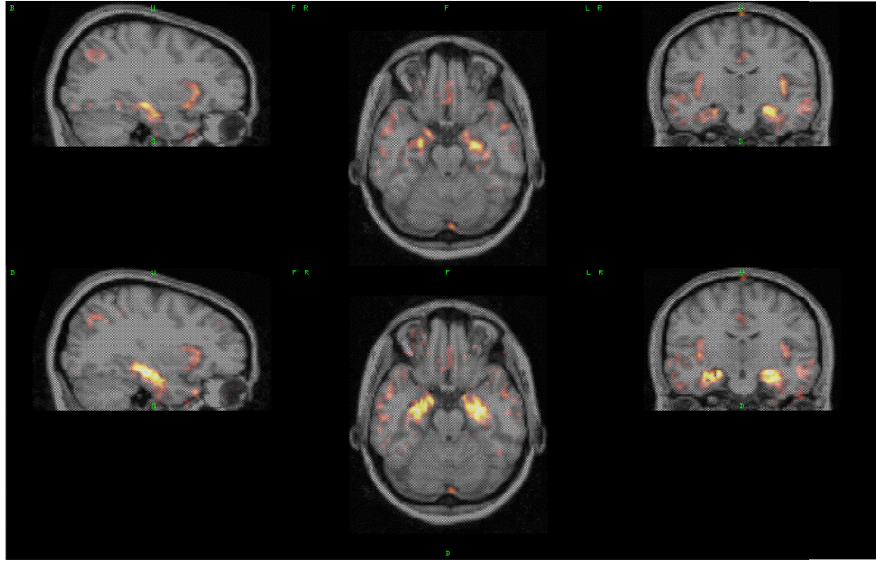


Fig 2 : TOP, BP parametric image of MPPF binding of a simulated atrophic case. BOTTOM, parametric image of MPPF binding of a simulated non-atrophic case generated with same input radioactivity values.

IV. APPLICATION

The effect of atrophy is illustrated in Fig. 2. Parametric images of uncorrected BP presented with the same look up table on an MRI reveal an apparent hypo binding in the hippocampus region of the atrophic case (top) compared to the normal case (bottom). The visual effect is induced by the partial volume effect only. This apparent difference is confirmed by mean regional BP measurement on hippocampus (Fig. 3) : whereas input BP (in blue) was the same in atrophic and normal cases, uncorrected output BP (in red) in atrophic cases was 0.89 ± 0.23 and in normal cases 1.18 ± 0.24 . The difference between atrophic and

non-atrophic BPout of 24% was statistically significant. After partial volume correction (BPcorr, in green), the effect of atrophy on BP parameter estimation is compensated: comparison of atrophic and non-atrophic cases did not reveal significant differences.

V. CONCLUSION

These study evidences the need of using PVE correction method with dynamic brain acquisitions. Accurate binding potential are obtained even in case of structural atrophy. These database would also be employed to as a well controlled gold standard to test new correction methods.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Pierre Krolak and Lydie Truchot from the Lyon neurological hospital for providing actual PET data.

REFERENCES

- [1] J. A. Aston, et al. *J Cereb Blood Flow Metab*, vol. 22, pp. 1019-34, 2002.
- [2] V. Frouin et al. *IEEE Medical Imaging Conference, Lyon, 2000*.
- [3] A. Reilhac, et al. *IEEE Medical Imaging Conference, Lyon, 2000*.
- [4] N. Costes, et al. *JNM*, vol. 46, pp 1980-89, 2005
- [5] A. Reilhac, et al. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. in press, 2006.
- [6] A. Reilhac, et al. *IEEE Transactions on Nuclear Science*, vol. 51, pp. 46-52, 2004.
- [7] A. Reilhac, et al. *IEEE Transactions on Nuclear Science*, vol. 52, 2005.
- [8] R. N. Gunn, et al. *Neuroimage*, vol. 6, pp. 279-287, 1997.

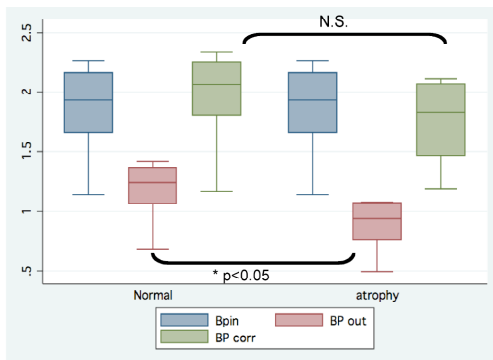


Fig 3 : Box-plot of hippocampic input (blue), uncorrected-output (red) and corrected output (green) BP in 8 Normal and 8 atrophic cases .

Résultats

PARAMETRE BP

Nous avons pu mettre en évidence une récupération de très bonne qualité. L'effet de volume partiel induisait un biais de 36 à 83%. Après correction ce biais était centré autour de zéro, s'échelonnant entre -12 à +15% selon les régions. Seul le pôle temporal présentait un biais significatif après correction. On remarque la correction de spill-over sur l'amygdale qui génère une valeur supérieure en sortie du fait de la proximité de cette structure avec l'hippocampe. Les écart-types étaient également conservés.

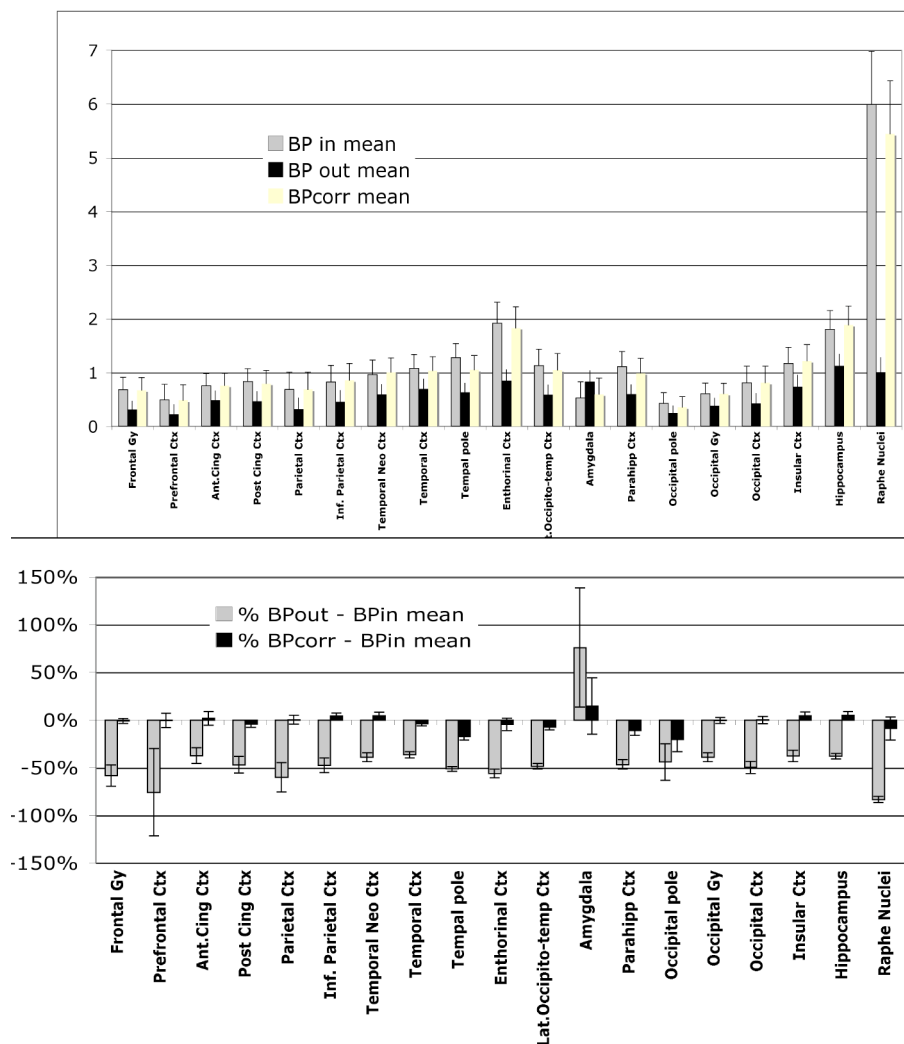
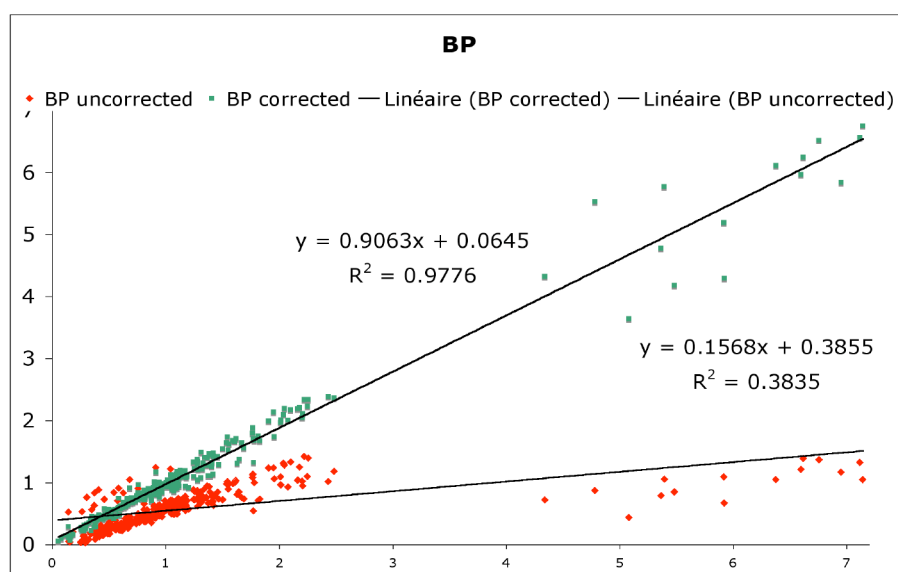


Figure 46
Haut : Valeurs régionales de BP (moyenne et SD) mesurées avant simulation (BPin, réalité terrain), après simulation sans correction de l'effet de volume partiel (BPout) et après correction (BPcorr).
Bas : biais et variabilité entre valeurs d'entrée et de sortie avec et sans correction.

La Figure 47 illustre l'excellente corrélation linéaire mise en évidence entre BP d'entrée (réalité terrain) et BP après correction ($p < 0.01$, pente de 0.90). En revanche, la corrélation n'était pas significative en l'absence de correction, les BP élevés dans le raphé en entrée entraînant un effet de volume partiel de près de 80%. La figure 1 du papier donne les corrélations individuelles. Pour un seul sujet (#13) la correction n'était pas satisfaisante.

Figure 47
Corrélation linéaire
entre valeurs
réelles et valeurs
mesurées de BP
après simulation
TEP. En rouge,
données non-
corrigées, en vert,
données corrigées
de l'effet de
volume partiel.



PARAMETRE R_1

La sensibilité du paramètre R_1 à l'effet de volume partiel était nettement inférieure à celle du BP (Figure 48). En dehors du raphé (biais > 50%), le biais se situait entre -23 et +20 %. Ces valeurs étaient significatives pour les 9 régions dont le biais en valeur absolue était supérieur à 12%. Après correction, il était très limité et non-significatif (entre -3 et +10 %). Le niveau de bruit était conservé.

Cette correction a, par ailleurs, permis de corriger de l'effet de spill-over dû à la circulation dans le sang des molécules fluorées (MPPF et ses métabolites) au cours de l'acquisition dynamique.

Enfin, la correction a permis d'obtenir une très bonne corrélation linéaire significative entre R_1 d'entrée et R_1 de sortie (Figure 49), alors qu'elle était de qualité médiocre sans correction.

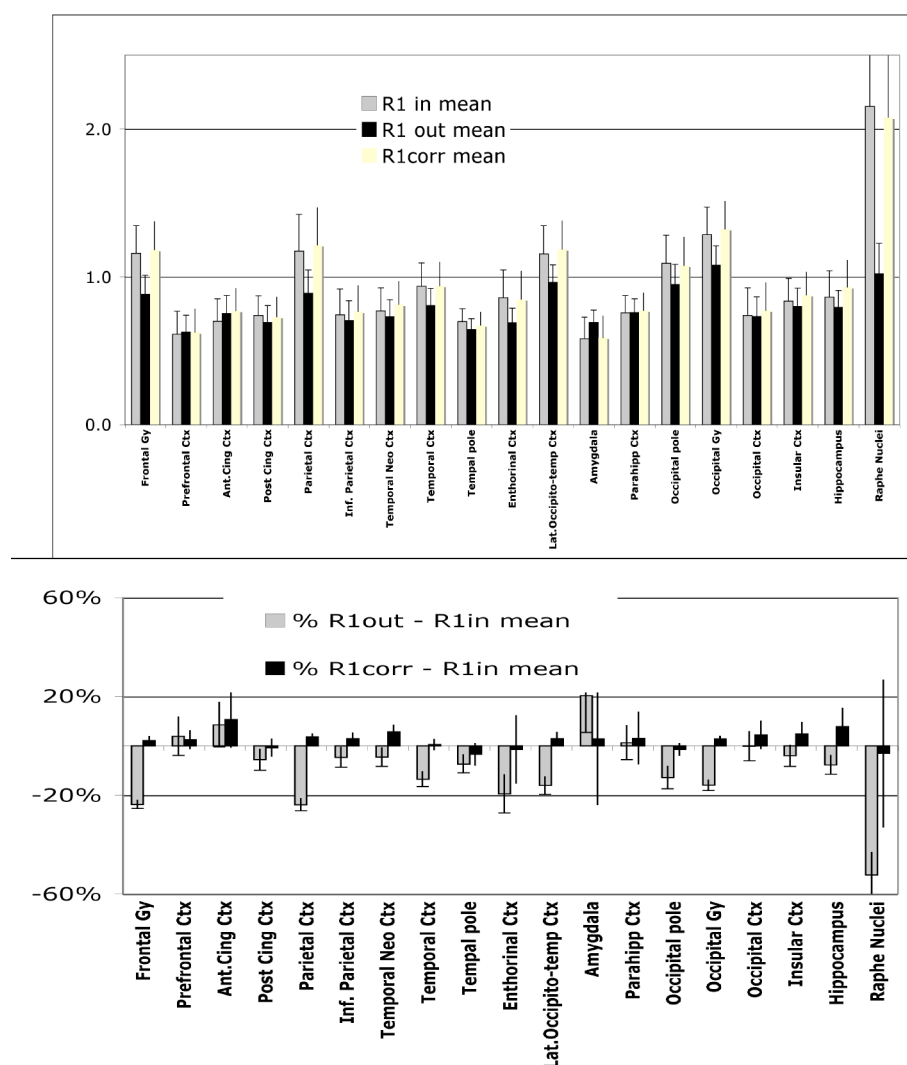


Figure 48
Haut : Valeurs régionales de R_1 (moyenne et SD) mesurées avant simulation (R_{1in} , réalité terrain), après simulation sans correction de l'effet de volume partiel (R_{1out}) et après correction (R_{1corr}).
Bas : biais et variabilité entre valeurs d'entrée et de sortie avec et sans correction.

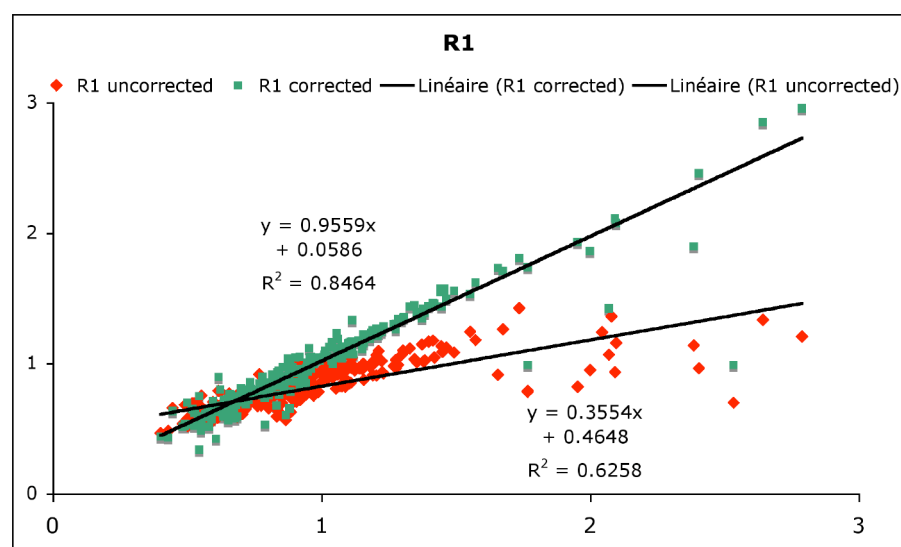
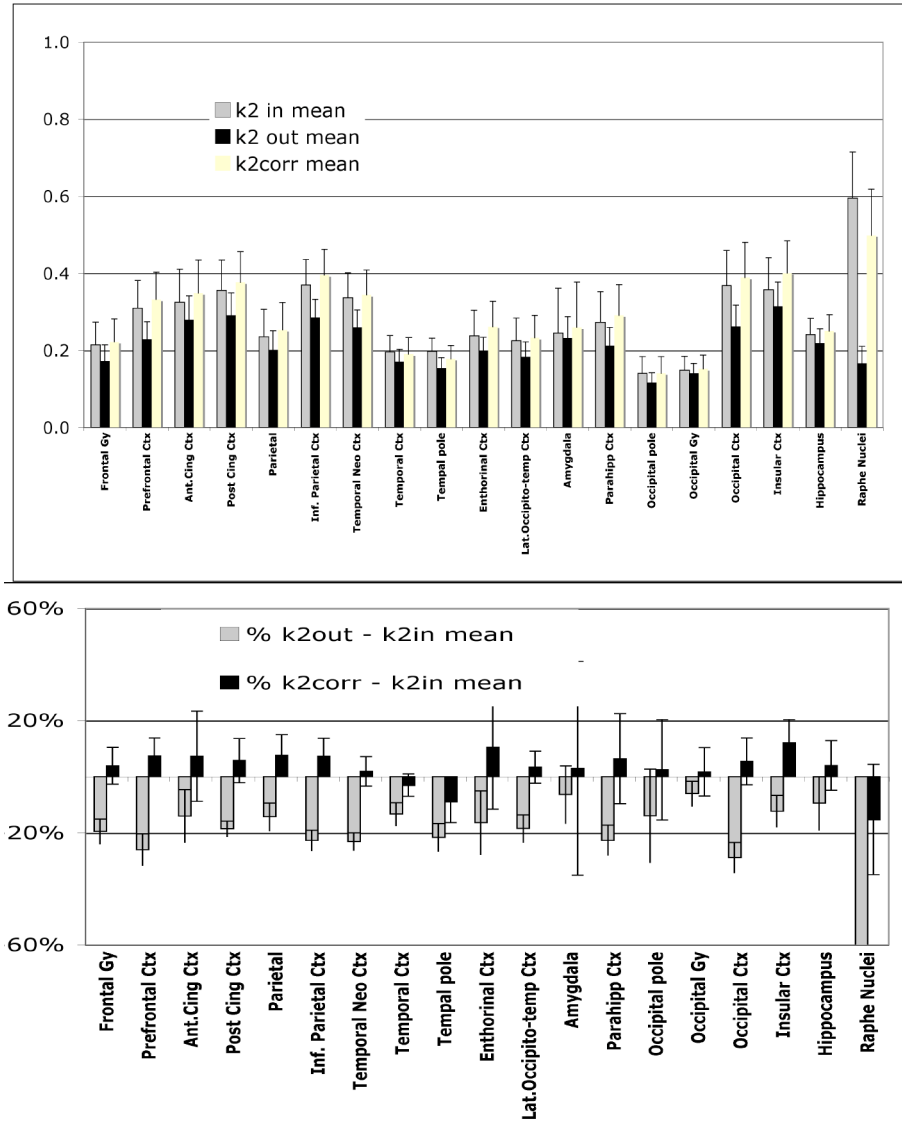


Figure 49
Corrélation linéaire entre valeurs réelles et valeurs mesurées de R_1 après simulation TEP. En rouge, données non-corrigées, en vert, données corrigées de l'effet de volume partiel.

PARAMETRE k_2

Le paramètre k_2 s'est comporté comme le paramètre R_1 (Figure 50). Pour les 50% de régions présentant un biais significatif avant correction, la récupération de la valeur vraie par CVP a été très efficace, à l'exception du raphé, pour lequel un biais significatif de 15% persistait.

Figure 50
Haut : Valeurs régionales de k_2 (moyenne et SD) mesurées avant simulation (k_{2in} , réalité terrain), après simulation sans correction de l'effet de volume partiel (k_{2out}) et après correction (k_{2corr}).
Bas : biais et variabilité entre valeurs d'entrée et de sortie avec et sans correction.



Malgré une dispersion importante dans les valeurs élevées de k_2 , la récupération donnait une bonne corrélation linéaire ($p < 0,001$; pente 0,91 ; Figure 51).

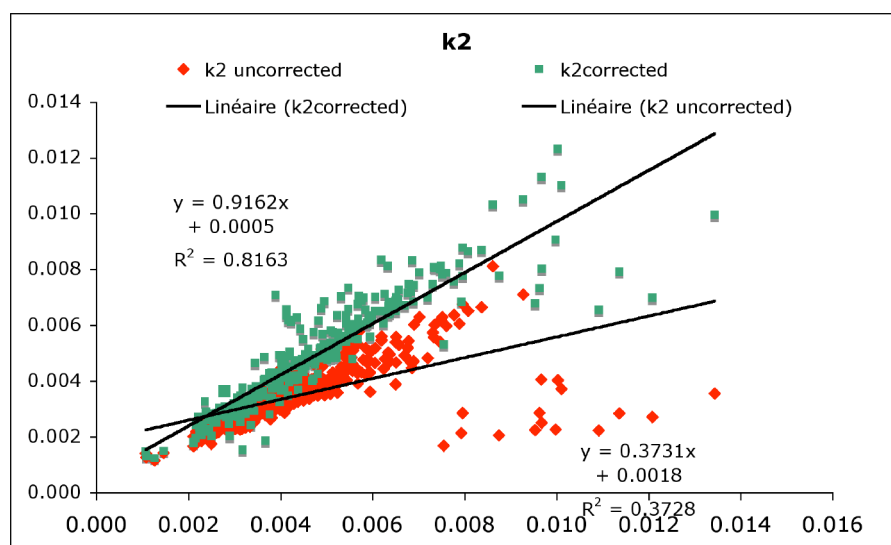


Figure 51
Corrélation linéaire
entre valeurs
réelles et valeurs
mesurées de k_2
après simulation
TEP. En rouge,
données non-
corrigées, en vert,
données corrigées
de l'effet de
volume partiel.

CORRECTION DE L'EFFET DE L'ATROPHIE

Dans le cas des atrophies hippocampiques, les images paramétriques de BP montraient visuellement une atténuation du marquage dans les hippocampes (Fig. 2 de l'article). Cet aspect prête à confusion puisque le volume émetteur étant réduit, le BP moyen sur l'hippocampe semble également réduit. En effet, les valeurs de BP mesurées dans l'hippocampe chez les patients atrophiques étaient significativement différentes des valeurs de BP mesurées chez les témoins virtuels (En rouge sur Fig. 3 du papier). En revanche, après correction de l'effet de volume partiel cette différence entre les deux groupes n'était plus significative (en vert sur la Fig. 3 du papier). La correction a donc permis dans ce cas de rétablir la situation de la réalité terrain : les BP calculés sur les TACs d'entrée ne présentaient en effet pas de différence entre groupes (en bleu sur la Fig. 3 du papier).

Conclusion

Outre la validation de la correction d'EVP par la méthode GTM dans le cas particulier de la mesure de BP par SRTM, cette étude montre l'intérêt, voire la nécessité, de pratiquer la correction pour les comparaisons de données sur des populations présentant des différences morphologiques importantes. Même en cas de normalisation spatiale, la mise en correspondance des données voxel à voxel n'apporte rien à la correction de la mesure initiale. Au contraire, elle aurait tendance à induire une erreur supplémentaire. Cette validation préalable à l'utilisation de la méthode GTM dans le cas clinique nous a permis de consolider les résultats d'une étude clinique portant sur des populations présentant une atrophie hippocampique (Truchot, *et al.* 2007) et de lever une apparente contradiction avec la littérature (Kepe, *et al.* 2006) (voir chapitre V.1.3).

IV.4 Discussion et prospective d'exploitation

DISCUSSION

Ce chapitre a tenté de mettre en évidence l'intérêt de la simulation pour l'évaluation et la validation de méthodes de quantification, de traitement et de modélisation. L'effort d'une telle mise en œuvre est nettement récompensé par la robustesse des résultats d'évaluation qu'elle permet de générer grâce à la simulation complète des phénomènes physiques qui interviennent dans l'acquisition, la correction et la reconstruction des données, le réalisme de la distribution du bruit et de la fonction de réponse impulsionnelle. Ceci est dû au fait que le procédé de Monte-Carlo simule l'ensemble des processus de dégradation du signal, désintégration par désintégration, depuis l'émission du positon jusqu'à sa collecte sur le système de détection.

En se plaçant dans un cas proche de la réalité, il est possible de générer des jeux de données propres à l'évaluation.

En résumé, les intérêts de la simulation de Monte-Carlo sont :

- De parfaitement contrôler les paramètres physiques élémentaires qui génèrent le signal TEP, c'est-à-dire la distribution spatiale et temporelle de la radioactivité émise. La réalité terrain est donc parfaitement connue.
- De pouvoir évaluer des cas réalistes complexes, tant du point de vue anatomique que fonctionnel. L'image d'un objet de quelques centimètres cubes au cœur du tronc cérébral, comme le noyau du raphé, ne fournit pas le même signal qu'une structure de même calibre située à proximité d'une région chaude (comme l'amygdale et l'hippocampe).
- De pouvoir introduire la variabilité biologique interindividuelle anatomique.
- De pouvoir tester une chaîne de traitement dans son ensemble, à l'image de ce qui est pratiqué dans la réalité. Le procédé de normalisation spatiale par exemple, comptant certainement pour une part importante dans la détectabilité des phénomènes recherchés, n'est pas évalué isolément, mais comme une composante de la chaîne de traitement. Les interactions éventuelles entre les biais introduits par différentes étapes du traitement peuvent être mises en évidence.
- De mener une évaluation directe sur les indices utilisés dans l'usage courant du traceur, en simulant aussi des cas irréalistes ou trop complexes pour être mis en œuvre dans une réalité expérimentale.

-
- De réduire les coûts induits par l'expérimentation. Chaque situation peut être reproduite des dizaines ou des centaines de fois, avec seulement un coût computationnel.

Il faut néanmoins souligner certaines limites ou inconvénients à cette pratique.

- Elle nécessite une validation primaire assez fondamentale du réalisme physique du signal qui est généré par la simulation par rapport à la réalité (Reilhac, *et al.* 1999; Reilhac, *et al.* 2002; Reilhac, *et al.* 2004). Ces opérations sont relativement lourdes et doivent être réactualisées pour tout nouvel appareillage.
- La réalité biologique ou pathologique est parfois difficile à reproduire par simulation, du fait même qu'aucune autre technique *in vitro* ou invasive ne peut correctement donner une mesure de ce déficit pathologique, ou parce que la complexité physico-chimique est méconnue : comment simuler par exemple la réalité terrain de la distribution des récepteurs 5-HT_{1A} chez un patient souffrant d'épilepsie temporo-lobique pharmaco-résistante ?
- Elle nécessite de nombreuses hypothèses : quels choix faire sur les constantes de temps d'association et de dissociation *in vivo* de la 5-HT sur le 5-HT_{1A} ?

À ces constats, il faut ajouter le fait que l'utilisation de la simulation réaliste comme outil de fabrication de jeux de données de référence demande parfois le déploiement d'une argumentaire efficace : l'idée d'utiliser une référence virtuelle pour valider le réel bouscule quelques idées reçues.

PROSPECTIVES

Les extensions sont multiples, mais d'ores et déjà des travaux sont très nettement engagés dans les domaines suivants.

Exploitation pour la mise au point de méthode de détection

Cette méthode originale de détection des asymétries inter-hémisphériques est en cours de validation et d'optimisation.

La méthode tente de répondre aux besoins de détection d'asymétries de marquage de traceurs TEP ([¹⁸F]MPPF mais aussi [¹⁸F]FDG ou [¹¹C]RO15) en prenant l'hémisphère controlatéral comme référence. En faisant du sujet son propre contrôle au cours de la même acquisition grâce à l'hémisphère controlatéral, on réduit nettement l'exposition aux rayonnements, de même que l'on réduit les erreurs dues aux modifications biologiques et à la reproductibilité instrumentale introduite entre deux acquisitions.

La méthode se décompose de la manière suivante :

- Normalisation spatiale de l'image paramétrique de BP sur un template symétrique (lui-même symétrisé) à partir de données réelles. Cette opération de normalisation sur une anatomie symétrique permet de moyenniser les dissymétries morphologiques entre hémisphères droit et gauche de la population générale.
- Seuillage et pré-lissage des images BP normalisées.
- Ajustement de la position axiale de l'image pour assurer un axe de symétrie sur l'axe médian du plan transverse.
- Symétrie axiale autour de l'axe médian vertical du plan transverse.
- Seuillage et post-lissage des images BP normalisées et flippées.
- Calcul de l'indice d'asymétrie voxel à voxel avec la formule $AS = (D-G)/(D+G)$.

Nous avons adopté un dessin expérimental de validation afin de valider notamment la normalisation spatiale, l'effet de l'utilisation d'un template symétrique, la hauteur des différents seuils et le gabarit des filtres appliqués aux données (avant et après symétrie axiale). Ces filtres ont du être introduits afin d'éviter la création de valeurs aberrantes dues aux défauts de recalage ou à des valeurs de très faible niveau.

Nous avons défini des indices de recouvrement des régions structurales homologues droite et gauche à la fois d'un point de vue purement spatial, et d'un point de vue fonctionnel.

Ce dessin expérimental teste plusieurs centaines de combinaisons et permet de déterminer les paramètres optimaux. Ils sont parallèlement appliqués à des données réelles au [¹⁸F]MPPF provenant de sujets sains et de sujets souffrant d'une épilepsie temporo-limbique.

Correction d'EVP par déconvolution itérative

Un schéma de déconvolution basé sur méthode itérative a été mis en œuvre. Cette déconvolution, dont l'objectif est de rehausser le contraste entre matières émettrices, tend vers une récupération de la résolution du signal. Grâce à la base de données simulée d'acquisition dynamique au [¹⁸F]MPPF que nous avons créée, nous pourrions évaluer le gain de cette méthode dans un contexte plus large que celui de déconvolution d'images TEP statiques de bonne statistique de comptage. La question est de savoir si l'algorithme reste performant sur des frames de faible statistique de comptage (frames courtes, ou frames tardives), et de tester l'influence finale sur l'évaluation du BP, puisque l'ensemble des processus de traitement et de modélisation est pris en compte. Cette étude poursuit les travaux engagés en collaboration avec l'Université de Tampere (Finlande)

pour laquelle nous avons généré des données simulées de FDG et de [¹¹C]Raclopride⁷.

Optimisation de la reconstruction itérative avec contrôle de bruit et respect de la quantification

Toujours avec le même jeu de données, la performance de différentes méthodes de reconstruction itératives et de l'impact de leur paramétrisation (nombre d'itérations, de sous-ensembles) ont pu être objectivement évaluées en termes habituels de gain en résolution, comme il est fait habituellement, mais également en termes de gain sur la quantification non-biaisée du BP. Ce travail a donné lieu à une communication (Tomeï, *et al.* 2006) puis à un article (Reilhac, *et al.* 2007) qui a clairement mis en évidence les biais de quantification dans les structures faiblement émettrices telles que le cervelet, par exemple. Comme il s'agit de la région de référence choisie dans la modélisation simplifiée pour le modèle SRTM, ce biais induit lui-même un autre biais également important dans les régions d'intérêt du traceur. Les méthodes testées (OSEM, AW-OSEM et OP-OSEM) ne donnent donc pas satisfaction pour la quantification, même si le gain en résolution et réduction de bruit est intéressant, à cause de la contrainte de positivité qu'elles imposent. Le travail se prolonge avec l'évaluation de la méthode NEG-ML, dont les caractéristiques du schéma itératif autorisent la négativité (tenant compte de la faible activité et de la correction d'atténuation).

⁷ Tohka J, Reilhac A. (2007): Deconvolution-Based Partial Volume Correction in Raclopride-PET and Monte Carlo Comparison to MR Based Methods. Neuroimage submitted.

Chapitre V

Applications et perspectives d'utilisation du [^{18}F]MPPF

Les données et travaux exposés dans ce travail ont permis la conception de plusieurs protocoles de recherche cliniques dont une partie a fait l'objet de publications, les autres étant en cours d'achèvement.

On a vu la diversité des fonctions régulées directement ou conjointement par le récepteur 5-HT_{1A}. La centaine de référence PUBMED portant sur l'utilisation expérimentale et clinique du [^{11}C]WAY100635 illustre bien le vaste champ d'exploration de ce traceurs. L'apport du [^{18}F]MPPF dans ce domaine permet d'envisager l'exploration du récepteur 5-HT_{1A} avec un traceur qui entre en compétition avec le ligand endogène. Nous verrons en fin de chapitre une perspective d'interprétation des résultats obtenus avec ce traceur. Pour l'heure, nous rendons compte des principales expériences réalisées avec le [^{18}F]MPPF, expériences qui exploitent en partie les résultats des travaux présentés précédemment.

V.1 Application cliniques

V.1.1 Utilisation d'une base de données normatives

ETUDE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE 5-HT_{1A} DE L'EPILEPSIE TEMPORO-LIMBIQUE

Objectif de l'étude

Les récepteurs 5-HT_{1A} fortement représentés dans les structures limbiques, sont médiateurs d'un effet anti-épileptique et anticonvulsivant de la sérotonine (Gariboldi, *et al.* 1996; Lerner-Natoli 1987; Tokarski, *et al.* 2002). A ce titre, il est apparu intéressant d'effectuer une étude de la distribution de ces récepteurs dans une population de patients épileptiques en comparaison avec une population saine d'âge et de sexe appariés.

Méthodes

Neuf patients souffrant d'une épilepsie partielle temporale ont été recrutés au cours de leur bilan préchirurgical pour subir un examen dynamique TEP au [^{18}F]MPPF. La modélisation par le modèle SRTM a permis de comparer les données individuelles et en groupe de la valeur régionale de BP extraite de régions d'intérêts dessinées manuellement sur les IRM anatomiques des sujets témoins et patients. Les volumes hippocampiques ont été mesurés et ont permis de classer les patients en sous-catégories ; avec atrophie hippocampique (HA) et avec volumes hippocampiques

normaux (*normal HV*). La région d'origine des crises a été déterminée à partir des enregistrements électrophysiologiques intracérébraux (SEEG). Une seconde analyse voxel à voxel dans l'espace normalisé ICBM (SPM99) a également été réalisée sur le sous-groupe de patients souffrant spécifiquement d'une épilepsie temporo-limbique.

Résultats

- a) Étude 1 : Anomalies de distribution des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} en TEP et activité intracérébrale dans les épilepsies partielles temporales

Les résultats mettent en évidence une baisse de la disponibilité des récepteurs 5-HT_{1A} dans les épilepsies temporales par rapport aux sujets sains. Cela confirme les résultats préliminaires obtenus par une équipe américaine au moyen d'un autre radioligand spécifique des récepteurs 5-HT_{1A} (Toczek, *et al.* 2003). En outre, nous montrons que cette diminution est fortement corrélée au degré d'épileptogénicité des régions corticales explorées par électrodes intracérébrales, et que la baisse de fixation du MPPF chez les patients épileptiques n'est pas uniquement due à des modifications structurales ou à une perte neuronale, mais peut être considérée comme un marqueur de la zone épileptogène.

- b) Étude 2 : Cartographie statistique de la fixation aux récepteurs 5-HT_{1A} dans les épilepsies temporo-mésiales.

Cette étude de groupe met en évidence des anomalies de la liaison aux récepteurs 5-HT_{1A} dans les épilepsies temporo-limbiques. Il s'agit à la fois d'une diminution de la disponibilité des récepteurs 5-HT_{1A} au niveau de la région d'origine des décharges (amygdale, hippocampe et cortex entorhinal) et au niveau de certaines zones de propagation préférentielles (insula et pôle temporal) et d'une augmentation contralatérale de la disponibilité des récepteurs 5-HT_{1A} qui pourrait être interprétée comme un processus de modulation de l'hyperexcitabilité neuronale intervenant à distance du foyer contribuant.

Bénéfice du travail méthodologique

Ce travail a donné lieu à deux publications⁸ Il a été réalisé après la validation du modèle simplifié pour la quantification du [¹⁸F]MPPF sur un examen dynamique mono-injection de 60 minutes. Les analyses statistiques ont pu être réalisées grâce à la connaissance des données normatives de fixation dans les zones temporo-limbiques dessinées sur les IRM individuelles. Les images paramétriques normalisées ont pu être utilisées pour pratiquer une recherche exploratoire des zones cérébrales présentant une anomalie de fixation entre patients et témoins.

8 Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, Ryvlin P, Isnard J, Faillenot I, Lavenne F, Dufournel D, Le Bars D, Mauguire F. (2004): 5-HT_{1A} receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [¹⁸F]MPPF-PET study. *Brain* 127(Pt 4):900-13. Epub 2004 Feb 25.

Merlet I, Ryvlin P, Costes N, Dufournel D, Isnard J, Faillenot I, Ostrowsky K, Lavenne F, Le Bars D, Mauguire F. (2004): Statistical parametric mapping of 5-HT_{1A} receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage* 22(2):886-96.

Ce travail pourrait néanmoins maintenant bénéficier des résultats concernant la prise en compte de l'effet de volume partiel afin de distinguer, dans les zones atrophiques, la part de la diminution de fixation due à l'atrophie, de celle due à la présence de zone épileptogène elle-même.

AUTRES TRAVAUX

Epilepsie clinique

Dans le cadre des épilepsies partielles pharmaco-résistantes des patients sont régulièrement recrutés pour la pratique d'un examen au [^{18}F]MPPF. L'interprétation clinique en phase d'évaluation sur une cohorte atteignant plus d'une centaine de patients, s'effectue par analyse régionale et voxel à voxel des images paramétriques de BP avec les données de la base de données normative. Le template de normalisation spatial réalisé à partir de 50 témoins permet de se passer de l'IRM anatomique du patient, au cas où celle-ci ne serait pas disponible. L'analyse de cette cohorte permettra de déterminer l'intérêt clinique de cet examen, notamment en termes de détection et caractérisation de zones épileptogènes de source ou de diffusion de l'épilepsie, en comparaison avec les enregistrements électrophysiologiques, avec les TEP métaboliques au [^{18}F]FDG, avec les observations de signes cliniques, et avec les constats de réussite des différentes thérapeutiques mises en œuvre, qui vont du traitement antiépileptique à la chirurgie de résection.

Comorbidité épilepsie et dépression

Une autre étude de recherche clinique a été engagée afin d'étudier la comorbidité de l'épilepsie et des symptômes dépressifs interictaux. Vingt-quatre patients souffrant d'une épilepsie temporo-lobaire et présentant une sclérose hippocampique ont été recrutés pour un examen mono-injection au [^{18}F]MPPF. Le jour de l'examen le test d'évaluation de l'état d'anxiété et de dépression (Beck Inventory Depression, BDI) a été réalisé. L'objet initial de cette étude est de trouver les corrélats neuronaux du système sérotoninergique 5-HT_{1A} en relation avec l'intensité de la dépression, chez des patients épileptiques temporo-lobaires. Néanmoins, ces données pourront être confrontées aux données des sujets sains dont nous avons pu nous assurer qu'ils ne présentaient aucun signe clinique de dépression.

Trouble du comportement alimentaire

La sérotonine est reconnue comme un neurotransmetteur qui inhibe l'ingestion alimentaire (Kaye, 1997 ; Kaye, *et al.* 2005b). L'objectif de ce travail est d'étudier en TEP les modifications potentielles de la distribution de [^{18}F]MPPF dans une population d'anorexie mentale restrictive (AM) et chez des boulimiques en rapport avec une population de sujets témoins appariés par l'âge et le sexe. Sept AM, sept boulimiques, et sept témoins femmes sélectionnées dans la base de données ont été explorées par IRM cérébrale pour une étude anatomique préalable puis en TEP au [^{18}F]MPPF.

Les données d'image paramétriques de BP de chaque groupe ont été comparées par analyse de variance pour chaque voxel. Les résultats exprimés sous forme des cartes de différences significatives de BP (potentiel de liaison) avec le logiciel SPM2 montrent, dans le groupe souffrant de boulimie, des valeurs élevées de BP par rapport au groupe témoin, au niveau du lobe pariétal et de l'insula gauche, du gyrus cingulaire antérieur et postérieur et des aires orbito-frontales. Les AM ont démontré un BP élevé par rapport aux témoins uniquement au niveau de lobe frontal inférieur. Cette étude révèle que le BP du [¹⁸F]MPPF chez les boulimiques est accru dans des régions par ailleurs reconnues comme impliquées dans la pulsion, le goût, l'instinct, l'angoisse. Les AM restrictives présentent des modifications estompées de BP sur les récepteurs 5-HT_{1A}.

Dans la continuité de cette étude, les patientes anorexiques ayant, après traitement, repris une alimentation normale ont subi un nouvel examen de TEP au [¹⁸F]MPPF. Les résultats de la comparaison test-retest, en référence aux variations attendues de la mesure à six mois d'intervalle fournies par la base de données que nous avons constituée, révèle des modifications mineures de la distribution du potentiel de liaison, indiquant que la particularité de la fixation comparée à la normale, mise en évidence dans la comparaison du premier examen [¹⁸F]MPPF, perdure au delà de la « guérison » comportementale.

Il reste à établir si ces altérations de la fonction sérotoninergique représentent l'étiologie ou la conséquence des TCA. Un article exposant ces résultats est actuellement soumis⁹.

V.1.2 Utilisation de la base de données test-retest

L'utilisation de la base de données test-retest, nous venons d'en voir un exemple, porte sur l'introduction des données témoins dans les analyses de variance afin d'évaluer l'effet test-retest recherché sur la population étudiée en rapport avec celui de la population contrôle. Elle permet de connaître la variabilité de la mesure grâce au calcul de l'erreur typique, et de calibrer la taille des échantillons de population à introduire dans les études. Elle fournit également un seuil de confiance sur la normalité des écarts que on peut attendre lorsque l'on compare deux examens chez un même sujet.

Trois études de neuropsychiatrie ont particulièrement tiré parti de cette possibilité.

Dépression et privation de sommeil

Le traitement de la dépression repose sur les antidépresseurs et, dans les cas graves, sur l'électroconvulsivothérapie (ECT). Cependant, le taux de réponse demeurent insuffisamment élevés. La privation de sommeil (PDS) est une alternative possible. C'est le traitement de la dépression le plus

⁹ Galusca B, Bossu C, Germain N, Costes N, Le Bars D, B E. (2007): 5HT1A MPPF evaluation in ill, recovered Anorexia Nervosa and Constitutional Thinness. Anorexia submitted.

rapidement efficace (quelques heures). Son principal inconvénient est la perte rapide de ses effets positifs après un épisode de sommeil dans le cas d'une privation de sommeil unique, ce qui souligne par ailleurs le rôle « dépressogène » du sommeil.

Les hypothèses étiopathogéniques de la dépression mettent en cause un hypofonctionnement sérotoninergique. Le rôle de la sérotonine dans cette affection semble majeur. Des études en TEP au [^{11}C]WAY-100635 menées chez les patients déprimés ont mis en évidence diminution de la densité des récepteurs 5-HT $_{1A}$ au niveau du raphé dorsal et du cortex mésiotemporal (Parsey, et al. 2006). Les effets antidépresseurs et métaboliques d'une nuit de PDS ont également été étudiés en TEP (taux métabolique du glucose cérébral local, occupation des récepteurs de la dopamine du cerveau) en tomographie par émission monophotonique (SPECT) et en IRM fonctionnelle (Gillin, et al. 2001). En dépit des différences de méthodes et de techniques, les résultats sont homogènes et mettent en avant que, 1) avant la PDS, les répondeurs ont un métabolisme plus élevé que les non-répondeurs et les sujets contrôles au niveau du cortex préfrontal médial orbital, et plus particulièrement au niveau du cortex cingulaire antérieur ventral et 2) après la PDS, l'hyperactivité de ces aires cérébrales se normalise chez les répondeurs.

L'objectif de l'étude présentée ici était de vérifier cette hypothèse en comparant la fixation du [^{18}F]MPPF aux 5-HT $_{1A}$ avant et après une nuit de privation de sommeil totale. La connaissance de l'erreur typique a permis de calibrer les groupes, néanmoins il a été nécessaire d'introduire dans cette étude un groupe contrôle de non-dépressifs subissant également une PDS, afin d'ajuster la variabilité biologique due à une nuit de PDS.

Les résultats actuels ont montré une augmentation nette de la fixation du [^{18}F]MPPF chez les témoins notamment au niveau du raphé, (supérieure au niveau d'incertitude évalué en test-retest sans PDS), ainsi qu'une augmentation encore plus importante chez les patients dépressifs qui se distinguaient significativement des contrôles, y compris au niveau individuel.

L'interprétation de cette étude est délicate. Elle semble indiquer une modification importante et rapide de la disponibilité des récepteurs 5-HT $_{1A}$. En revanche, à l'heure actuelle, il n'est pas possible de définir si ces modifications s'expliquent par une variation de concentration du ligand endogène, par une disponibilité accrue des autorécepteurs du raphé due à un phénomène d'internalisation.

Dépression et électro-convulsivo-thérapie (ECT)

L'objectif de cette étude est de mieux comprendre le rôle des systèmes sérotoninergiques et GABAergiques dans la physiopathologie de la dépression et leurs éventuels remaniements après traitement antidépresseur par ElectroConvulsivoThérapie (ECT). Pour cela, nous avons réalisé une étude TEP des récepteurs 5-HT $_{1A}$ et aux benzodiazépines sur un échantillon de 20 patients traités par ECT dans les unités spécialisées du Professeur BOUGEROL à Grenoble et du Professeur

DALERY à Bron (10 patients par centre). Le protocole expérimental comporte un examen TEP au [¹¹C]Flumazenil et un examen TEP au [¹⁸F]MPPF avant la première séance d'ECT et 6 mois après le début du traitement. Ne pouvant pratiquer une telle étude chez des contrôles, ce sont les données de l'étude test-retest qui seront directement utilisées dans la comparaison entre examens (nous disposons également d'une base test-retest de témoins au [¹¹C]Flumazenil). L'inclusion dans cette étude n'étant pas terminée, et les résultats étant connus qu'au terme de la thérapie ECT, il est trop tôt pour donner des indications sur les tendances quant à la corrélation entre cet effet neurobiologique et les effets thérapeutique de ce traitement.

Depression paroxétine

Cette troisième étude au [¹⁸F]MPPF portant sur la dépression a pour objectif d'examiner *in vivo* les remaniements des récepteurs 5-HT_{1A} et en particulier des autorécepteurs 5-HT_{1A} du raphé chez des patients déprimés, suite à l'administration d'un inhibiteur de la recapture de sérotonine (ISRS). Ces molécules constituent le traitement médicamenteux le plus courant pour cette affection. Le but est en particulier de tenter d'observer les mécanismes mis en jeu dans les processus potentiels d'internalisation en effectuant un suivi de la distribution cérébrale du [¹⁸F]MPPF dans les noyaux du raphé et dans le système limbique. Dix patients dépressifs ont été examinés en TEP MPPF 1 jour avant, 5 jours après et un mois après le début du traitement par paroxétine. Dans ce troisième cas, les études test-retest permettent de connaître l'intervalle de variabilité attendu sur la mesure régionale du BP, et de donc déterminer si les variations observées chez chaque patient ont ou non un sens statistique.

Cette étude est également en cours.

Ces trois exemples illustrent le fait que de nombreux protocoles de recherche clinique nécessitent la réplication de mesures expérimentales pour l'évaluation thérapeutique ou pour le suivi longitudinal d'un mécanisme neurophysiologique, qu'il soit normal ou pathologique. Les considérations que l'on peut trouver dans la discussion du papier présenté au chapitre III.2 sur les intervalles de confiance et la manière de conclure sur la progression d'une mesure expérimentale individuelle prennent tout leur sens dans un usage clinique : émettre un diagnostic sur l'évolution d'une mesure est moins une question de significativité que de gestion de risque d'erreur. En effet, se prononcer sur la généralisation d'un résultat trouvé sur un échantillon demande une assurance statistique importante qui consiste à réduire le risque d'erreur à moins de 5% voire 1%. Dans le cas d'une mesure individuelle, l'analyse de l'intervalle de confiance de la mesure de différence test-retest demande une statistique moins rigoureuse. Dans une utilisation clinique d'une valeur normative, on peut se référer à un intervalle de confiance défini par une probabilité de 80% de risque d'erreur autour de la mesure (valeur $\pm$ erreur typique). En effet, dans un usage clinique, le risque de déclarer à tort qu'il y a une évolution de la mesure est faible, d'autant plus que le risque d'erreur des hypothèses alternatives (« pas d'évolution » ou « évolution dans le sens inverse ») est lui

très fort. En outre, l'observation clinique renforce souvent cette certitude. Un examen qui tend à entrer dans un champ diagnostique sort du champ de la pure statistique d'autant plus facilement que les outils et les expériences de validation qui ont amené cet examen à la dimension diagnostique ont été fiables.

V.1.3 Utilisation de la correction de l'EVP

ALZHEIMER

Objectif de l'étude

Cette étude vise à examiner, en TEP au [^{18}F]MPPF, les anomalies de distribution des récepteurs 5-HT_{1A} chez des patient souffrant de la maladie l'Alzheimer (MA). Des travaux scientifiques récents suggèrent des modifications du métabolisme cérébral de la sérotonine et de la densité des récepteurs 5-HT_{1A} dans la MA (Kepe, *et al.* 2006). Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude fonctionnelle au [^{18}F]MPPF et une étude anatomique en IRM VBM (Voxel Based Morphometry) sur une population de 8 MCI (Mild Cognitive Impairment) et 8 Alzheimer et comparé ces données avec celles de 16 témoins sains du même âge. L'objectif de cette étude était de déterminer si l'exploration par la TEP au [^{18}F]MPPF peut aider au diagnostic précoce de MA.

Pour permettre des corrélations anatomo-fonctionnelles, les données de TEP et d'IRM structurale ont été superposées. Pour transformer les images TEP en images quantifiées de potentiel de liaison (BP) aux récepteurs 5-HT_{1A}, le modèle simplifié SRTM est utilisé. Après normalisation dans un espace stéréotaxique standard et lissage, les données paramétriques de chaque patient sont comparées statistiquement voxel à voxel aux images de BP paramétriques des témoins.

Nous avons observé des modifications significatives du BP chez les patients atteints de MA à différents stades évolutifs comparativement aux témoins. Cette différence de fixation du [^{18}F]MPPF est observée essentiellement dans les régions limbiques.

Plus spécifiquement, le cas de l'hippocampe a été étudié par région d'intérêt. La méthode de correction de l'effet de volume partiel exposée et validée par les travaux décrits dans le chapitre IV.3 a permis de montrer que l'atrophie hippocampique, existant dès le stade MCI, masquait une augmentation de la fixation du [^{18}F]MPPF spécifique de ce groupe.

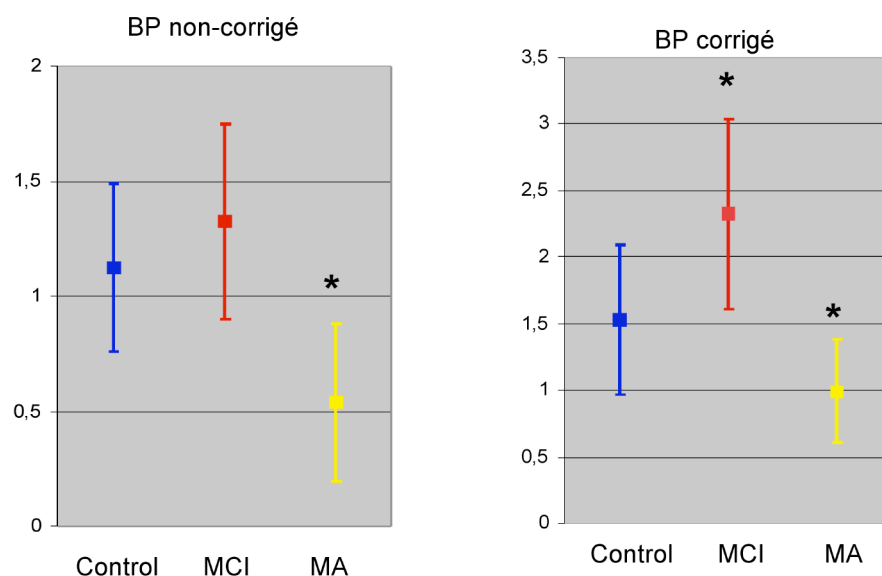


Figure 52
Moyenne et écart-type du potentiel de liaison (BP) mesuré dans l'hippocampe chez les groupes Contrôle, Mild Cognitive Impairment (MCI), et Malades Alzheimer (MA), sans et avec correction de l'effet de volume partiel. * : différences significatives avec un test de rang (Wilcoxon), $p < 0,05$

En effet, sans correction de VP, le profil de mesure (Figure 52) montre en effet sans correction une légère augmentation (non significative) du BP chez les MCI non-significative, suivie d'une diminution chez les MA par rapport aux témoins. Après correction de l'effet de volume partiel, l'augmentation du BP chez les MCI devient significative. Un tel résultat, apparemment en contradiction avec la littérature (Kepe, et al. 2006), devait être soutenu par une validation formelle et rigoureuse. Cette validation a été l'objet de l'étude présentée dans le chapitre IV.3.

En conclusion, cette étude suggère l'intérêt potentiel de la TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ (en complément de l'analyse de la symptomatologie clinique et neuroradiologique structurale) dans le diagnostic précoce de la MA. Il reste à déterminer si les profils TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ différencient les principales pathologies neurodégénératives à l'origine d'un syndrome démentiel, ce qui permettrait un diagnostic différentiel précoce.

Cette étude est publiée récemment¹⁰.

V.1.4 Etude de l'influence de la sérotonine endogène

MIGRAINE ET ODEURS

L'objectif de ce projet est d'étudier la distribution et la fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} en TEP au $[^{18}\text{F}]\text{MPPF}$ et le débit sanguin cérébral ($[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$) chez 20 patients souffrant de migraines déclenchées par les odeurs et chez 20 témoins. Les deux examens TEP comportent une étude au repos et une étude lors de stimulations olfactives, visant à quantifier la réponse hémodynamique liée à la libération de sérotonine au niveau des

10 Truchot L, Costes N, Vighetto A, Laurent B, Thomas-Anterion C, Croisile B, Mercier B, Zimmer L, Krolak-Salmon P. (2007): Up regulation of hippocampal serotonin metabolism in Mild Cognitive Impairment. *Neurology* 69(10):1012-17.

noyaux du raphé, à quantifier l'état basal des récepteurs 5-HT_{1A} et le déplacement par la sérotonine du MPPF fixé sur ces récepteurs lors de stimulations olfactives. La détection des anomalies TEP significatives repose sur la comparaison des images de chaque patient à la banque de données témoin et sur la comparaison entre les deux groupes de sujets. Ce projet a été lancé en parallèle avec les études de simulation de déplacement.

Les tentatives de mise en évidence du déplacement par stimulation olfactive se sont avérées infructueuses, bien que les patientes aient présenté des différences significatives de fixation du [¹⁸F]MPPF par rapport aux témoins¹¹. En outre, comme un certain nombre de patientes ont développé une céphalée suite à la stimulation olfactive, nous avons observé que les valeurs de BP dans certaines zones cérébrales du système limbique (insula, cortex cingulaire antérieur et le raphé) étaient linéairement corrélées, de façon significative, avec l'intensité migraineuse. Les effets hémodynamiques de la migraine ont été contrôlés et ne peuvent expliquer des modifications de BP corrélées à la douleur dans ces régions. On peut donc supposer qu'un effet du ligand endogène a malgré tout été mis en évidence. Nous n'avons pas aujourd'hui le matériel méthodologique nécessaire pour mieux analyser ce phénomène (en particulier pour identifier le type de décharge et sa quantification), mais ces données pourront être revues si les perspectives de développement évoquées dans le chapitre suivant aboutissent.

V.2 Perspectives méthodologiques

V.2.1 Exploitation pour la mesure de la concentration de 5-HT endogène

Un travail s'est engagé dans la continuité du travail présenté dans le paragraphe IV.2. Le schéma simple et finalement ni réaliste, ni efficace de détection de modification du taux de sérotonine endogène mérite d'être amélioré, notamment parce que les résultats cliniques observés sur différentes populations de patients (voir chapitre V.1) indiquent des modifications de la fixation du traceur [¹⁸F]MPPF attribuables à la concentration de 5-HT. Cette question est essentielle dans l'interprétation physiopathologique et plus spécifiquement dans l'interprétation que nous pouvons faire des variations de BP observées, d'autant plus que c'est la caractéristique principalement attendue de ce traceur (Jagoda, *et al.* 2006), contrairement au WAY100-635 (Maeda, *et al.* 2001)

Les variations de BP sont-elles attribuables à la sérotonine endogène (Derry, *et al.* 2006; Zimmer, *et al.* 2002; Zimmer, *et al.* 2003), à des modifications de l'affinité résultant de configurations physico-chimiques (Aznavour, *et al.* 2006a; Udo de Haes, *et al.* 2006), ou à la disponibilité des récepteurs modifiée par internalisation des autorécepteurs présynaptiques (Sibon, *et al.* 2007; Zimmer, *et al.* 2004) ?

11 Demarquay G, Lothe A, Royet JP, Costes N, Mauguier F, Ryvlin P. Increase 5-HT_{1A} receptor binding in migraine patients during attacks: a [¹⁸F]MPPF study. submitted.

L'influence du ligand endogène sur la mesure d'un BP est délicate voire inabordable dans sa réalité complexe (Laruelle 2000; Maeda, *et al.* 2001; Morris, *et al.* 1995). L'objet est de prédire la sensibilité. Les méthodes proposées par (Morris and Yoder 2007) sont légèrement décevantes et n'aboutissent pas à une quantification. En revanche, (Delforge, *et al.* 2001) démontrent, à partir d'une observation empirique, la possibilité de quantifier la concentration régionale de ligand endogène. L'auteur établit que la relation linéaire entre $K_d V_r$ et B_{max} est due au fait que l'affinité observée est le résultat de l'affinité réelle du ligand exogène pour le récepteur modulé par le rapport entre concentration libre extracellulaire de ligand endogène (F^{en}) et affinité du ligand endogène pour le même récepteur (K_d^{en}).

$$(K_d V_r)^{est} = K_d V_r \left(1 + \frac{F^{en}}{K_d^{en}}\right) \quad \text{Eq. 58}$$

En constatant la relation linéaire

$$(K_d V_r)^{est} = a + b.B_{max} \quad \text{Eq. 59}$$

où l'intercepte a est égale à $K_d V_r$

On peut identifier les paramètres a et b sur la régression des $K_d V_r$ et B_{max} régionaux avec une expérience de multi-injections et tirer les informations suivantes :

- Estimation de la constante de dissociation *in vivo*, indépendante du ligand endogène :

$$K_d V_r = (K_d V_r)^{est} - b.B_{max} \quad \text{Eq. 60}$$

- Estimation de taux d'occupation des récepteurs à endogène régionaux

$$\frac{B^{en}}{B_{max}} = \frac{\left(\frac{b}{a}\right).B_{max}}{1 + \left(\frac{b}{a}\right).B_{max}} \quad \text{Eq. 61}$$

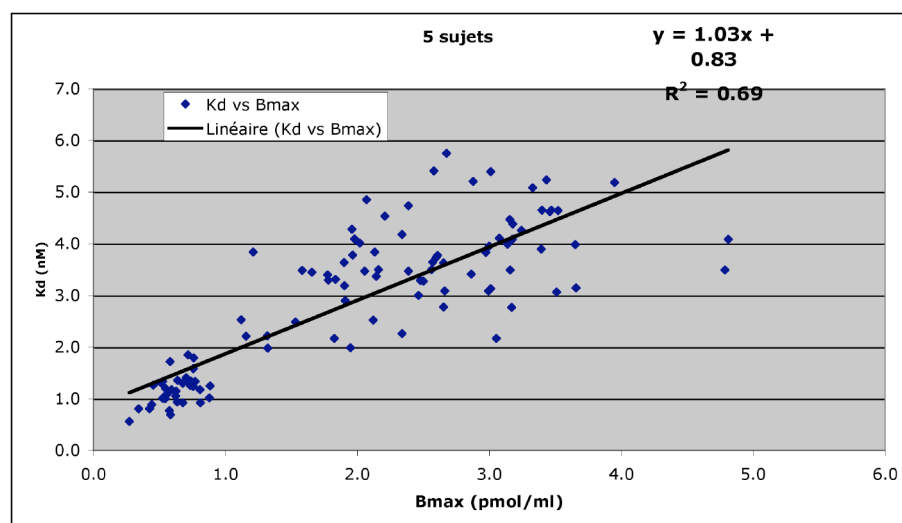
- Estimation de la concentration régionale de ligand endogène sur la constante de dissociation du ligand endogène (K_d^{en}) lorsqu'elle est connue

$$F^{en} = \frac{b}{a} K_d^{en} . B_{max} \quad \text{Eq. 62}$$

Ces estimations ont été menées à partir des données de l'expérience multi-injections menée sur 5 sujets et 15 régions (chapitre II.1).

La régression linéaire entre $(K_d V_r)^{est}$ et B_{max} peut être établie (Figure 53).

Figure 53
Regression $K_d V_r$
versus B_{max} établie
avec les valeurs
régionales de 5
sujets témoins
homme. Valeurs
obtenues par un
modèle tri-
compartmental et
une expérience
TEP 2 injections au
[^{18}F]MPPF



L'application numérique donne $a=0,83$ et $b=1,03$

Les valeurs de (Costes, *et al.* 2002) donnent avec les formules 59, 60 et 61 les résultats du Tableau 5 .

REGION	KdVr nM	Pourcentage occupation	[5HT] pmol/ml
L hippocampus	1.32	47%	5.07
R hippocampus	1.57	48%	5.53
L parahippocampal gyrus	2.38	44%	4.57
R parahippocampal gyrus	2.46	44%	4.68
L amygdala	1.79	40%	3.73
R amygdala	1.69	40%	3.38
L enthorinal cortex	2.12	40%	3.54
R enthorinal cortex	2.31	41%	3.75
L insula	2.56	37%	2.85
R insula	2.85	38%	3.08
Anterior cingulum	2.44	33%	2.47
Posterior cingulum	2.63	35%	2.77
L temporal neocortex	2.31	31%	2.12
R temporal neocortex	2.12	34%	2.58
L Occipital cortex	2.08	33%	2.49
R Occipital cortex	2.03	34%	2.62
L parietal	1.95	32%	2.31
R parietal	2.36	34%	2.55
L prefrontal	1.85	34%	2.57
R prefrontal	2.21	33%	2.42
L temporal pole	1.61	38%	3.02
R temporal pole	1.84	39%	3.17
Moyenne	2.11	38%	3.24
Ecart-type	0.38	5%	0.96

Tableau 5 – Valeur régionale moyenne de 5 sujets sains de l'affinité réelle *in vivo* (KdVr), le taux d'occupation basal des récepteurs et la concentration locale de sérotonine libre extracellulaire évalués par les formules des équations 60, 61 et 62.

Ce tableau donne des valeurs d'un ordre de grandeur tout à fait plausible. La moyenne de la constante de dissociation régionale est de $2,11 \pm 0,38$ nM, les taux d'occupation moyens sont de $38 \pm 5\%$, et la concentration locale en sérotonine extracellulaire est évaluée en moyenne à $3,24 \pm 0,96$

pmol/cc. En utilisant la microdialyse, (Maes, *et al.* 1999) trouvaient des taux de sérotonine extracellulaire de $3,9 \pm 1,6$ nmol/cc dans l'hippocampe de rat.

La région du cervelet n'a pas été incluse dans ce tableau, car l'identification du B_{max} n'a pas été possible. La région du raphé a également posé un problème. La valeur moyenne de K_dV_r calculée sur 5 sujets était de $1,74 \pm 1,13$ nM, le pourcentage moyen d'occupation des 5-HT_{1A} de $40 \pm 34\%$, et la concentration en sérotonine de $6,76 \pm 7,9$ pmol/cc. Ces valeurs, bien qu'elles ne soient pas aberrantes, possèdent un écart-type très important.

V.2.2 Perspectives

Ces données sont encourageantes et méritent d'être davantage explorées :

- En tentant de tenir compte de l'effet de volume partiel. En effet, une part de la variabilité interrégionale sur les estimations du K_dV_r et du B_{max} est due à la différence de taille des structures. S'il existe un lien linéaire entre B_{max} et K_dV_r , il faut évaluer dans quelle mesure il n'est pas lié à cet effet.
- En trouvant le moyen de simuler avec un modèle la présence de sérotonine endogène et de vérifier la cinétique de ces décharges.
- En trouvant un lien entre ces possibilités d'estimation directe de concentration de sérotonine endogène et les indices de fixation calculés dans la modélisation simplifiée. C'est là un point crucial qui nous permettrait une interprétation des variations de BP observées dans des cas pathologiques. La question posée est de savoir si une variation de BP (au regard de la formule de l'équation 46) est due à une variation de B_{max} , de la constante de dissociation apparente K_dV_r (et plus précisément comme le rappellent (Laruelle, *et al.* 1994) et (Delforge, *et al.* 2001) de la concentration locale de ligand endogène), ou encore de la fraction de ligand libre disponible à la fixation (f_2).

On trouve des éléments de réponse dans (Morris and Yoder 2007), cependant les auteurs ne font pas encore le pont entre paramètres identifiés par multiinjection (Delforge, *et al.* 2001) et paramètres des modèles simplifiés.

En revanche l'approche systématique de (Gunn, *et al.* 2001), dont une implémentation algorithmique de la solution est exposée par la suite dans (Gunn, *et al.* 2002) donne une perspective intéressante.

L'auteur expose le cadre conceptuel des méthodes simplifiées avec région de référence pour lesquelles il démontre l'identifiabilité des « macro » paramètres (K_i , DVR, BP, par exemple). Il généralise la solution analytique solution du système en fonction du nombre de compartiments de la région de référence (m) et de la région cible (n), grâce à une projection des

cinétiques régionales sur une base de fonction de réponse impulsionnelle $\psi_i(t)$. Où

$$\left. \begin{aligned} \psi_0(t) &= C_I(t) \quad \phi_i \neq 0 \\ \psi_i(t) &= \int_0^t e^{-\theta_i(t-\tau)} C_I(\tau) d\tau \end{aligned} \right\} \quad \text{Eq. 63}$$

La décomposition d'une cinétique sur N composantes s'écrit donc :

$$C_T(t) = \sum_{i=0}^N \phi_i \psi_i(t) \quad \text{Eq. 64}$$

Dans le cas d'identification réalisée avec la présence d'une région de référence $C_r(t)$ et d'une région cible $C_T(t)$, la solution du système à n compartiments dans la région cible et m compartiments dans la région de référence prend la forme mathématique suivante :

$$C_T(t) = \phi_0 \cdot C_r(t) + \sum_{i=1}^{m+n-1} \phi_i e^{-\theta_i t} \otimes C_r(t) \quad \text{Eq. 65}$$

À l'issue de l'identification réalisée par projection sur la base de fonctions de réponse impulsionnelle, les paramètres de transport et de distribution du traceur dans les tissus s'expriment en fonction des « micro » paramètres (ϕ_i, θ_i) des fonctions de base.

Ainsi, par exemple :

$$R_1 = \phi_0 \quad \text{Eq. 66}$$

$$DVR = \phi_0 + \sum_{i=1}^{m+n-1} \frac{\phi_i}{\theta_i} \quad \text{Eq. 67}$$

$$BP_{SRTM} = f_2 \frac{B_{\max}}{K_d (1 + \sum \frac{F_i}{K_i})} = \phi_0 - 1 + \sum_{i=1}^{m+n-1} \frac{\phi_i}{\theta_i} \quad \text{Eq. 68}$$

Pour l'instant, le lien formel entre les micro-paramètres (ϕ_i, θ_i) calculés par l'analyse spectrale (équation 64), et les paramètres d'affinité et de concentration de ligand endogène n'est pas établi.

Cependant, la connaissance de K_i du ligand endogène et du K_d du ligand exogène identifié par une expérience multiinjection doit pouvoir permettre d'étudier sur des données réelles ou sur des données simulées de [^{18}F]MPPF le lien entre :

- les composantes non nulles de la décomposition spectrale ($\phi_i \neq 0$) de la cinétique d'une région cible,

-
- et les variations de F_i entre des expériences test-retest, pour un B_{max} supposé invariant.

Ces études restent à réaliser. L'étude expérimentale pourrait être établie avec des données acquises dans les différentes applications exposées précédemment. La validation pourrait être réalisée par simulation, comme cela a été présenté dans le chapitre IV.

Ce travail de thèse apporte une source de données et une méthodologie de simulation qui permet de se diriger vers la détermination d'un plan expérimental de mesure et d'un indicateur dérivé du modèle simplifié autorisant l'estimation de la variation concentration de ligand endogène.

Conclusions

L'objet de cette thèse était de présenter un travail complet sur le développement de la méthodologie nécessaire à l'exploitation neurophysiologique et clinique d'un traceur de tomographie par émission de positons (TEP). Le cas du [^{18}F]MPPF, marqueur antagoniste spécifique du récepteur sérotoninergique 5-HT_{1A} a été l'objet d'application de cette démarche. Ce travail constitue une phase importante dans le développement d'un traceur : il se situe à l'interface entre les expérimentations biologiques sur l'animal et l'utilisation du traceur dans un examen TEP chez l'humain dans un usage de recherche neurobiologique et clinique.

Les étapes de ce travail de thèse ont, en particulier, inclus :

- L'identification des paramètres de transport et de fixation du [^{18}F]MPPF ainsi que la densité locale de récepteurs 5-HT_{1A} par modélisation compartimentale soutenue par une étude chez un groupe réduit d'hommes sains dans un protocole TEP multiinjection.
- La recherche et la validation d'un protocole de modélisation simplifiée après avoir déterminé les paramètres du modèle complexe élaboré dans l'expérimentation multiinjection et grâce à la simulation analytique.
- La réalisation d'une base de données normative du marquage des récepteur 5HT_{1A} par le [^{18}F]MPPF chez des hommes et des femmes sains au cours de la vie adulte.
- La réalisation d'une étude TEP test-retest pour la connaissance de la reproductibilité et de l'intervalle de confiance de la mesure TEP au [^{18}F]MPPF.
- La constitution d'une base de données simulées d'acquisition dynamique au [^{18}F]MPPF par la méthode de Monte-Carlo pour le développement et la validation des outils de correction et d'exploitation de la mesure quantitative de la fixation du traceur
- L'utilisation de la base de données simulées pour la mise au point de méthodes de correction (notamment volume partiel induit par la faible résolution TEP) ou de détection (détection de la libération de sérotonine endogène lors d'un examen au [^{18}F]MPPF).
- L'exposé de quelques applications cliniques de cette mesure quantitative.

Ce travail a reposé sur des expérimentations et des travaux réalisés au CERMEP- imagerie du vivant. Il a été justifié par l'introduction d'un nouveau traceur dans le centre qui appelait à rassembler et à rendre cohérentes les connaissances issues de ces expériences, ainsi que de finaliser les applications d'analyse et de traitement. Ces développements ont été mis à disposition des expérimentateurs et cliniciens qui exploitent le traceur [^{18}F]MPPF dans leurs recherches neurobiologique et clinique. Ce travail a été l'occasion de mettre en œuvre une méthodologie de

simulation réaliste qui ouvre la voie de développement intéressant dans le domaine de la quantification, notamment pour la reconstruction itérative et la modélisation de la compétition intervenant entre ligand endogène et ligand d'affinité compétitive.

Ces domaines sont porteurs comme le prouvent les annonces faites très dernièrement par le constructeur de caméra TEP Siemens au congrès de la Société National de Médecine Nucléaire américaine. Ce constructeur a en effet présenté une caméra TEP haute résolution pour l'homme, non pas sur la base d'une nouvelle instrumentation, mais sur l'introduction d'un algorithme performant de reconstruction itérative. Cet algorithme est testé pour des données statiques (imagerie TEP oncologique) et ses performances restent à évaluer et à valider sur les études dynamiques. La simulation de données réalistes apportera une réponse quant au gain réel de ces algorithmes itératifs dont l'utilisation tend à se généraliser.

Par ailleurs, depuis plusieurs années, les grandes équipes d'imagerie fonctionnelle cognitive et neurobiologiques œuvrent pour dépasser le stade l'identification des corrélats neuronaux liés à la cognition et la physiopathologie et tendre vers la mise en évidence de la transmission neurochimique fonctionnelle en état d'activation. Cet engagement implique que les méthodes de modélisation puissent quantifier la compétition entre traceur et ligand endogène. Il marque un nouvel avenir de la TEP dans la recherche physiopathologique.

Bibliographie

1. Albert PR, Lemonde S. (2004): 5-HT1A receptors, gene repression, and depression: guilt by association. *Neuroscientist* 10(6):575-93.
2. Albert PR, Zhou QY, Van Tol HH, Bunzow JR, Civelli O. (1990): Cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine1A receptor gene. *J Biol Chem* 265(10):5825-32.
3. Alpert NM, Bradshaw JF, Kennedy D, Correia JA. (1990): The principal axes transformation--a method for image registration. *J Nucl Med* 31(10):1717-22.
4. Andersson JL, Thurfjell L. (1997): Implementation and validation of a fully automatic system for intra- and interindividual registration of PET brain scans. *J Comput Assist Tomogr* 21(1):136-44.
5. Andersson JLR. (1998): How to obtain high-accuracy image registration: application to movement correction of dynamic positron emission tomography data. *The European Journal of Nuclear Medicine* 25(6):575-586.
6. Ashburner J, Friston KJ. (1997): Multimodal Image Coregistration and Partitioning-A Unified Framework. *Neuroimage* 1997:209-217.
7. Ashburner J, Friston KJ. (1999): Nonlinear spatial normalization using basis functions. *Hum Brain Mapp* 7(4):254-66.
8. Asselin MC, Cunningham VJ, Amano S, Gunn RN, Nahmias C. (2004): Parametrically defined cerebral blood vessels as non-invasive blood input functions for brain PET studies. *Phys Med Biol* 49(6):1033-54.
9. Aston JA, Cunningham VJ, Asselin MC, Hammers A, Evans AC, Gunn RN. (2002): Positron emission tomography partial volume correction: estimation and algorithms. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(8):1019-34.
10. Atkins AS, Mackiewicz BT. (1998): Fully Automated Segmentation of the Brain in MRI. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 17(1):98-107.
11. Aubert-Broche B, Evans AC, Collins L. (2006): A new improved version of the realistic digital brain phantom. *Neuroimage* 32(1):138-45.
12. Aznavour N, Rbah L, Leger L, Buda C, Sastre JP, Imhof A, Charnay Y, Zimmer L. (2006a): A comparison of in vivo and in vitro neuroimaging of 5-HT 1A receptor binding sites in the cat brain. *J Chem Neuroanat* 31(3):226-32.
13. Aznavour N, Rbah L, Riad M, Reilhac A, Costes N, Descarries L, Zimmer L. (2006b): A PET Imaging Study of 5-HT1A Receptors in Cat

-
- Brain After Acute and Chronic Fluoxetine Treatment. *Neuroimage*:834-842.
14. Aznavour N, Zimmer L. (2007): [(18F)MPPF as a tool for the in vivo imaging of 5-HT(1A) receptors in animal and human brain. *Neuropharmacology* 52:695-707.
 15. Bantick RA, Deakin JF, Grasby PM. (2001): The 5-HT1A receptor in schizophrenia: a promising target for novel atypical neuroleptics? *J Psychopharmacol* 15(1):37-46.
 16. Barnes NM, Sharp T. (1999): A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38(8):1083-152.
 17. Been LB, Suurmeijer AJ, Cobben DC, Jager PL, Hoekstra HJ, Elsinga PH. (2004): [18F]FLT-PET in oncology: current status and opportunities. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 31(12):1659-72.
 18. Bendriem B, Townsend DW. 1998. The Theory and Practice of 3D PET. Cox PH, editor. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher. 167 p.
 19. Blier P, de Montigny C. (1994): Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci* 15(7):220-6.
 20. Bloomfield PM, Spinks TJ, Reed J, Schnorr L, Westrip AM, Livieratos L, Fulton R, Jones T. (2003): The design and implementation of a motion correction scheme for neurological PET. *Phys Med Biol* 48(8):959-78.
 21. Brix G, Zaers J, Adam LE, Bellemann ME, Ostertag H, Trojan H, Haberkorn U, Doll J, Oberdorfer F, Lorenz WJ. (1997): Performance evaluation of a whole-body PET scanner using the NEMA protocol. National Electrical Manufacturers Association. *Journal of Nuclear Medicine* 38(10):1614-23.
 22. Brown L. (1992): A Survey of Images Registration Techniques. *ACM Computing Surveys* 24(4):325-376.
 23. Brown M, Marshall DR, Sobel BE, Bergmann SR. (1987): Delineation of myocardial oxygen utilization with carbon-11-labeled acetate. *Circulation* 76(3):687-96.
 24. Buhler P, Just U, Will E, Kotzerke J, van den Hoff J. (2004): An accurate method for correction of head movement in PET. *IEEE Trans Med Imaging* 23(9):1176-85.
 25. Buhot MC, Martin S, Segu L. (2000): Role of serotonin in memory impairment. *Ann Med* 32(3):210-21.
 26. Burnet PW, Eastwood SL, Harrison PJ. (1997): [3H]WAY-100635 for 5-HT1A receptor autoradiography in human brain: a comparison with [3H]8-OH-DPAT and demonstration of increased binding in the frontal cortex in schizophrenia. *Neurochem Int* 30(6):565-74.
 27. Buvat I, Chameroy V, Aubrey F, Pélégri M, Fakhri GE, Huguenin C, Banali H, Prokopek AT, Di Paola R. (1999): The need to develop guidelines for evaluations of medical image processing procedures. *SPIE Medical Imaging* 3661:1466-1477.

-
28. Cartwright JHE, Piro O. (1992): The Dynamics of Runge-Kutta Methods. *Int. J. Bifurcations Chaos* 2:427-449.
 29. Casey ME, Hoffman EJ. (1986): Quantitation in positron emission computed tomography: 7. A technique to reduce noise in accidental coincidence measurements and coincidence efficiency calibration. *J Comput Assist Tomogr* 10(5):845-50.
 30. Castiglioni I, Buvat I, Rizzo G, Gilardi MC, Feuardent J, Fazio F. (2005): A publicly accessible Monte Carlo database for validation purposes in emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32(10):1234-9.
 31. Chen Y, Penington NJ. (1996): Differential effects of protein kinase C activation on 5-HT_{1A} receptor coupling to Ca²⁺ and K⁺ currents in rat serotonergic neurones. *J Physiol* 496 (Pt 1):129-37.
 32. Chugani DC. (2002): Role of altered brain serotonin mechanisms in autism. *Mol Psychiatry* 7 Suppl 2:S16-7.
 33. Chugani DC. (2004): Serotonin in autism and pediatric epilepsies. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 10(2):112-6.
 34. Chugani DC, Muzik O, Chakraborty P, Mangner T, Chugani HT. (1998): Human brain serotonin synthesis capacity measured in vivo with alpha-[C- 11]methyl-L-tryptophan. *Synapse* 28(1):33-43.
 35. Chugani HT, Chugani DC. (2005): Imaging of serotonin mechanisms in epilepsy. *Epilepsy Curr* 5(6):201-6.
 36. Clarke LP, Velthuisen RP, Camacho MA, Heine JJ, Vaidyanathan M, Hall LO, Thatcher RW, Silbiger ML. (1995): MRI segmentation: methods and applications. *Magnetic Resonance Imaging* 13:343-368.
 37. Clarke WP, Yocca FD, Maayani S. (1996): Lack of 5-hydroxytryptamine_{1A}-mediated inhibition of adenylyl cyclase in dorsal raphe of male and female rats. *J Pharmacol Exp Ther* 277(3):1259-66.
 38. Cliffe IA. (2000): A retrospect on the discovery of WAY-100635 and the prospect for improved 5-HT_{1A} receptor PET radioligands. *Nucl Med Biol* 27(5):441-7.
 39. Cliffe IA, Brightwell CI, Fletcher A, Forster EA, Mansell HL, Reilly Y, Routledge C, White AC. (1993): (S)-N-tert-butyl-3-(4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-2-phenylpropanamide [(S)-WAY-100135]: a selective antagonist at presynaptic and postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. *J Med Chem* 36(10):1509-10.
 40. Cocosco CA, Zijdenbos AP, Evans AC. (2003): A fully automatic and robust brain MRI tissue classification method. *Med Image Anal* 7(4):513-27.
 41. Collins D, Zijdenbos A, Baar W, Evans A. ANIMAL+INSECT: improved cortical structure segmentation; 1999. p 210-223.
 42. Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC. (1994): Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized
-

-
- Talairach space. *Journal Of Computer Assisted Tomography* 18(2):192-205.
43. Collins DL, Zijdenbos AP, Kollokian V, Sled JG, Kabani NJ, Holmes CJ, Evans AC. (1998): Design and construction of a realistic digital brain phantom. *IEEE Trans Med Imaging* 17(3):463-8.
 44. Cooper J, Bloom F, Roth R. 1991. Serotonin (5-hydroxytryptamine) and histamine. In: Saxena P, Wallis D, Wouters W, Bevan P, editors. Cardiovascular pharmacology of 5-hydroxytryptamine. Dordrecht, Hollande: Kluwer academic publisher. p 259-270.
 45. Costes N, Merlet I, Ostrowsky K, Faillenot I, Lavenne F, Zimmer L, Ryvlin P, Le Bars D. (2005): A 18F-MPPF PET Normative Database of 5-HT_{1A} Receptor Binding in Men and Women Over Aging. *J Nucl Med* 46(12):1980-1989.
 46. Costes N, Merlet I, Zimmer L, Lavenne F, Cinotti L, Delforge J, Luxen A, Pujol J-F, Le Bars D. (2002): Modeling [18F]MPPF PET kinetics for the determination of 5-HT_{1A} concentration with multi-Injection. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 22(6):753-763.
 47. Cowen PJ. (2000): Psychopharmacology of 5-HT(1A) receptors. *Nucl Med Biol* 27(5):437-9.
 48. Crouzel C, Guillaume M, Barre L, Lemaire C, Pike VW. (1992): Ligands and tracers for PET studies of the 5-HT system--current status. *Int J Rad Appl Instrum B* 19(8):857-70.
 49. Cunningham VJ, Jones T. (1993): Spectral analysis of dynamic PET studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 13(1):15-23.
 50. Dahlstroem A, Fuxe K. (1964): Evidence for the Existence of Monoamine-Containing Neurons in the Central Nervous System. I. Demonstration of Monoamines in the Cell Bodies of Brain Stem Neurons. *Acta Physiol Scand Suppl*:SUPPL 232:1-55.
 51. Daube-Witherspoon ME, Karp JS, Casey ME, DiFilippo FP, Hines H, Muehllehner G, Simcic V, Stearns CW, Adam LE, Kohlmyer S, Sossi V. (2002): PET performance measurements using the NEMA NU 2-2001 standard. *J Nucl Med* 43(10):1398-409.
 52. Daube-Witherspoon ME, Muehllehner G. (1987): Treatment of axial data in three-dimensional PET. *J Nucl Med* 28(11):1717-24.
 53. Defrise M, Kinahan PE, Townsend DW, Michel C, Sibomana M, Newport DF. (1997): Exact and approximate rebinning algorithms for 3-D PET data. *IEEE Trans Med Imaging* 16(2):145-58.
 54. Delforge J, Bottlaender M, Pappata S, Loc'h C, Syrota A. (2001): Absolute quantification by positron emission tomography of the endogenous ligand. *J Cereb Blood Flow Metab* 21(5):613-30.
 55. Delforge J, Pappata S, Millet P, Samson Y, Bendriem B, Jobert A, Crouzel C, Syrota A. (1995): Quantification of benzodiazepine receptors in human brain using PET, [11C]flumazenil, and a single-experiment protocol. *Journal Of Cerebral Blood Flow And Metabolism* 15(2):284-300.

-
56. Delforge J, Syrota A, Bendriem B. (1996): Concept of reaction volume in the in vivo ligand-receptor model [see comments]. *Journal Of Nuclear Medicine* 37(1):118-25.
 57. Delforge J, Syrota A, Mazoyer BM. (1989): Experimental design optimisation: theory and application to estimation of receptor model parameters using dynamic positron emission tomography. *Phys Med Biol* 34(4):419-35.
 58. Delforge J, Syrota A, Mazoyer BM. (1990): Identifiability analysis and parameter identification of an in vivo ligand-receptor model from PET data. *IEEE Trans Biomed Eng* 37(7):653-61.
 59. Derry C, Benjamin C, Bladin P, le Bars D, Tochon-Danguy H, Berkovic SF, Zimmer L, Costes N, Mulligan R, Reutens D. (2006): Increased serotonin receptor availability in human sleep: evidence from an [18F]MPPF PET study in narcolepsy. *Neuroimage* 30(2):341-8.
 60. Descarries L, Watkins KC, Garcia S, Beaudet A. (1982): The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of adult rat: a light and electron microscope radioautographic study. *J Comp Neurol* 207(3):239-54.
 61. Dhaenen H. (2001): Imaging the serotonergic system in depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 251 Suppl 2:II76-80.
 62. Dillon KA, Gross-Isseroff R, Israeli M, Biegon A. (1991): Autoradiographic analysis of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in the human brain postmortem: effects of age and alcohol. *Brain Res* 554(1-2):56-64.
 63. Dimitrakopoulou-Strauss A, Strauss LG. (2003): PET imaging of prostate cancer with ¹¹C-acetate. *J Nucl Med* 44(4):556-8.
 64. Elsinga PH, Hatano K, Ishiwata K. (2006): PET tracers for imaging of the dopaminergic system. *Curr Med Chem* 13(18):2139-53.
 65. Evans AC, Beil C, Marrett S, Thompson CJ, Hakim A. (1988): Anatomical-functional correlation using an adjustable MRI-based region of interest atlas with positron emission tomography. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 8:513-530.
 66. Farde L, Ito H, Swahn CG, Pike VW, Halldin C. (1998): Quantitative analyses of carbonyl-carbon-11-WAY-100635 binding to central 5-hydroxytryptamine-1A receptors in man. *J Nucl Med* 39(11):1965-71.
 67. Fargin A, Raymond JR, Lohse MJ, Kobilka BK, Caron MG, Lefkowitz RJ. (1988): The genomic clone G-21 which resembles a beta-adrenergic receptor sequence encodes the 5-HT_{1A} receptor. *Nature* 335(6188):358-60.
 68. Fava M. (2003): The role of the serotonergic and noradrenergic neurotransmitter systems in the treatment of psychological and physical symptoms of depression. *J Clin Psychiatry* 64 Suppl 13:26-9.
 69. Frackowiak RS, Lenzi GL, Jones T, Heather JD. (1980): Quantitative measurement of regional cerebral blood flow and oxygen

-
- metabolism in man using ^{15}O and positron emission tomography: theory, procedure, and normal values. *J Comput Assist Tomogr* 4(6):727-36.
70. Frankle WG, Slifstein M, Gunn RN, Huang Y, Hwang DR, Darr EA, Narendran R, Abi-Dargham A, Laruelle M. (2006): Estimation of serotonin transporter parameters with ^{11}C -DASB in healthy humans: reproducibility and comparison of methods. *J Nucl Med* 47(5):815-26.
 71. Friston KJ, Ashburner J, Frith CD, Poline J-B, Heather JD, Frackowiak RJS. (1995): Spatial realignment and normalization of images. *Human Brain Mapping* 2:165-189.
 72. Friston KJ, Malizia AL, Wilson S, Cunningham VJ, Jones T, Nutt DJ. (1997): Analysis of dynamic radioligand displacement or "activation" studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 17(1):80-93.
 73. Friston KJ, Worsley KJ, Frackowiak RSJ, Mazziotta JC, Evans AC. (1994): Assessing the significance of focal activations using their spatial extent. *Human Brain Mapping* 1:210-220.
 74. Frouin V, Comtat C, Reilhac A, Evans AC, Grégoire M-C. Comparison between an Image- and a Sinogram-Based Correction Algorithm for Partial Volume Effect in 3D PET Imaging.; 2000; Lyon.
 75. Frouin V, Comtat C, Reilhac A, Gregoire MC. (2002): Correction of partial-volume effect for PET striatal imaging: fast implementation and study of robustness. *J Nucl Med* 43(12):1715-26.
 76. Gariboldi M, Tutka P, Samanin R, Vezzani A. (1996): Stimulation of 5-HT $_{1A}$ receptors in the dorsal hippocampus and inhibition of limbic seizures induced by kainic acid in rats. *Br J Pharmacol* 119(5):813-8.
 77. Gaspar P, Cases O, Maroteaux L. (2003): The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat Rev Neurosci* 4(12):1002-12.
 78. Gillin JC, Buchsbaum M, Wu J, Clark C, Bunney W, Jr. (2001): Sleep deprivation as a model experimental antidepressant treatment: findings from functional brain imaging. *Depress Anxiety* 14(1):37-49.
 79. Ginovart N, Hassoun W, Le Bars D, Weissmann D, Leviel V. (2000): In vivo characterization of p-[(18)F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635 for visualization of 5-HT(1a) receptors. *Synapse* 35(3):192-200.
 80. Goldberg DP, Hillier VF. (1979): A scaled version of the general health questionnaire. *Psychol Med* 9(1):139-45.
 81. Gozlan H, El Mestikawy S, Pichat L, Glowinski J, Hamon M. (1983): Identification of presynaptic serotonin autoreceptors using a new ligand: 3H-PAT. *Nature* 305(5930):140-2.
 82. Gross C, Zhuang X, Stark K, Ramboz S, Oosting R, Kirby L, Santarelli L, Beck S, Hen R. (2002): Serotonin $_{1A}$ receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature* 416(6879):396-400.
-

-
83. Gross-Isseroff R, Salama D, Israeli M, Biegon A. (1990): Autoradiographic analysis of age-dependent changes in serotonin 5-HT₂ receptors of the human brain postmortem. *Brain Res* 519(1-2):223-7.
 84. Gunn RN, Gunn SR, Cunningham VJ. (2001): Positron emission tomography compartmental models. *J Cereb Blood Flow Metab* 21(6):635-52.
 85. Gunn RN, Gunn SR, Turkheimer FE, Aston JA, Cunningham VJ. (2002): Positron emission tomography compartmental models: a basis pursuit strategy for kinetic modeling. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(12):1425-39.
 86. Gunn RN, Sargent PA, Bench CJ, Rabiner EA, Osman S, Pike VW, Hume SP, Grasby PM, Lammertsma AA. (1998): Tracer kinetic modeling of the 5-HT_{1A} receptor ligand [carbonyl-¹¹C]WAY-100635 for PET. *Neuroimage* 8(4):426-40.
 87. Hall H, Lundkvist C, Halldin C, Farde L, Pike VW, McCarron JA, Fletcher A, Cliffe IA, Barf T, Wikstrom H, Sedvall G. (1997): Autoradiographic localization of 5-HT_{1A} receptors in the post-mortem human brain using [3H]WAY-100635 and [¹¹C]way-100635. *Brain Res* 745(1-2):96-108.
 88. Hamon M, Lanfumey L, el Mestikawy S, Boni C, Miquel MC, Bolanos F, Schechter L, Gozlan H. (1990): The main features of central 5-HT₁ receptors. *Neuropsychopharmacology* 3(5-6):349-60.
 89. Hartvig P, Bergstrom M, Antoni G, Langstrom B. (2002): Positron emission tomography and brain monoamine neurotransmission -- entries for study of drug interactions. *Curr Pharm Des* 8(16):1417-34.
 90. Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, Bajwa P, Parsons LH, Tecott LH. (1998): Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(25):15049-54.
 91. Heiss WD, Herholz K. (2006): Brain receptor imaging. *J Nucl Med* 47(2):302-12.
 92. Hensler JG. (2002): Differential regulation of 5-HT_{1A} receptor-G protein interactions in brain following chronic antidepressant administration. *Neuropsychopharmacology* 26(5):565-73.
 93. Hirvonen J, Kajander J, Allonen T, Oikonen V, Nagren K, Hietala J. (2006): Measurement of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding using positron emission tomography and [carbonyl-(¹¹C)]WAY-100635-considerations on the validity of cerebellum as a reference region. *J Cereb Blood Flow Metab*.
 94. Hjorth S, Sharp T. (1991): Effect of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. *Life Sci* 48(18):1779-86.

-
95. Hoffman E, Cutler P, Maziotta J. (1990): 3-D phantom to simulate cerebral blood flow and metabolic images for PET. *IEEE Transactions in Nuclear Sciences* 37(2):616-620.
 96. Hopkins WG. (2000): A new view of statistics. *Internet Society for Sport Science* <http://www.sportsci.org/resource/stats/>.
 97. Hoyer D, Pazos A, Probst A, Palacios JM. (1986): Serotonin receptors in the human brain. I. Characterization and autoradiographic localization of 5-HT_{1A} recognition sites. Apparent absence of 5-HT_{1B} recognition sites. *Brain Res* 376(1):85-96.
 98. Hudson H, Larkin R. (1994): Accelerated Image Reconstruction using Ordered subset of Projectio Data. *IEEE Transactions in Medical Imaging* 13:601-609.
 99. Hume S, Hirani E, Opacka-Juffry J, Myers R, Townsend C, Pike V, Grasby P. (2001): Effect of 5-HT on binding of [(11)C] WAY 100635 to 5-HT(1A) receptors in rat brain, assessed using in vivo microdialysis nd PET after fenfluramine. *Synapse* 41(2):150-9.
 100. Hutchins GD. (1997): Quantitative evaluation of myocardial blood flow with [13N]ammonia. *Cardiology* 88(1):106-15.
 101. Ichise M, Meyer JH, Yonekura Y. (2001): An introduction to pet and spect neuroreceptor quantification models. *J Nucl Med* 42(5):755-63.
 102. Iida H, Kanno I, Miura S, Murakami M, Takahashi K, Uemura K. (1986): Error analysis of a quantitative cerebral blood flow measurement using H₂(15)O autoradiography and positron emission tomography, with respect to the dispersion of the input function. *J Cereb Blood Flow Metab* 6(5):536-45.
 103. Iqbal N, van Praag HM. (1995): The role of serotonin in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 5 Suppl:11-23.
 104. Ishiwata K, Hayakawa N, Ogi N, Oda K, Toyama H, Endo K, Tanaka A, Senda M. (1999): Comparison of three PET dopamine D₂-like receptor ligands, [11C]raclopride, [11C]nemonapride and [11C]N-methylspiperone, in rats. *Ann Nucl Med* 13(3):161-7.
 105. Jagoda EM, Lang L, Tokugawa J, Simmons A, Ma Y, Contoreggi C, Kiesewetter D, Eckelman WC. (2006): Development of 5-HT_{1A} receptor radioligands to determine receptor density and changes in endogenous 5-HT. *Synapse* 59(6):330-41.
 106. Jannin P, Krupinski E, Warfield S. (2006): Validation in medical image processing. *IEEE Trans Med Imaging* 25(11):1405-9.
 107. Jenkinson M, Smith S. (2001): A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 5(2):143-56.
 108. Johnson RG, Fiorella D, Winter JC, Rabin RA. (1997): [3H]8-OH-DPAT labels a 5-HT site coupled to inhibition of phosphoinositide hydrolysis in the dorsal raphe. *Eur J Pharmacol* 329(1):99-106.

-
109. Jueptner M, Weiller C. (1995): Review: Does measurement of regional cerebral blood flow reflect synaptic activity? Implications for PET and fMRI. *NeuroImage* 2:148-156.
 110. Katayama J, Yakushiji T, Akaike N. (1997): Characterization of the K⁺ current mediated by 5-HT_{1A} receptor in the acutely dissociated rat dorsal raphe neurons. *Brain Res* 745(1-2):283-92.
 111. Kaye WH, Bailer UF, Frank GK, Wagner A, Henry SE. (2005a): Brain imaging of serotonin after recovery from anorexia and bulimia nervosa. *Physiol Behav* 86(1-2):15-7.
 112. Kaye WH. (1997): Anorexia nervosa, obsessional behavior, and serotonin. *Psychopharmacol Bull* 33(3):335-44.
 113. Kaye WH, Frank GK, Bailer UF, Henry SE. (2005b): Neurobiology of anorexia nervosa: clinical implications of alterations of the function of serotonin and other neuronal systems. *Int J Eat Disord* 37 Suppl:S15-9; discussion S20-1.
 114. Kepe V, Barrio JR, Huang SC, Ercoli L, Siddarth P, Shoghi-Jadid K, Cole GM, Satyamurthy N, Cummings JL, Small GW, Phelps ME. (2006): Serotonin 1A receptors in the living brain of Alzheimer's disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(3):702-7.
 115. Kessler RM, Ellis JR, Jr., Eden M. (1984): Analysis of emission tomographic scan data: limitations imposed by resolution and background. *J Comput Assist Tomogr* 8(3):514-22.
 116. Khawaja X. (1995): Quantitative autoradiographic characterisation of the binding of [3H]WAY-100635, a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Brain Res* 673(2):217-25.
 117. Kia HK, Miquel MC, Brisorgueil MJ, Daval G, Riad M, El Mestikawy S, Hamon M, Verge D. (1996): Immunocytochemical localization of serotonin_{1A} receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 365(2):289-305.
 118. Kim JS, Ichise M, Sangare J, Innis RB. (2006): PET Imaging of Serotonin Transporters with [11C]DASB: Test-Retest Reproducibility Using a Multilinear Reference Tissue Parametric Imaging Method. *J Nucl Med* 47(2):208-214.
 119. Koeppe RA, Holthoff VA, Frey KA, Kilbourn MR, Kuhl DE. (1991): Compartmental analysis of [11C]flumazenil kinetics for the estimation of ligand transport rate and receptor distribution using positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 11(5):735-44.
 120. Koopmans KP, de Vries EG, Kema IP, Elsinga PH, Neels OC, Sluiter WJ, van der Horst-Schrivers AN, Jager PL. (2006): Staging of carcinoid tumours with 18F-DOPA PET: a prospective, diagnostic accuracy study. *Lancet Oncol* 7(9):728-34.
 121. Krohn KA, Mankoff DA, Muzi M, Link JM, Spence AM. (2005): True tracers: comparing FDG with glucose and FLT with thymidine. *Nucl Med Biol* 32(7):663-71.

-
122. Kung HF, Kung MP, Clarke W, Maayani S, Zhuang ZP. (1994): A potential 5-HT_{1A} receptor antagonist: p-MPPI. *Life Sci* 55(19):1459-62.
 123. Kung HF, Stevenson DA, Zhuang ZP, Kung MP, Frederick D, Hurt SD. (1996): New 5-HT_{1A} receptor antagonist: [3H]p-MPPF. *Synapse* 23(4):344-6.
 124. Kusserow H, Davies B, Hortnagl H, Voigt I, Stroh T, Bert B, Deng DR, Fink H, Veh RW, Theuring F. (2004): Reduced anxiety-related behaviour in transgenic mice overexpressing serotonin 1A receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 129(1-2):104-16.
 125. Labbe C, Froment JC, Kennedy A, Ashburner J, Cinotti L. (1996): Positron emission tomography metabolic data corrected for cortical atrophy using magnetic resonance imaging. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 10(3):141-70.
 126. Lammertsma AA, Hume SP. (1996): Simplified reference tissue model for PET receptor studies. *Neuroimage* 4(3 Pt 1):153-8.
 127. Lanfumey L, Hamon M. (2000): Central 5-HT_{1A} receptors: regional distribution and functional characteristics. *Nucl Med Biol* 27(5):429-35.
 128. Lanfumey L, Hamon M. (2004): 5-HT₁ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 3(1):1-10.
 129. Lang L, Jagoda E, Schmall B, Sassaman M, Ma Y, Eckelman WC. (2000): Fluoro analogs of WAY-100635 with varying pharmacokinetics properties. *Nucl Med Biol* 27(5):457-62.
 130. Laruelle M. (2000): Imaging synaptic neurotransmission with in vivo binding competition techniques: a critical review. *J Cereb Blood Flow Metab* 20(3):423-51.
 131. Laruelle M, Slifstein M, Huang Y. (2002): Positron emission tomography: imaging and quantification of neurotransporter availability. *Methods* 27(3):287-99.
 132. Laruelle M, van Dyck C, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Zoghbi SS, Charney DS, Baldwin RM, Hoffer PB, Kung HF, Innis RB. (1994): Compartmental modeling of iodine-123-iodobenzofuran binding to dopamine D₂ receptors in healthy subjects. *J Nucl Med* 35(5):743-54.
 133. Lauder JM, Krebs H. (1978): Serotonin as a differentiation signal in early neurogenesis. *Dev Neurosci* 1(1):15-30.
 134. Le Bars D, Bonmarchand G, Alvarez G, Lemaire C, Mosdzianowski C. New Automation of MPPF Using a Coincidence Synthesizer; 2001; Interlaken, Switzerland. *J Labelled Cpd Radiopharm.* p s1045-1046.
 135. Le Bars D, Lemaire C, Ginovart N, Plenevaux A, Aerts J, Brihaye C, Hassoun W, Levie V, Mekhsian P, Weissmann D, Pujol JF, Luxen A, Comar D. (1998): High-yield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of p-[18F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635. *Nuclear Medicine and Biology* 25(4):343-50.
-

-
136. Lehmann T. 2002. From plastic to gold: a unified classification scheme for references standards in medical imaging processing. In: Hansom K, editor. *Image Processing*. Bellingham: SPIE.
 137. Leibowitz SF. (1990): The role of serotonin in eating disorders. *Drugs* 39 Suppl 3:33-48.
 138. Leonard BE. (1994): Serotonin receptors--where are they going? *Int Clin Psychopharmacol* 9 Suppl 1:7-17.
 139. Lerner-Natoli M. (1987): Serotonin and kindling development. *Int J Neurosci* 36(3-4):139-51.
 140. Levin C, Leal J, Hoffman E. (1995): A Monte-Carlo Correction for the Effect of Compton Scattering in 3D-PET Brain Imaging. *IEEE Transactions in Nuclear Sciences* 42(4):1181-1185.
 141. Lewitt RM, Muehllehner G, Karpt JS. (1994): Three-dimensional image reconstruction for PET by multi-slice rebinning and axial image filtering. *Phys Med Biol* 39(3):321-39.
 142. Ljungberg M, Strand SE. (1990): Scatter and attenuation correction in SPECT using density maps and Monte Carlo simulated scatter functions. *J Nucl Med* 31(9):1560-7.
 143. Logan J. (2000): Graphical analysis of PET data applied to reversible and irreversible tracers. *Nucl Med Biol* 27(7):661-70.
 144. Logan J, Fowler JS, Volkow ND, Wolf AP, Dewey SL, Schlyer DJ, MacGregor RR, Hitzemann R, Bendriem B, Gatley SJ, et al. (1990): Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [N-11C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab* 10(5):740-7.
 145. Louw D, Sutherland GR, Glavin GB, Girvin J. (1989): A study of monoamine metabolism in human epilepsy. *Can J Neurol Sci* 16(4):394-7.
 146. Lowther S, De Paermentier F, Cheetham SC, Crompton MR, Katona CL, Horton RW. (1997): 5-HT_{1A} receptor binding sites in post-mortem brain samples from depressed suicides and controls. *J Affect Disord* 42(2-3):199-207.
 147. Maeda J, Suhara T, Ogawa M, Okauchi T, Kawabe K, Zhang MR, Semba J, Suzuki K. (2001): In vivo binding properties of [carbonyl-11C]WAY-100635: effect of endogenous serotonin. *Synapse* 40(2):122-9.
 148. Maes F, Vandermeulen D, Suetens P. (1999): Comparative evaluation of multiresolution optimization strategies for multimodality image registration by maximization of mutual information. *Med Image Anal* 3(4):373-86.
 149. Mason NS, Mathis CA. (2003): Positron emission tomography radiochemistry. *Neuroimaging Clin N Am* 13(4):671-87.
 150. Mathis CA, Simpson NR, Mahmood K, Kinahan PE, Mintun MA. (1994): [11C]WAY 100635: a radioligand for imaging 5-HT_{1A}

-
- receptors with positron emission tomography. *Life Sci* 55(20):PL403-7.
151. Matsubara S, Arora RC, Meltzer HY. (1991): Serotonergic measures in suicide brain: 5-HT1A binding sites in frontal cortex of suicide victims. *J Neural Transm Gen Sect* 85(3):181-94.
 152. Mauguiere F, Ryvlin P. (2004): The role of PET in presurgical assessment of partial epilepsies. *Epileptic Disord* 6(3):193-215.
 153. Mazziotta J, Toga A, Evans A, Fox P, Lancaster J, Zilles K, Woods R, Paus T, Simpson G, Pike B and others. (2001): A probabilistic atlas and reference system for the human brain: International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356(1412):1293-322.
 154. Meltzer CC, Drevets WC, Price JC, Mathis CA, Lopresti B, Greer PJ, Villemagne V, Holt D, Mason NS, Houck PR, Reynolds CF, 3rd, DeKosky ST. (2001): Gender-specific aging effects on the serotonin 1A receptor. *Brain Res* 895:9-17.
 155. Meltzer CC, Smith G, DeKosky ST, Pollock BG, Mathis CA, Moore RY, Kupfer DJ, Reynolds CF, 3rd. (1998): Serotonin in aging, late-life depression, and Alzheimer's disease: the emerging role of functional imaging. *Neuropsychopharmacology* 18(6):407-30.
 156. Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, Ryvlin P, Isnard J, Faillenot I, Lavenne F, Dufournel D, Le Bars D, Mauguiere F. (2004a): 5-HT1A receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [18F]MPPF-PET study. *Brain* 127(Pt 4):900-13. Epub 2004 Feb 25.
 157. Merlet I, Ryvlin P, Costes N, Dufournel D, Isnard J, Faillenot I, Ostrowsky K, Lavenne F, Le Bars D, Mauguiere F. (2004b): Statistical parametric mapping of 5-HT1A receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage* 22(2):886-96.
 158. Meston CM, Gorzalka BB. (1992): Psychoactive drugs and human sexual behavior: the role of serotonergic activity. *J Psychoactive Drugs* 24(1):1-40.
 159. Meyer JH, Gunn RN, Myers R, Grasby PM. (1999): Assessment of spatial normalization of PET ligand images using ligand-specific templates. *Neuroimage* 9(5):545-53.
 160. Mintun MA, Raichle ME, Kilbourn MR, Wooten GF, Welch MJ. (1984): A quantitative model for the in vivo assessment of drug binding sites with positron emission tomography. *Ann Neurol* 15(3):217-27.
 161. Montgomery AJ, Thielemans K, Mehta MA, Turkheimer F, Mustafovic S, Grasby PM. (2006): Correction of head movement on PET studies: comparison of methods. *J Nucl Med* 47(12):1936-44.
 162. Moresco RM, Matarrese M, Fazio F. (2006): PET and SPET molecular imaging: focus on serotonin system. *Curr Top Med Chem* 6(18):2027-34.

-
163. Morris ED, Fissler RE, Alpert NM, Rauch SL, Fischman AJ. (1995): In vivo Imaging of neuromodulation Using Positron Emission Tomography: Optimal Ligand Characteristics and Task Length for detection activation. *Human Brain Mapping* 3:35-55.
 164. Morris ED, Yoder KK. (2007): Positron emission tomography displacement sensitivity: predicting binding potential change for positron emission tomography tracers based on their kinetic characteristics. *J Cereb Blood Flow Metab* 27(3):606-17.
 165. Muller-Gartner HW, Links JM, Prince JL, Bryan RN, McVeigh E, Leal JP, Davatzikos C, Frost JJ. (1992): Measurement of radiotracer concentration in brain gray matter using positron emission tomography: MRI-based correction for partial volume effects. *J Cereb Blood Flow Metab* 12(4):571-83.
 166. Oleskevich S. (1995): G alpha o1 decapeptide modulates the hippocampal 5-HT1A potassium current. *J Neurophysiol* 74(5):2189-93.
 167. Ollinger JM. (1996): Model-based scatter correction for fully 3D PET. *Phys Med Biol* 41(1):153-76.
 168. Oquendo MA, Ellis SP, Greenwald S, Malone KM, Weissman MM, Mann JJ. (2001): Ethnic and sex differences in suicide rates relative to major depression in the United States. *Am J Psychiatry* 158(10):1652-8.
 169. Palego L, Marazziti D, Rossi A, Giannaccini G, Naccarato AG, Lucacchini A, Cassano GB. (1997): Apparent absence of aging and gender effects on serotonin 1A receptors in human neocortex and hippocampus. *Brain Res* 758(1-2):26-32.
 170. Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, Toth M. (1998): Increased anxiety of mice lacking the serotonin1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(18):10734-9.
 171. Parsey RV, Oquendo MA, Ogden RT, Olvet DM, Simpson N, Huang YY, Van Heertum RL, Arango V, Mann JJ. (2006): Altered serotonin 1A binding in major depression: a [carbonyl-C-11]WAY100635 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* 59(2):106-13.
 172. Parsey RV, Oquendo MA, Simpson NR, Ogden RT, Van Heertum R, Arango V, Mann JJ. (2002): Effects of sex, age, and aggressive traits in man on brain serotonin 5-HT1A receptor binding potential measured by PET using [C-11]WAY-100635. *Brain Res* 954(2):173-82.
 173. Parsey RV, Slifstein M, Hwang DR, Abi-Dargham A, Simpson N, Mawlawi O, Guo NN, Van Heertum R, Mann JJ, Laruelle M. (2000): Validation and reproducibility of measurement of 5-HT1A receptor parameters with [carbonyl-11C]WAY-100635 in humans: comparison of arterial and reference tissue input functions. *J Cereb Blood Flow Metab* 20(7):1111-33.
 174. Passchier J, van Waarde A. (2001): Visualisation of serotonin-1A (5-HT1A) receptors in the central nervous system. *Eur J Nucl Med* 28(1):113-29.
-

-
175. Passchier J, van Waarde A, Pieterman RM, Elsinga PH, Pruijm J, Hendrikse HN, Willemsen AT, Vaalburg W. (2000a): In vivo delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with [¹⁸F]MPPF. *J Nucl Med* 41(11):1830-5.
 176. Passchier J, van Waarde A, Pieterman RM, Elsinga PH, Pruijm J, Hendrikse HN, Willemsen AT, Vaalburg W. (2000b): Quantitative imaging of 5-HT_{1A} receptor binding in healthy volunteers with [(18)f]p-MPPF. *Nucl Med Biol* 27(5):473-6.
 177. Passchier J, van Waarde A, Vaalburg W, Willemsen AT. (2001): On the quantification of [¹⁸F]MPPF binding to 5-HT_{1A} receptors in the human brain. *J Nucl Med* 42(7):1025-31.
 178. Pazos A, Probst A, Palacios JM. (1987): Serotonin receptors in the human brain--III. Autoradiographic mapping of serotonin-1 receptors. *Neuroscience* 21(1):97-122.
 179. Peroutka SJ. (1995): 5-HT receptors: past, present and future. *Trends Neurosci* 18(2):68-9.
 180. Pike VW, Halldin C, Wikstrom H, Marchais S, McCarron JA, Sandell J, Nowicki B, Swahn C, Osman S, Hume SP, Constantinou M, Andree B, Farde L. (2000): Radioligands for the study of brain 5-HT_{1A} receptors in vivo- development of some new analogues of way. *Nucl Med Biol* 27(5):449-55.
 181. Pike VW, McCarron JA, Lammerstma AA, Hume SP, Poole K, Grasby PM, Malizia A, Cliffe IA, Fletcher A, Bench CJ. (1995): First delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [¹¹C]WAY-100635. *Eur J Pharmacol* 283(1-3):R1-3.
 182. Pike VW, McCarron JA, Lammertsma AA, Osman S, Hume SP, Sargent PA, Bench CJ, Cliffe IA, Fletcher A, Grasby PM. (1996): Exquisite delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [carbonyl-¹¹ C]WAY-100635. *Eur J Pharmacol* 301:R5-7.
 183. Pineyro G, Blier P. (1999): Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. *Pharmacol Rev* 51(3):533-91.
 184. Pintor M, Mefford IN, Hutter I, Pocotte SL, Wyler AR, Nadi NS. (1990): Levels of biogenic amines, their metabolites, and tyrosine hydroxylase activity in the human epileptic temporal cortex. *Synapse* 5(2):152-6.
 185. Plenevaux A, Lemaire C, Aerts J, Lacan G, Rubins D, Melega WP, Brihaye C, Degueldre C, Fuchs S, Salmon E, Maquet P, Laureys S, Damhaut P, Weissmann D, Le Bars D, Pujol J, Luxen A. (2000a): [(18)F]p-MPPF: A radiolabeled antagonist for the study of 5-HT_{1A} receptors with PET. *Nucl Med Biol* 27(5):467-71.
 186. Plenevaux A, Weissmann D, Aerts J, Lemaire C, Brihaye C, Degueldre C, Le Bars D, Comar D, Pujol J, Luxen A. (2000b): Tissue distribution, autoradiography, and metabolism of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2' -[N-2\'\'-pyridinyl)-p-[(18)F]fluorobenzamido]ethyl]piperazine (p-[(18)F]MPPF), a new serotonin 5-HT_{1A} antagonist for positron emission tomography: An In vivo study in rats. *Journal of Neurochemistry* 75(2):803-11.
-

-
187. Poline JB, Worsley KJ, Evans AC, Friston KJ. (1997): Combining spatial extent and peak intensity to test for activations in functional imaging. *NeuroImage* 5:83-96.
 188. Praschak-Rieder N, Hussey D, Wilson AA, Carella A, Lee M, Dunn E, Willeit M, Bagby RM, Houle S, Meyer JH. (2004): Tryptophan depletion and serotonin loss in selective serotonin reuptake inhibitor-treated depression: an [(18)F] MPPF positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* 56(8):587-91.
 189. Purves D, Williams SM. 2001. Neuroscience. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates. xviii, 681, [44] p.
 190. Rabiner EA, Messa C, Sargent PA, Husted-Kjaer K, Montgomery A, Lawrence AD, Bench CJ, Gunn RN, Cowen P, Grasby PM. (2002): A database of [(11)C]WAY-100635 binding to 5-HT(1A) receptors in normal male volunteers: normative data and relationship to methodological, demographic, physiological, and behavioral variables. *Neuroimage* 15(3):620-32.
 191. Ramboz S, Oosting R, Amara DA, Kung HF, Blier P, Mendelsohn M, Mann JJ, Brunner D, Hen R. (1998): Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(24):14476-81.
 192. Rankovitch A. (1962): Positron scanner for Locating Brain Tumors. *IEEE Transactions on Nuclear Sciences* 9:45-49.
 193. Ravina B, Eidelberg D, Ahlskog JE, Albin RL, Brooks DJ, Carbon M, Dhawan V, Feigin A, Fahn S, Guttman M and others. (2005): The role of radiotracer imaging in Parkinson disease. *Neurology* 64(2):208-15.
 194. Rbahi L, Leviel V, Zimmer L. (2003): Displacement of the PET ligand 18F-MPPF by the electrically evoked serotonin release in the rat hippocampus. *Synapse* 49(4):239-45.
 195. Reilhac A, Bathen G, Michel C, Grova C, Tohka J, Collins L, Costes N, Evans A. (2005): PET-SORTEO: Validation and Development of Database of Simulated PET Volumes. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 52(5).
 196. Reilhac A, Evans A, Gimenez G, Costes N. (2006): Creation and Application of a Simulated Database of Dynamic [18F]MPPF PET Acquisitions Incorporating Inter-Individual Anatomical and Biological Variability. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 25(11):1431-39.
 197. Reilhac A, Gregoire M-C, Costes N, Lavenne F, Pierre C, Diou A, Pujol J-F. A PET Monte-Carlo Simulator from Numerical Phantom: Validation Against the EXACT ECAT HR+ Scanner; 1999; Seattle. p Accepted.
 198. Reilhac A, Lartisien C, Costes N, Sans S, comtat C, Evans A. (2002): Accounting for singles rates related phenomena in PET Monte-Carlo based simulations. *IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record*, 3(3):1617-1621.
-

-
199. Reilhac A, Lartizien C, Costes N, Sans S, Comtat C, Gunn RN, Evans AC. (2004): PET-SORTEO : A Monte Carlo-Based Simulator With High count Rate Capabilities. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 51(1):46-52.
 200. Reilhac A, Rousset OG, Comtat C, Frouin V, Grégoire M-C, Evans AC. A correction Algorithm of Partial Volume Effect in 3D TEP imaging: Principle and Validation; *IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record* 2000; Lyon.
 201. Reilhac A, Tomeï S, Buvat I, Michel C, Kehren F, Costes N. (2007): Simulation-based Evaluation of OSEM Iterative Reconstruction Methods in Dynamic Brain PET studies. *Neuroimage* in press.
 202. Riad M, Zimmer L, Rbahi L, Watkins KC, Hamon M, Descarries L. (2004): Acute treatment with the antidepressant fluoxetine internalizes 5-HT_{1A} autoreceptors and reduces the in vivo binding of the PET radioligand [18F]MPPF in the nucleus raphe dorsalis of rat. *J Neurosci* 24(23):5420-6.
 203. Roland PE, Zilles K. (1994): Brain atlases- a new research tool. *Trends in Neurosciences* 17:458-467.
 204. Rousset OG, Ma Y, Evans AC. (1998): Correction for Partial Volume Effects in PET: Principle and Validation. *Journal of Nuclear Medicine* 39(5):904-911.
 205. Rudnick G, Wall SC. (1992): The molecular mechanism of "ecstasy" [3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)]: serotonin transporters are targets for MDMA-induced serotonin release. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(5):1817-21.
 206. Rueter LE, Fornal CA, Jacobs BL. (1997): A critical review of 5-HT brain microdialysis and behavior. *Rev Neurosci* 8(2):117-37.
 207. Sanabria-Bohorquez SM, Biver F, Damhaut P, Wikler D, Veraart C, Goldman S. (2002): Quantification of 5-HT_{1A} receptors in human brain using p-MPPF kinetic modelling and PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 29(1):76-81.
 208. Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J, Gunn RN, Grasby PM, Cowen PJ. (2000): Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with [11C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57(2):174-80.
 209. Schirrmester H, Guhlmann A, Elsner K, Kotzerke J, Glatting G, Rentschler M, Neumaier B, Trager H, Nussle K, Reske SN. (1999): Sensitivity in detecting osseous lesions depends on anatomic localization: planar bone scintigraphy versus 18F PET. *J Nucl Med* 40(10):1623-9.
 210. Sechet S, Reilhac A, Gunn RN, Evans A, Dagher, A. Frame misalignment-induced errors in PET studies: an investigation on strategies for correction; 2002; Norfolk, USA. p M7-208.
 211. Sharp T, Bramwell SR, Grahame-Smith DG. (1990): Release of endogenous 5-hydroxytryptamine in rat ventral hippocampus evoked

-
- by electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus as detected by microdialysis: sensitivity to tetrodotoxin, calcium and calcium antagonists. *Neuroscience* 39(3):629-37.
212. Shepp L, Vardi Y. (1982): Maximum Likelihood reconstruction for emission tomography. *IEEE Transactions in Medical Imaging* 2:113-119.
 213. Shiue CY, Shiue GG, Mozley PD, Kung MP, Zhuang ZP, Kim HJ, Kung HF. (1997): P-[18F]MPPF: a potential radioligand for PET studies of 5-HT_{1A} receptors in humans. *Synapse* 25(2):147-54.
 214. Shively CA, Friedman DP, Gage HD, Bounds MC, Brown-Proctor C, Blair JB, Henderson JA, Smith MA, Buchheimer N. (2006): Behavioral depression and positron emission tomography-determined serotonin 1A receptor binding potential in cynomolgus monkeys. *Arch Gen Psychiatry* 63(4):396-403.
 215. Shum DH, K.McFarland, Bain JD. (1994): Assessment of attention: relationship between psychological testing and information processing approaches. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 16:531-538.
 216. Sibon I, Benkelfat C, Gravel P, Aznavour N, Costes N, Mzengeza S, Booi L, Baker G, Soucy J-P, Zimmer L, Descarries L. (2007): Internalization of serotonin 1A autoreceptors in dorsal lateral raphe nucleus after a single dose of Fluoxetine : A PET / [18F]MPPF study in Healthy Volunteers. *submitted*.
 217. Sled JG, Zijdenbos AP, Evans AC. (1998): A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. *IEEE Trans Med Imaging* 17(1):87-97.
 218. Snedecor G, Cochran W, Cox D. 1989. Statistical Methods: The Iowa State University Press.
 219. Soares JC, van Dyck CH, Tan P, Zoghbi SS, Garg P, Soufer R, Baldwin RM, Fujita M, Staley JK, Fu X, Amici L, Seibyl J, Innis RB. (2001): Reproducibility of in vivo brain measures of 5-HT_{2A} receptors with PET and [18F]deuteoralteranserine. *Psychiatry Res* 106(2):81-93.
 220. Sprouse JS, Aghajanian GK. (1987): Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse* 1(1):3-9.
 221. Statnick MA, Dailey JW, Jobe PC, Browning RA. (1996): Abnormalities in 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor binding in severe-seizure genetically epilepsy-prone rats (GEPR-9s). *Neuropharmacology* 35(1):111-8.
 222. Steinbusch HW. (1981): Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience* 6(4):557-618.
 223. Studholme C, Hill D, Hawkes D. (1998): An overlap invariant entropy measure of 3D medical imaging alignment. *Pattern Recognition* 1(32):71-86.
-

-
224. Talairach J, Tournoux P. 1988. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. Thieme, editor. Stuttgart. 120 p.
225. Talbot PS, Laruelle M. (2002): The role of in vivo molecular imaging with PET and SPECT in the elucidation of psychiatric drug action and new drug development. *Eur Neuropsychopharmacol* 12(6):503-11.
226. Tang S, Verdurand M, Billard T, Lemoine L, Zimmer L, Le Bars D. Synthesis of ¹⁸F Radiolabelled 5-HT₇ Receptor Antagonist for PET Imaging; 2007a. *J. Lab. Comp. Radiopharm.* p S29.
227. Tang S, Verdurand M, Joseph B, Billard T, Fournet G, Lemoine L, Zimmer L, Le Bars D. Fluorin-18 Labelling and Preliminary Biological Evaluation of a N-(phenyl sulfonyl)indole Derivative; 2007b. *J. Lab. Comp. Radiopharm.* p S292.
228. Tauscher J, Verhoeff NP, Christensen BK, Hussey D, Meyer JH, Kecojevic A, Javanmard M, Kasper S, Kapur S. (2001): Serotonin 5-HT_{1A} receptor binding potential declines with age as measured by [¹¹C]WAY-100635 and PET. *Neuropsychopharmacology* 24(5):522-30.
229. Ter-Pergossian MM, Phelps ME, Hoffman EJ, Mullani MA. (1975): A Positron Emission Transaxial Tomograph for Nuclear Imaging (PETT). *Radiology* 114:89-98.
230. Thielen RJ, Frazer A. (1995): Effects of novel 5-HT_{1A} receptor antagonists on measures of post-synaptic 5-HT_{1A} receptor activation in vivo. *Life Sciences* 56(7):PL163-8.
231. Thobois S, Guillouet S, Broussolle E. (2001): Contributions of PET and SPECT to the understanding of the pathophysiology of Parkinson's disease. *Neurophysiol Clin* 31(5):321-40.
232. Toczek MT, Carson RE, Lang L, Ma Y, Spanaki MV, Der MG, Fazilat S, Kopylev L, Herscovitch P, Eckelman WC, Theodore WH. (2003): PET imaging of 5-HT_{1A} receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 60(5):749-56.
233. Tokarski K, Zahorodna A, Bobula B, Hess G. (2002): Comparison of the effects of 5-HT_{1A} and 5-HT₄ receptor activation on field potentials and epileptiform activity in rat hippocampus. *Exp Brain Res* 147(4):505-10.
234. Tomeï S, Reilhac A, Buvat I, Michel C, Gimenez G, Costes N. Simulation-based Evaluation of Iterative Reconstructions in Dynamic [¹⁸F]MPPF PET studies; 2006; San Diego.
235. Townsend DW, Sprinks T, Jones T, Geissbüler A, Defrise M, Gilardi M-C, Heather J. (1989): Three Dimensional Reconstruction of PET data from Multi-Ring Camera. *IEEE Transactions in Nuclear Sciences* 36(1):1056-1065.
236. Truchot L, Costes N, Zimmer L, Laurent B, Le Bars D, Thomas-Anterion C, Croisile B, Mercier B, Hermier M, Vighetto A, Krolak-Salmon P. (2007): Up-regulation of hippocampal serotonin metabolism in mild cognitive impairment. *Neurology* 69(10):1012-7.

-
237. Udo de Haes JI, Harada N, Elsinga PH, Maguire RP, Tsukada H. (2006): Effect of fenfluramine-induced increases in serotonin release on [18F]MPPF binding: a continuous infusion PET study in conscious monkeys. *Synapse* 59(1):18-26.
238. Vanhoutte PM. (1987): Cardiovascular effects of serotonin. *J Cardiovasc Pharmacol* 10 Suppl 3:S8-11.
239. Videen TO, Perlmutter JS, Mintun MA, Raichle ME. (1988): Regional correction of positron emission tomography data for the effects of cerebral atrophy. *J Cereb Blood Flow Metab* 8(5):662-70.
240. Wada Y, Shiraishi J, Nakamura M, Koshino Y. (1997): Role of serotonin receptor subtypes in the development of amygdaloid kindling in rats. *Brain Res* 747(2):338-42.
241. Weber WA, Wester HJ, Grosu AL, Herz M, Dzewas B, Feldmann HJ, Molls M, Stocklin G, Schwaiger M. (2000): O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine and L-[methyl-11C]methionine uptake in brain tumours: initial results of a comparative study. *Eur J Nucl Med* 27(5):542-9.
242. Weissmann-Nanopoulos D, Mach E, Magre S, DEmassay Y, Pujol J. (1985): Evidence for the localization of 5-HT_{1A} binding sites on serotonin containing neurons in the raphe dorsalis and raphe centralisnuclei in the rat brain. *Neurochem Int* 7:1061-1072.
243. Wong KP, Feng D, Siu WC. (1998): Generalized linear least squares algorithm for non-uniformly sampled biomedical system identification with possible repeated eigenvalues. *Comput Methods Programs Biomed* 57(3):167-77.
244. Woods RP, Grafton ST, Holmes CJ, Cherry SR, Mazziotta JC. (1998a): Automated image registration: I. General methods and intrasubject, intramodality validation. *J Comput Assist Tomogr* 22(1):139-52.
245. Woods RP, Grafton ST, Watson JD, Sicotte NL, Mazziotta JC. (1998b): Automated image registration: II. Intersubject validation of linear and nonlinear models. *J Comput Assist Tomogr* 22(1):153-65.
246. Woods RP, Mazziotta JC, Cherry SR. (1993): MRI-PET registration with automated algorithm. *J Computer Assisted Tomography* 17:536-546.
247. Woods RP, S.R.Cherry, Mazziotta JC. (1992): Rapid automated algorithm for aligning and reslicing PET images. *J Computer Assisted Tomography* 16:620-633.
248. Worsley KJ. (1995a): Estimating the number of peaks in a random field using the hadwiger characteristic of the excursion sets, with application to the medical images. *Annals of Statistics* 23 No. 2:640-669.
249. Worsley KJ, Poline JB, Vandal AC, Friston KJ. (1995b): Tests for Distributed, Nonfocal Brain Activations. *Neuroimage* 2:183-194.
250. Worsley KJ, Marrett S, Neelin P, Vandal AC, Friston KJ, Evans AC. (1996): A Unified statistical approach for determining significant
-

-
- signals in images of cerebral activation. *Human Brain Mapping* 4:58-73.
251. Wu Y, Carson RE. (2002): Noise reduction in the simplified reference tissue model for neuroreceptor functional imaging. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(12):1440-52.
252. Yoder KK, Wang C, Morris ED. (2004): Change in binding potential as a quantitative index of neurotransmitter release is highly sensitive to relative timing and kinetics of the tracer and the endogenous ligand. *J Nucl Med* 45(5):903-11.
253. Yoo TS, Ackerman MJ, Vannier M. Toward a common validation methodology for registration and segmentation algorithms; 2000. *Lecture Notes in Computer Science*. p 422-431.
254. Zhou Y, Endres CJ, Brasic JR, Huang SC, Wong DF. (2003): Linear regression with spatial constraint to generate parametric images of ligand-receptor dynamic PET studies with a simplified reference tissue model. *Neuroimage* 18(4):975-89.
255. Zhuang ZP, Kung MP, Chumpradit S, Mu M, Kung HF. (1994): Derivatives of 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2"-pyridinyl)-p-iodobenzamido]ethyl]piperazine (p-MPPI) as 5-HT_{1A} ligands. *J Med Chem* 37(26):4572-5.
256. Zimmer L, Mauger G, Le Bars D, Bonmarchand G, Luxen A, Pujol JF. (2002): Effect of endogenous serotonin on the binding of the 5-HT_{1A} PET ligand 18F-MPPF in the rat hippocampus: kinetic beta measurements combined with microdialysis. *J Neurochem* 80(2):278-86.
257. Zimmer L, Rbah L, Giacomelli F, Le Bars D, Renaud B. (2003): A reduced extracellular serotonin level increases the 5-HT_{1A} PET ligand 18F-MPPF binding in the rat hippocampus. *J Nucl Med* 44(9):1495-501.
258. Zimmer L, Riad M, Rbah L, Belkacem-Kahloul A, Le Bars D, Renaud B, Descarries L. (2004): Toward brain imaging of serotonin 5-HT_{1A} autoreceptor internalization. *Neuroimage* 22(3):1421-6.

Annexe

Liste de publications

Articles en premier ou dernier auteur

1. **Costes N**, Zimmer L, Reilhac A, Lavenne F, Ryvlin P, Le Bars D. (2007): Test-retest reproducibility of [18F]MPPF PET in Healthy Humans : a reliability study. *Journal of Nuclear Medicine*, 48(8):1279-88.
2. Reilhac A, Tomeï S, Buvat I, Michel C, Kehren F, **Costes N**. (2007): Simulation-based Evaluation of OSEM Iterative Reconstruction Methods in Dynamic Brain PET studies. *Neuroimage*, in press.
3. Reilhac A, Evans A, Gimenez G, **Costes N**. (2006): Creation and Application of a Simulated Database of Dynamic [18F]MPPF PET Acquisitions Incorporating Inter-Individual Anatomical and Biological Variability. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 25(11):1431-39..
4. **Costes N**, Merlet I, Ostrowsky K, Faillenot I, Lavenne F, Zimmer L, Ryvlin P, Le Bars D. (2005): A 18F-MPPF PET Normative Database of 5-HT1A Receptor Binding in Men and Women Over Aging. *J Nucl Med* 46(12):1980-1989.
5. **Costes N**, Merlet I, Zimmer L, Lavenne F, Cinotti L, Delforge J, Luxen A, Pujol JF, Le Bars D. (2002): Modeling [18 F]MPPF positron emission tomography kinetics for the determination of 5-hydroxytryptamine(1A) receptor concentration with multiinjection. *J Cereb Blood Flow Metab* 22(6):753-65.

Articles cosignés

2007

6. Maarrawi J, Peyron R, Mertens P, **Costes N**, Magnin M, Sindou M, Laurent B, Garcia-Larrea L. (2007): Motor cortex stimulation for pain control induces changes in the endogenous opioid system. *Neurology* 69(9):827-34.
7. Maarrawi J, Peyron R, Mertens P, **Costes N**, Magnin M, Sindou M, Laurent B, Garcia-Larrea L. (2007): Differential brain opioid receptor availability in central and peripheral neuropathic pain. *Pain* 127(1-2):183-94.
8. Truchot L, **Costes N**, Zimmer L, Laurent B, Le Bars D, Thomas-Anterion C, Croisile B, Mercier B, Hermier M, Vighetto A, Krolak-Salmon P. (2007): Up regulation of hippocampal serotonin metabolism in Mild Cognitive Impairment. *Neurology* 69(10) :1012-17.

2006

9. Aznavour N, Rbah L, Riad M, Reilhac A, **Costes N**, Descarries L, Zimmer L. (2006): A PET Imaging Study of 5-HT_{1A} Receptors in Cat Brain After Acute and Chronic Fluoxetine Treatment. *Neuroimage*, 834-842.
10. Derry C, Benjamin C, Bladin P, le Bars D, Tochon-Danguy H, Berkovic SF, Zimmer L, **Costes N**, Mulligan R, Reutens D. (2006): Increased serotonin receptor availability in human sleep: evidence from an [18F]MPPF PET study in narcolepsy. *Neuroimage* 30(2):341-8.
11. Luaute J, Michel C, Rode G, Pisella L, Jacquin-Courtois S, **Costes N**, Cotton F, le Bars D, Boisson D, Halligan P and others. (2006): Functional anatomy of the therapeutic effects of prism adaptation on left neglect. *Neurology* 66(12):1859-67.
12. Richard J-C, Lebars D, **Costes N**, Brégeon F, Tourvieille C, Lavenne F, Janier M, Gimenez G, Guérin C. (2006a): Alveolar recruitment assessed by positron emission tomography during experimental acute lung injury. *Intensive Care Medicine* 32(1):1889-1894.
13. Truchot L, **Costes N**, Vighetto A, Laurent B, Thomas-Antérion C, Croisile B, Mercier B, Zimmer L, Krolak-Salmon P. Modifications précoces du métabolisme sérotoninergique hippocampique dans la maladie d'Alzheimer; 2006. *Revue de médecine interne*.

2005

14. Bouvard S, **Costes N**, Bonnefoi F, Lavenne F, Mauguier F, Delforge J, Ryvlin P. (2005): Seizure-related short-term plasticity of benzodiazepine receptors in partial epilepsy: a [11C]flumazenil-PET study. *Brain* 128(Pt 6):1330-43.
15. Garcia-Larrea L, Maarrawi J, Peyron R, **Costes N**, Mertens P, Magnin M, Laurent B. (2005): On the relation between sensory deafferentation, pain and thalamic activity in Wallenberg's syndrome: A PET-scan study before and after motor cortex stimulation. *Eur J Pain*.
16. Grenier T, Revol-Muller C, **Costes N**, Janier M, Gimenez G. (2005): Automated seed localization for whole-body 18F-PET segmentation. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 52(5):1401-1405.
17. Redoute J, Stoleru S, Pugeat M, **Costes N**, Lavenne F, Le Bars D, Dechaud H, Cinotti L, Pujol JF. (2005): Brain processing of visual sexual stimuli in treated and untreated hypogonadal patients. *Psychoneuroendocrinology* 30(5):461-82.
18. Reilhac A, Bathan G, Michel C, Grova C, Tohka J, Collins L, **Costes N**, Evans A. (2005): PET-SORTEO: Validation and Development of Database of Simulated PET Volumes. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 52(5):1321-1328.
19. Richard JC, Janier M, Lavenne F, Tourvieille C, Le Bars D, **Costes N**, Gimenez G, Guérin C. (2005): Quantitative Assessment of Regional Alveolar Ventilation and Gas Volume Using 13N-N₂ Washout and PET. *J Nucl Med* 46(8):1375-1383.
20. Thioux M, Pesenti M, **Costes N**, De Volder A, Seron X. (2005): Task-independent semantic activation for numbers and animals. *Brain Res Cogn Brain Res* 24(2):284-90.
21. Ventre-Dominey J, Bailly A, Lavenne F, Lebars D, Mollion H, **Costes N**, Dominey PF. (2005): Double dissociation in neural correlates of visual working memory: A PET study. *Brain Res Cogn Brain Res*.25(3):747-759.

-
22. Ziemons K, Auffray E, Barbier R, Brandenburg G, Bruyndonckx P, Choih Y, Christa D, **Costes N**, Declais Y, Devroed O and others. (2005): The ClearPET' Project: Development of a 2nd generation high performance small animal PET scanner. *Nuclear Instrumentation & Methods in Physics Research* 307-311.

2004

23. Detante O, Vercueil L, Thobois S, Broussolle E, **Costes N**, Lavenne F, Chabardes S, Lebars D, Vidailhet M, Benabid AL and others. (2004): Globus pallidus internus stimulation in primary generalized dystonia: a H215O PET study. *Brain* 127(Pt 8):1899-908.
24. Lartizien C, Reilhac A, **Costes N**, Janier M, Sappey-Marinier D. (2004): Monte-Carlo simulation-based design study of a LSO-LuAP small animal PET system. *IEEE Transactions on Nuclear Sciences*.
25. Merlet I, Ostrowsky K, **Costes N**, Ryvlin P, Isnard J, Faillenot I, Lavenne F, Dufournel D, Le Bars D, Mauguiere F. (2004a): 5-HT1A receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [18F]MPPF-PET study. *Brain* 127(Pt 4):900-13.
26. Merlet I, Ryvlin P, **Costes N**, Dufournel D, Isnard J, Faillenot I, Ostrowsky K, Lavenne F, Le Bars D, Mauguiere F. (2004b): Statistical parametric mapping of 5-HT1A receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage* 22(2):886-96.
27. Pinto S, Thobois S, **Costes N**, Le Bars D, Benabid AL, Broussolle E, Pollak P, Gentil M. (2004): Subthalamic nucleus stimulation and dysarthria in Parkinson's disease: a PET study. *Brain* 127(Pt 3):602-15.
28. Reilhac A, Lartizien C, **Costes N**, Sans S, Comtat C, Gunn RN, Evans AC. (2004): PET-SORTEO : A Monte Carlo-Based Simulator With High count Rate Capabilities. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 51(1):46-52.
29. Thobois S, Vingerhoets F, Fraix V, Xie-Brustolin J, Mollion H, **Costes N**, Mertens P, Benabid AL, Pollak P, Broussolle E. (2004): Role of dopaminergic treatment in dopamine receptor down-regulation in advanced Parkinson disease: a positron emission tomographic study. *Arch Neurol* 61(11):1705-9.

2003

30. Mazzadi AN, Andre-Fouet X, Duisit J, Gebuhrer V, **Costes N**, Chevalier P, Rodriguez C, Schott JJ, Le Marec H, Guicheney P and others. (2003): Cardiac retention of [11C]HED in genotyped long QT patients: a potential amplifier role for severity of the disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285(3):H1286-93.
31. Stoleru S, Redoute J, **Costes N**, Lavenne F, Bars DL, Dechaud H, Forest MG, Pugeat M, Cinotti L, Pujol JF. (2003): Brain processing of visual sexual stimuli in men with hypoactive sexual desire disorder. *Psychiatry Res* 124(2):67-86.
32. Thobois S, Fraix V, Savasta M, **Costes N**, Pollak P, Mertens P, Koudsie A, Le Bars D, Benabid AL, Broussolle E. (2003a): Chronic subthalamic nucleus stimulation and striatal D2 dopamine receptors in Parkinson's disease--A [(11)C]raclopride PET study. *J Neurol* 250(10):1219-23.
33. Thobois S, Ribeiro MJ, Lohmann E, Durr A, Pollak P, Rascol O, Guillouet S, Chapoy E, **Costes N**, Agid Y and others. (2003b): Young-onset Parkinson disease with and without parkin gene mutations: a fluorodopa F 18 positron emission tomography study. *Arch Neurol* 60(5):713-8.

2001

34. Royet JP, Hudry J, Zald DH, Godinot D, Gregoire MC, Lavenne F, **Costes N**, Holley A. (2001): Functional neuroanatomy of different olfactory judgments. *Neuroimage* 13(3):506-19.

2000

35. Redoute J, Stoleru S, Gregoire MC, **Costes N**, Cinotti L, Lavenne F, Le Bars D, Forest MG, Pujol JF. (2000): Brain processing of visual sexual stimuli in human males. *Hum Brain Mapp* 11(3):162-77.
36. Royet JP, Zald D, Versace R, **Costes N**, Lavenne F, Koenig O, Gervais R. (2000): Emotional responses to pleasant and unpleasant olfactory, visual, and auditory stimuli: a positron emission tomography study. *J Neurosci* 20(20):7752-9.

1999

37. Grèzes J, **Costes N**, Decety J. (1999): The effects of learning and intention on the neural network involved in the perception of meaningless actions. *Brain* 122(Pt 10):1875-87.
38. Peyron R, Garcia-Larrea L, Gregoire MC, **Costes N**, Convers P, Lavenne F, Mauguier F, Michel D, Laurent B. (1999a): Haemodynamic brain responses to acute pain in humans: sensory and attentional networks. *Brain* 122(Pt 9):1765-80.
39. Royet J-P, Koenig O, Gregoire M-C, Cinotti L, Froment J-C, Lavenne F, Bars DL, **Costes N**, Vigouroux M, Farget V and others. (1999): Functional Anatomy of Perceptual and Semantic Processing for Odours. *Journal of Cognitive Neuroscience* 11(1):94-109.

1998

40. Grèzes J, **Costes N**, Decety J. (1998a): Top-down effect of the strategy on the perception of human biological motion: A PET investigation. *Cognitive Neuropsychology* 15:553-582.
41. Grèzes J, **Costes N**, Decety J. (1998b): La perception de mouvements biologiques : effets de nature des actions présentées et du but de l'observation. *Encéphale* Numéro spécial 'La psychopathologie peut-elle être cognitive ?':121-122.

1997

42. Decety J, Grèzes J, **Costes N**, Jeannerod M, Procyk E, Grassi F, Perani D, Fazio F. (1997): Brain activity during observation of actions: Influence of action content and subject's strategy. *Brain* 120:1763-1777.
43. Faillenot x, Sakata H, **Costes N**, Decety J, Jeannerod M. (1997): Visual working memory for shape and 3D-orientation: a PET study. *NeuroReport* 8(4):859-862.

Communications orales invitées

1. **Costes N.** Validation of quantitative Modeling Techniques for CNS Tracers ; 4th Franco-australian Nuclear Medicine Conference 2006 March 6th 2006; Melbourne (Australia).
2. **Costes N.** Quantification des récepteurs cérébraux en TEP : différentes approches chez l'homme ; Conférences Frédéric Joliot - *Les atouts de la tomographie par émission de positons dans le développement du médicament* 2003 24-25 mars; SHFJ, Orsay.

Communications affichées ou orales

2006

3. **Costes N.**, Reilhac A. Evaluation of PET tracer binding recovered by partial volume correction technique in case of hippocampic atrophy; *IEEE Medical Imaging Conference* 2006; San Diego.
4. Richard J, Lebars D, Lavenne F, **Costes N.**, Tourvieille C, Brégeon F, Gimenez G, Janier M, Guérin C. Effects of PEEP and prone position on regional ventilation-perfusion ratios assessed with positron emission tomography (PET) during experimental lung injury; *American Thoracic Society conference* 2006b May 19-24; San Diego.
5. Tomeï S, Reilhac A, Buvat I, Michel C, Gimenez G, **Costes N.** Simulation-based Evaluation of Iterative Reconstructions in Dynamic [18F]MPPF PET studies; *IEEE Medical Imaging Conference* 2006; San Diego.

2005

6. Chardes C, Reilhac A, Martinez A, **Costes N.** Displacement detectability of [18F]MPPF from 5-HT1A receptors by endogenous serotonin: a Monte Carlo simulation study; *BRainPET'05* 2005; Amsterdam. p BP-66.
7. Lartzien C, Goertzen A, Reilhac A, Siegel S, **Costes N.**, Magnin I, Gimenez G, Evans A. Validation of SORTEO Monte Carlo simulations for the geometry of the Concorde MicroPET R4 system; *IEEE Nuclear Science Symposium* 2005 October 23-29, 2005; Puerto Rico. p J03-76.

2003

8. Bouvard S, **Costes N.**, Bonnefoi F, Pierre C, Delforge J, Mauguière F, Ryvlin P. Seizure related short-term plasticity of Benzodiazepine receptors in partial epilepsy; *Annual Meeting of the American Epilepsy Society* 2003; Seattle, Washington. Epilepsia. p 309.
9. **Costes N.**, Merlet I, Faillenot I, Lavenne F, Le Bars D. Quick computation of BP values for activation PET studies with [18F]MPPF; *Human Brain Mapping* 2003; New-York. *OHBM*.
10. Dufournel D, Merlet I, **Costes N.**, Le Bars D, Faillenot I, Lavenne F, Gimenez G, Ostrowski K, Mauguière F, Ryvlin P. In vivo PET study of 5HT1A receptors in malformations of cortical development; *Annual Meeting of the American Epilepsy Society* 2003; Seattle, Washington. Epilepsia. p 309.

-
11. Garcia-Larrea L, Maarawi J. Relation entre douleur, déafférentation et activité thalamique dans le syndrome de Wallenberg : étude TEP et stimulation corticale.; *Congrès annuel de la Société de Neurophysiologie Clinique de Langue Française* 2003; Saint-Etienne.
 12. Garcia-Larrea L, Maarawi J, **Costes N**, Peyron R, Mertens P, André-Obadia N, Convers P, Sindou M, Magnin M, Laurent B. On the relation between pain, deafferentation and thalamic activity in Wallenberg's syndrome. *PET-scan and motor cortex stimulation.*; 2003; Pragues.
 13. Grenier T, Revol-Muller C, **Costes N**, Janier M, Gimenez G. Automated seed localization for whole-body 18F-PET segmentation; *IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference* 2003; Portland, USA.
 14. Lartizien C, **Costes N**, Janier M, Sappey-Marinier D. Simulated Performance Characteristics of the Lyon clearPET scanner for realistic 18F-FDG activity distributions in mice; *11nd International Conference on Imaging Technologies in Biomedical Sciences : ITBS2003* 2003a; Milos, Greece. Nuclear Instrument Methods journal.
 15. Lartizien C, **Costes N**, Jeanday M, Reilhac A, Janier M, Sappey-Marinier D. Simulated imaging capabilities of the Lyon ClearPET scanner for 18F-FDG activity distributions in a realistic mouse phantom. In: Animal HRMIS, editor; *IMI/IRES* 2003b 21-24 September 2003; Madrid.
 16. Maarawi J, Mertens P, Peyron R, **Costes N**, Le Bars D, Sindou M, Laurent B, Garcia-Larrea L. Etude en Tomographie par emission de Positons (TEP) à la 11C-Diprenorphine des récepteurs opioïdes cérébraux dans les douleurs neuropathiques chroniques; *Congrès annuel de la Société de Neurophysiologie Clinique de Langue Française* 2003 22-23 mai; Saint-Etienne.
 17. Merlet I, Ostrowski K, Faillenot I, **Costes N**, Lavenne F, Le Bars D, Mauguière F. Abnormalities in brain 5-HT1A receptors binding in temporal lobe epilepsy patients: an 18F-MPPF PET study; *Annual Meeting of the American Epilepsy Society* 2003; Seattle, Washington. p 310.
 18. Pauna N, Croisille P, **Costes N**, Reilhac A, Mäkelä T, Cozar O, Janier M, Clarysse P. A strategy to quantitatively evaluate MRI/PET cardiac rigid registration methods using Monte-Carlo simulator; *Second International Workshop on Functional Imaging and Modeling of the Heart FIMH'03* 2003b; Lyon, France. p June 5-6, 2003.
 19. Reilhac A, **Costes N**, Lartizien C, Gunn R, Evans A. Simulating realistic Dynamic PET Studies with SORTEO; *Human Brain Mapping* 2003; New-York. *OHBM*.
 20. Ziemons K, Auffray E, Barbier R, Brandenburg G, Bruyndonckx P, Choïh Y, Christa D, **Costes N**, Declais Y, Devroed O and others. The ClearPET' Project: Development of a 2nd generation high performance small animal PET scanner. In: Elsevier, editor; *"7th International Conference on Inorganic Scintillators and Industrial Applications"* (SCINT2003). 2003.

2002

21. Lartizien C, Reilhac A, **Costes N**, Janier M, Sappey-Marinier D. Monte-Carlo simulation-based design study of a LSO-LuAP small animal PET system; *IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference* 2002; Norfolk, USA. p M10-174.
 22. Reilhac A, Lartizien C, **Costes N**, Sans S, Comtat C, Evans A. Accounting for singles rates related phenomena in PET Monte-Carlo based simulations; *IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference* 2002; Norfolk, USA. p M10-259.
-

-
23. Sechet S, Reilhac A, Gunn R, Evans A, Dagher A. Frame misalignment-induced errors in PET studies: an investigation on strategies for correction; *IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference* 2002; Norfolk, USA. p M7-208.
 24. Stoleru S, Redouté J, **Costes N**, Lavenne F, Pugeat M, Bars DL, Cinotti L, Déchaud H, Pujol J-F. Effets de la testostérone sur le traitement visuel des stimuli sexuels chez les patients hypogonadiques; *Congrès annuel de la Société d'Andrologie de Langue Française* 2002.

2001

25. **Costes N**, Le Bars D, Merlet I, Zimmer L, Berthier V, Lionnet C, Vighi C, Lavenne F, Delforge J, Pleneveaux A and others. Modeling p-[18F]MPPF PET kinetics for the determination of the 5-HT1A receptor concentration. In: *Medicin SoN*, editor; *48th Annual Meeting* 2001; Toronto.

2000

26. Thévenet M, **Costes N**, Delpuech C. ACTIVIS : un logiciel de traitement et d'analyse d'images médicales 3D; *8ème Carrefour de la Fondation Rhône-alpes Futur* 2000.

1999

27. **Costes N**, Royet J-P, Lavenne F, Thevenet M, Gervais R. Short duration frames for 15O-H2O activation studies; *3rd ECAT Users Meeting* 1999 April 21-24; Amsterdam.
28. Laurent B, Peyron R, Garcia-Larea L, Mertens P, **Costes N**, Mauguière F, Michel D, Sindou M. Inside the mechanisms of motor cortex stimulation-induced analgesia; *9th World Congress on Pain* 1999 August 22-27; Vienna, Austria.
29. Peyron R, Garcia-Larea L, **Costes N**, Convers P, Barral FG, Mauguière F, Michel D, Laurent B. The haemodynamic pattern of central pain patients with allodynia; *9th World Congress on Pain* 1999b August 22-27; Vienna, Austria.
30. Peyron R, Garcia-Larea L, Mertens P, **Costes N**, Mauguière F, Michel D, Sindou M, Laurent B. Temporal pattern of cerebral blood flow (CBF) in patients with electrical motor cortex stimulation (MCS) for pain control; *Society for Neuroscience* 1999c.
31. Redouté J, Stoleru S, **Costes N**, Lavenne F, Pugeat M, Forest M, LeBars D, Spira A, Pujol J-F. Brain Processing of Visual Sexual Stimuli in Hypogonadal Human; *Society for Neuroscience* 1999 Annual Meeting 1999.
32. Reilhac A, Grégoire M-C, **Costes N**, Lavenne F, Pierre C, Diou A, Pujol J-F. A PET Monte Carlo Simulator from Numerical Phantoms: Validation against the EXACT ECAT HR+ scanner. In: *Sciences IToN*, editor; *1999 IEEE Nuclear Sciences Symposium* 1999; Seattle, Washington, USA. p 1527-1531.

1998

33. **Costes N**, Delon-Martin C, Grèzes J, Segebarth C, Decety J. Comparison of PET and 1.5 T fMRI on the Perception of Biological Movements. In: *Neuroimage*, editor; *4th International Conference on Functional Mapping of the Human Brain* 1998b; Quebec, Canada. p s638.
34. Grèzes J, **Costes N**, Decety J. Effect of the strategy on the information processing during perception of biological movements: a PET study; *European Neuroscience's Meeting* 1998c; Berlin, Allemagne.

1997

35. Grèzes J, **Costes N**, Decety J. The perception of actions performed by others: effects of the semantic contents and the subject's aim; *Fifth European Congress of Psychology* 1997a; Dublin, Irelande.
36. Grèzes J, Decety J, **Costes N**, Jeannerod M. L'observation d'actions abordée par la neuropsychologie cognitive. In: *Journée de l'ARPECo CdP*, editor; " La psychopathologie peut-elle être cognitive ". 1997b; Versailles.
37. Grèzes J, Decety J, **Costes N**, Perani D, Jeannerod M, Fazio F. Observation of actions: functional neuroanatomy with PET. In: Society CN, editor; *Fourth Annual Meeting* 1997c; Boston, USA.

1996

38. Grèzes J, Decety J, **Costes N**, Jeannerod M, Procyk E, Grassi F, Perani D, Fazio F. Watching actions: a PET study; *26th Meeting of the Society for Neuroscience* 1996; Washington, USA.