



**HAL**  
open science

# Étude par la TEP au [18F]MPPF des récepteurs cérébraux sérotoninergiques 5-HT1A dans l'épilepsie du lobe temporal

Adrien Didelot

► **To cite this version:**

Adrien Didelot. Étude par la TEP au [18F]MPPF des récepteurs cérébraux sérotoninergiques 5-HT1A dans l'épilepsie du lobe temporal. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. Français. NNT : 2010LYO10104 . tel-00705810

**HAL Id: tel-00705810**

**<https://theses.hal.science/tel-00705810v1>**

Submitted on 20 Nov 2012

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

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

N° d'ordre : 104

Année 2010

**THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON**

Délivrée par

**L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

**École Doctorale Neurosciences et Cognition**

**DIPLOME DE DOCTORAT**

(Arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 23 juin 2010

---

**Étude par la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF des récepteurs  
cérébraux sérotoninergiques 5-HT<sub>1A</sub> dans  
l'épilepsie du lobe temporal**

---

par

**Adrien DIDELOT**

JURY : Pr. Michel BAULAC, Président  
Pr Franck SEMAH, Rapporteur  
Pr Patrick VAN BOGAERT, Rapporteur  
Dr Alexander HAMMERS, Examineur  
Pr. François MAUGUIERE, Directeur de thèse  
Pr. Philippe RYVLIN, Co-directeur de thèse

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Vice-président du Conseil Scientifique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Secrétaire Général

**M. le Professeur L. Collet**

M. le Professeur J-F. Mornex

M. le Professeur G. Annat

M. le Professeur D. Simon

M. G. Gay

## ***COMPOSANTES SANTE***

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine Lyon Sud – Charles Mérieux

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de Réadaptation

Département de Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. Etienne

Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly

Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois

Directeur : M. le Professeur F. Locher

Directeur : M. le Professeur Y. Matillon

Directeur : M. le Professeur P. Farge

## ***COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE***

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

Département Sciences de la Terre

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire de Lyon

Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon 1

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Institut de Science Financière et d'Assurance

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Directeur : M. le Professeur F. Gieres

Directeur : M. le Professeur C. Gautier

Directeur : Mme le Professeur H. Parrot

Directeur : M. N. Siauve

Directeur : M. le Professeur S. Akkouche

Directeur : M. le Professeur A. Goldman

Directeur : M. le Professeur H. Ben Hadid

Directeur : Mme S. Fleck

Directeur : M. le Professeur P. Hantzpergue

Directeur : M. C. Collignon

Directeur : M. B. Guiderdoni

Directeur : M. le Professeur J. Lieto

Directeur : M. le Professeur C. Coulet

Directeur : M. le Professeur J-C. Augros

Directeur : M R. Bernard

## **RESUME en français**

Chez un patient épileptique, aucun examen ne permet la délimitation exacte de la zone épileptogène (ZE) qui est définie par la zone corticale nécessaire à la genèse des crises. Dans les épilepsies du lobe temporal (ELT), près d'un tiers des patients ne sont pas libres de crises après la chirurgie en dépit d'un bilan préopératoire concluant. La tomographie par émission de positons (TEP) au [<sup>18</sup>F]MPPF permet la mise en évidence de zones d'hypofixation qui sont, à l'échelle du groupe, corrélées à l'épileptogénicité du parenchyme cérébral.

Afin d'évaluer la validité de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF pour identifier la ZE au plan individuel, une première nous avons comparé l'analyse visuelle et statistique par SPM de la TEP au [<sup>18</sup>F]FDG à la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF en termes de sensibilité et de spécificité chez 42 patients souffrant d'une ELT en cours de bilan préchirurgical. Dans une seconde étude nous avons développé une méthode d'analyse statistique d'un index d'asymétrie (IA) de la fixation du [<sup>18</sup>F]MPPF [ $BP_{ND}$ ] et comparé les rendements de cette nouvelle approche à l'analyse standard SPM des images TEP en utilisant deux seuils statistiques différents ( $p < 0,05$ , corrigé au niveau du voxel et  $p < 0,05$ , corrigé au niveau du cluster) chez 24 patients opérés et guéris de leur ELT. Dans une troisième étude nous avons évalué, au niveau du groupe, l'influence d'un état dépressif sur le  $BP_{ND}$  du [<sup>18</sup>F]MPPF chez 24 patients souffrant d'une ELT.

Ces trois études ont permis les conclusions suivantes : i) dans des conditions d'analyse identiques, La TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF est supérieure au [<sup>18</sup>F]FDG pour identifier le lobe épileptogène chez des patients souffrant d'une ELT, ii) L'analyse de l'IA, avec un seuil à  $p < 0,05$  corrigé au niveau du cluster, est la meilleure technique d'analyse de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF et permet l'identification de la ZE avec une sensibilité de 96% et une spécificité de 88% dans l'ELT, iii) A l'échelle du groupe, un état dépressif est responsable d'une

augmentation du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dans les noyaux du raphé et l'insula controlatérale à la ZE.

---

### **TITRE en anglais**

Brain serotonergic 5-HT<sub>1A</sub> receptor study using [<sup>18</sup>F]MPPF PET neuroimaging in the context of temporal lobe epilepsy

---

### **RESUME en anglais**

In patients suffering from epilepsy, no neuroimaging method has proved able to delineate the epileptogenic zone (EZ), which is defined by the area of cortex required to generate the epileptic seizures. About one third of patient suffering from temporal lobe epilepsies (TLE) are not seizure free after surgery after removal of the cortical area supposed to included the EZ according to the presurgical evaluation. Data from previous studies carried out in our departement suggested that decreases of the [<sup>18</sup>F]MPPF binding potential (BP<sub>ND</sub>) correlated, at the group level, with cortical epileptogenicity.

Our aim was to validate the relevance of [<sup>18</sup>F]MPPF PET at the individual level for identifying the EZ in TLE. In a first study, the [<sup>18</sup>F]MPPF PET of 42 patients suffering from TLE were visually and statistically analyzed and compared with [<sup>18</sup>F]FDG PET, which were performed in the same group of patients during their presurgical evaluation. In a second study, we developed a voxel based analysis of asymmetry index (AI) of [<sup>18</sup>F]MPPF binding and compared the sensibility and specificity of this method to those of conventional SPM analysis of [<sup>18</sup>F]MPPF PET data. This second study was carried out in 24 patients, who have been operated and remained seizure-free after surgery. Two statistical thresholds ( $p < 0.05$  corrected at the voxel level and  $p < 0.05$  corrected at the cluster level) were used for each

method. In a last study, the correlation between the depressive symptoms and the  $BP_{ND}$  of [ $^{18}F$ ]MPPF was studied in 24 patients suffering from TLE.

These three studies lead to the following conclusions: i) [ $^{18}F$ ]MPPF PET is more performant than [ $^{18}F$ ]FDG PET for identifying the epileptogenic lobe in patients suffering from TLE, ii) AI analysis with a statistical threshold of  $p < 0.05$  corrected at the cluster is the method of analysis of [ $^{18}F$ ]MPPF PET that allowed EZ identification with the best sensitivity [96%] and specificity [88%] in TLE, iii) at the group level, depressive symptoms positively correlate with an increase of the  $BP_{ND}$  of [ $^{18}F$ ]MPPF  $BP_{ND}$  within the raphe nuclei and the insula controlateral to the EZ.

---

## **DISCIPLINE**

Neurosciences

---

## **MOTS-CLES**

TEP, [ $^{18}F$ ]MPPF, récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, sérotonine endogène, épilepsie.

PET, [ $^{18}F$ ]MPPF, 5-HT<sub>1A</sub> receptors, endogenous serotonin, epilepsy.

---

## **INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE**

INSERM - U879 Intégration centrale de la douleur chez l'Homme

Hôpital Pierre Wertheimer, 59 Bd Pinel, 69677 Bron, France.

INSERM - U821 Dynamique Cérébrale et Cognition

Centre Hospitalier Le Vinatier, 95 Bd Pinel, 69500 Bron, France.



## **- Remerciements -**

**M. le Pr. Michel BAULAC**, vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider le jury d'évaluation de ce travail. Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

**M. le Pr Franck SEMAH**, je vous prie d'accepter tous mes plus sincères remerciements pour votre implication dans l'évaluation de ce travail. Je vais, grâce à vos remarques, pouvoir me pencher sur l'étude des échelles de couleurs en portant une attention particulière à l'échelle « arc-en-ciel » ...

**M. le Pr Patrick VAN BOGAERT**, je vous remercie chaleureusement pour votre participation à l'évaluation de ce travail. Je vous suis particulièrement reconnaissant pour votre cordialité et votre disponibilité.

**M. le Dr Alexander HAMMERS.**

Cher Alexander, mille mercis pour ton implication dans ce travail. Je souhaite que tu trouves ici toute ma reconnaissance pour le plaisir que j'ai à travailler en ta compagnie. Je souhaite que nous ayons encore de nombreuses occasions de se retrouver sur des projets communs de neuroimagerie. Merci d'avoir poussé ta compassion jusqu'à soutenir ton habilitation à diriger des recherches le même jour que moi. Je te promets de tout faire pour progresser en anglais ...

**M. le Pr François MAUGUIERE.**

L'achèvement de ce travail est pour moi l'objet d'une satisfaction qui se teinte cependant d'un peu de nostalgie. Comme vous le savez, il marque la fin de l'aventure que fut mon arrivée à Lyon à l'occasion de mon master de Neurosciences. Je voudrais que vous trouviez ici toute la gratitude que j'ai pour le soutien indéfectible que vous m'avez apporté. Partager votre travail qu'il soit clinique ou scientifique est aussi agréable que passionnant. Je souhaite vous témoigner l'expression de ma plus respectueuse amitié.

**M. le Pr Philippe RYVLIN,**

Mille mercis Philippe pour ton accompagnement au cours de ce travail. Tu as su me transmettre ton appétit pour l'étude des examens TEP et je souhaite ardemment avoir l'opportunité de poursuivre avec toi cette aventure de neuroimagerie qui me passionne autant que toi. Je t'adresse ici mes plus chaleureux remerciements et te prie de croire en toute mon amitié.

À Amélie, Sandrine, Jérôme, Anthonin, Nicolas, Franck, Christian et toute l'équipe du CERMEP. Vous m'avez initié aux subtilités de la recherche scientifiques et admirablement toléré les questions inappropriées d'un indémodable clinicien. Merci aussi pour votre engagement et votre investissement dans ce travail.

À mes Collègues du Centre de Référence des Syndromes Neurologiques Paraneoplasiques. Merci à Géraldine, Véronique, Gaëlle ... et Martine ! Vous m'avez accompagné de votre gentillesse durant cet épisode de vie troglodyte et permis de passer deux super années.

À François, Stéphanie et Jérôme. Mille mercis de m'avoir accueilli dans votre petite famille durant ces deux années. En Neuroonco, qu'est ce qu'on rigole ! Je vous prie de croire à toute mon amitié.

À mes Confrères et Amis lyonnais. Je vous remercie de rendre, par votre gentillesse et votre sympathie, le quotidien professionnel parfois rude toujours supportable (voir délicieusement déconnant).

À mes Parents à qui je dois d'avoir su me transmettre, par l'exemple qu'est leur vie, les valeurs qui sont aujourd'hui les miennes. Vous avez tout mon Amour.

À Nicolas et Caroline que je voudrais voir plus souvent et qui gardent une place toujours aussi grande dans mon cœur.

Je dédie ce travail à ma chère épouse Anouck qui a réussi l'exploit de me supporter et me soutenir vaillamment au cours de ces cinq années où le travail est, bien souvent, passé avant elle.

A Pierre, Baptiste et Guillaume, mes trois turbulentes merveilles.



## TABLE DES MATIERES

<b>Liste des Figures et Tableaux</b>	<b>17</b>
<b>Liste des principales abréviations :</b>	<b>18</b>
<b>Introduction</b>	<b>19</b>
<b>La sérotonine et ses récepteurs chez l'Homme</b>	<b>21</b>
Rôle des récepteurs 5-HT <sub>1A</sub> :	24
<b>Relations entre épilepsie et sérotonine</b>	<b>26</b>
Rôle de la sérotonine sur l'épilepsie	26
Modulation du système sérotoninergique par l'épilepsie :	29
Rôle des récepteurs 5-HT <sub>1A</sub>	31
<b>Imagerie TEP des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> :</b>	<b>34</b>
<b>Principe de la tomographie par émission de positons (TEP) :</b>	<b>34</b>
<b>Les radiotraceurs des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> :</b>	<b>38</b>
<b>Estimation de la densité en récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> :</b>	<b>39</b>
<b>Méthode d'aquisition de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF</b>	<b>42</b>
La modélisation des données TEP au [ <sup>18</sup> F]MPPF	43
Modélisation simplifiée avec courbe de référence tissulaire	47
Normalisation et lissage	49
<b>Place de la neuroimagerie dans le bilan des épilepsies pharmacorésistantes</b>	<b>52</b>
<b>Détermination de la zone épileptogène chez un patient épileptique</b>	<b>52</b>
<b>Apport de la neuroimagerie</b>	<b>56</b>
L'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale	57
La scintigraphie cérébrale ictale et inter-ictale par émission monophotonique (SPECT)	58
La magnéto-électroencéphalographie (MEG)	58
La tomographie par émission de positons (TEP)	59

<b>Objectifs</b>	<b>65</b>
<b><i>Intérêt de l'analyse visuelle de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF</i></b>	<b>67</b>
<b>Méthodes</b>	<b>68</b>
Patients	68
Témoins	68
IRM	68
Vidéo Stéréo-électroencéphalographie	69
TEP au [ <sup>18</sup> F]FDG	70
Étude de la TEP au [ <sup>18</sup> F] MPPF	70
Chirurgie de l'épilepsie	70
Classification syndromique de l'épilepsie	71
Analyse des examens TEP au [ <sup>18</sup> F]MPPF	71
<b>Résultats</b>	<b>73</b>
Analyse visuelle	73
Analyse statistique voxel à voxel	74
Corrélation entre diminution du BP <sub>ND</sub> du [ <sup>18</sup> F]MPPF et zone épileptogène	74
<b>Discussion</b>	<b>75</b>
<b><i>Analyse statistique de cartes d'index d'asymétrie du [<sup>18</sup>F] MPPF dans l'épilepsie du lobe temporal</i></b>	<b>91</b>
<b>Construction des cartes d'index d'asymétrie</b>	<b>92</b>
Construction d'un modèle symétrique de carte d'asymétrie	92
Analyse de l'index d'asymétrie :	93
<b>Rôle de l'effet de volume partiel et de la normalisation dans la construction des cartes d'IA</b>	<b>98</b>
<b>Automatisation de la procédure d'analyse</b>	<b>105</b>
<b><i>Application de l'analyse de l'Index d'Asymétrie à l'épilepsie du lobe temporal</i></b>	<b>116</b>

<b>Methodes</b>	<b>117</b>
Patients	117
Témoins	118
Analyse statistique des images de BP <sub>ND</sub> et d'index d'asymétrie	118
Interprétations des images paramétriques de BP <sub>ND</sub> et des cartes d'IA	120
Sensibilité et spécificité	120
<b>Résultats</b>	<b>121</b>
Analyse standard	121
Analyse de l'index d'asymétrie	122
Comparaison des analyses visuelles, SPM standard et IA	122
<b>DISCUSSION</b>	<b>123</b>
Avantages de la méthode d'analyse de l'IA	123
<i>Influence de la dépression sur la fixation du [<sup>18</sup>F]MPPF chez les patients souffrant d'épilepsie du lobe temporal</i>	<b>161</b>
<b>Méthodes</b>	<b>162</b>
<b>Résultats</b>	<b>163</b>
<b>Discussion</b>	<b>164</b>
<b>DISCUSSION GENERALE</b>	<b>184</b>
<b>CONSIDERATIONS METHODOLOGIQUES</b>	<b>185</b>
Rôle de l'effet de volume partiel et de la normalisation	185
Les différentes méthodes d'analyse	186
L'analyse voxel à voxel de l'IA	188
Choix du Z-max pour la définition de la spécificité	188
Script d'automatisation de la procédure d'analyse	190
<b>CONSIDERATIONS CLINIQUES</b>	<b>192</b>
Application à l'épilepsie du lobe temporal	192
Application aux autres epilepsies	193

Interaction entre épilepsie et dépression _____	194
La diminution du BP <sub>ND</sub> [ <sup>18</sup> F]MPPF reflète-t-elle la ZE ? _____	195
<b>PERSPECTIVES</b> _____	<b>196</b>
Amélioration de l'évaluation des méthodes d'analyse de la TEP au [ <sup>18</sup> F]MPPF _____	196
<b><i>Références</i></b> _____	<b>198</b>
<b><i>ANNEXES</i></b> _____	<b>226</b>
Classification post-chirurgicale des Epilepsies selon Engel _____	227
Script d'automatisation de la fabrication des cartes de BPND et d'IA _____	228

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

<i>Figure 1 : Structure moléculaire de la sérotonine.....</i>	<i>21</i>
<i>Tableau 1 : Familles de récepteurs sérotoninergiques, radioligands, localisation et rôles.....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 2 : Schéma du rôle des autorécepteurs et des récepteurs post-synaptiques 5-HT<sub>1A</sub>.....</i>	<i>25</i>
<i>Tableau 2 : Rôles des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans les modèles animaux d'épilepsie (d'après Bagdy et al. 2007)....</i>	<i>33</i>
<i>Figure 3 : Schéma des différents événements en coïncidence détectés par une caméra à positons.....</i>	<i>36</i>
<i>Figure 4 : Représentation des différentes constantes de flux entre le plasma et le compartiment de référence (cervelet) d'une part et le compartiment cible (l'hippocampe) d'autre part.....</i>	<i>40</i>
<i>Figure 5 : Schéma des différentes zones corticales impliquées dans l'épileptogénèse.....</i>	<i>54</i>
<i>Figure 6 : Schéma des différentes études.....</i>	<i>66</i>
<i>Figure 7 : Schéma de la construction de la carte d'index d'asymétrie.....</i>	<i>95</i>
<i>Figure 8 : Représentation schématique de l'index d'asymétrie (I.A.) chez un patient dont l'activité dans une région à droite est supérieure à son symétrique à gauche.....</i>	<i>95</i>
<i>Figure 9 : Analyse SPM du contraste Témoins moins Patient.....</i>	<i>96</i>
<i>Figure 10 : Représentation des deux contrastes de la cartographie de l'index d'asymétrie.....</i>	<i>97</i>
<i>Figure 11 : Schéma des résultats obtenus pour les hippocampes en fonction des méthodes de calcul de l'asymétrie.....</i>	<i>100</i>
<i>Figure 12 : Mesures du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF hippocampique et index d'asymétrie chez 12 patients avec une épilepsie temporo-mésiale.....</i>	<i>102</i>
<i>Figure 13 : Valeurs moyennes des BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF des hippocampes non épileptiques et épileptiques dans les sous-groupes de patients avec et sans sclérose hippocampique.....</i>	<i>103</i>
<i>Figure 14 : Représentation de la sensibilité et spécificité comparées des méthodes d'analyse standard et des index d'asymétrie.....</i>	<i>187</i>
<i>Figure 15 : schéma des différentes zones d'excitabilité corticale et leur rapport à la diminution du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF.....</i>	<i>190</i>

## LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS :

5-HIAA : acide 5-hydroxy-indol-acétique	magnétique
5-HT : sérotonine ou 5-hydrotryptamine	Le : lésion épileptogène
5-HTT : transporteur de la sérotonine	KO : knock-out
ACTH : hormone adrénocorticotrope	MAO : monoamine oxydase
AMT : alpha méthyl-tryprophane	MEG : magnéto-encéphalographie
BP <sub>ND</sub> : potentiel de liaison ( <i>non displaceable binding potential</i> )	ROI : région d'intêret
ddp : densité de probabilité	SEEG : stéréo-électro-encéphalographie
EEG : électro-encéphalographie	SH : sclérose hippocampique
ELT : épilepsie du lobe temporal	SNC : système nerveux central
ETM : épilepsie temporo-mésiale	SNP : système nerveux périphérique
[ <sup>18</sup> F]FCWAY : [ <sup>18</sup> F]-trans-4-fluoro-N-2-[4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl-ethyl]-N-(2-pyridyl)cyclohexanecarboxamide	SPM : Statistical Parametric Mapping
[ <sup>18</sup> F]FDG : [ <sup>18</sup> F]-fluorodeoxyglucose	SRTM : modèle simplifié avec référence tissulaire ( <i>simple reference tissue model</i> )
[ <sup>18</sup> F]MPPF : [ <sup>18</sup> F]-[4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2-pyridinyl)-p-fluorobenzamido]-ethyl-piperazine]	TAC : courbe temps activité ( <i>time activity curve</i> )
GABA : acide $\gamma$ -aminobutyrique	TEP : tomographie par émission de positons
GH : hormone de croissance ( <i>growth hormon</i> )	TPH : tryptophane hydroxylase
IA : index d'asymétrie	T*TX : tétrodoxine
IMAO : inhibiteur de la monoamine oxydase	ZD : zone de départ des crises
IRM : imagerie par résonance	ZE : zone épileptogène
	ZI : zone irritative
	ZS : zone symptomatogène

## INTRODUCTION

Les techniques de neuro-imagerie fonctionnelle permettent l'évaluation *in vivo* du fonctionnement du cerveau humain à travers l'étude de son débit sanguin, du métabolisme glucidique ou de l'expression de différents récepteurs neuronaux.

Parmi les nombreux traceurs comportant un marqueur radioactif et qui permettent l'étude du parenchyme cérébral par la tomographie par émission de positons (TEP), le [4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2-pyridinyl)-p-fluorobenzamido]-ethyl-piperazine] ( $[^{18}\text{F}]$ MPPF) est synthétisé et disponible au sein du Centre d'Etudes et de Recherches Médicales par Emission de Positons (CERMEP – Imagerie du vivant). Le MPPF se fixe sur un sous-type de récepteurs de la sérotonine : les 5-HT<sub>1A</sub>.

Ce récepteur, de par les liens physiopathologiques établis entre système sérotoninergique et épileptogénèse, est un bon candidat à l'étude des patients épileptiques. Lorsque cela est possible, la résection de la zone du cerveau impliquée dans le départ des crises, appelée zone épileptogène (ZE), vise à la guérison des manifestations critiques. Cependant, les moyens de délimiter la ZE gardent à ce jour un niveau important d'imprécision. Cela justifie que les données de plusieurs techniques d'exploration soient habituellement recoupées pour circonscrire au mieux la localisation et les limites de la ZE. Enfin, certaines de ces méthodes, comme la stéréo-électroencéphalographie ou les enregistrements intra-crâniens par électrodes corticales de surface, sont invasives et ne peuvent être réalisées en routine hors de centres spécialisés.

Les patients souffrant d'une épilepsie temporale sont actuellement ceux qui tirent le plus grand bénéfice de la chirurgie de l'épilepsie. Ce syndrome épileptique est de plus en plus bien caractérisé sur le plan clinique et paraclinique, notamment pour son sous-type impliquant la face mésiale du lobe temporal : l'épilepsie temporo-mésiale (ETM).

Après avoir précisé la physiologie de la sérotonine, notamment au sein du système nerveux central, les caractéristiques de l'épilepsie du lobe temporal seront détaillées ainsi que l'état des connaissances relatives aux relations entre sérotonine et épileptogénèse. Enfin, le dernier chapitre de cette partie théorique sera consacré aux méthodes de délimitations, invasives et non invasives, de la ZE.

La seconde partie, expérimentale, reposera sur trois études dont les objectifs nous sont apparus complémentaires et qui ont été réalisées dans une population de patients souffrant d'épilepsie du lobe temporal. La première fait suite aux précédents travaux conduits dans notre équipe de recherche, lesquels suggèrent l'existence d'une corrélation spatiale entre la ZE et les régions où la fixation spécifique du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF est diminuée [Merlet, et al., 2004a]. Cette première étape compare, à l'échelle individuelle, l'analyse visuelle de la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]FDG, à celle de la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF et à l'analyse SPM de ce dernier examen. La seconde étude a permis la mise au point d'une analyse statistique automatisée des TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF utilisable en routine clinique lors du bilan préopératoire des épilepsies.

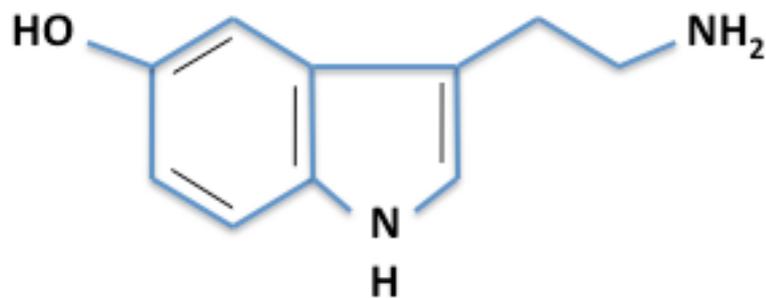
La troisième étude, réalisée au niveau du groupe, étudie l'impact des symptômes dépressifs, première comorbidité rencontrée chez les patients épileptiques, sur la fixation cérébrale du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF chez les patients présentant une épilepsie du lobe temporal.

## LA SÉROTONINE ET SES RECEPTEURS CHEZ L'HOMME

La sérotonine est au centre de la régulation des comportements. Elle joue un rôle clef dans la régulation du rythme circadien, les comportements alimentaires, les émotions, les comportements moteurs ou les tâches cognitives.

Sa découverte remonte aux années trente, au niveau du système digestif [Erspamer et Vialli, 1937] où la sérotonine fut identifiée comme une substance prokinétique provoquant la contraction des muscles lisses.

L'équipe de Vittorio Erspamer isola à partir des cellules entérochromaffines de l'intestin une nouvelle molécule capable de contracter les muscles lisses qu'elle nomma « entéramine » [Erspamer et Vialli, 1937]. Par la suite, une substance sérique appelée 5-hydroxytryptamine ou sérotonine (5-HT) fut identifiée pour ses propriétés vasomotrices [Rapport, et al., 1948]. La structure chimique de la sérotonine fut déterminée l'année suivante [Rapport, 1949] (cf. Figure 1) et sa synthèse organique fut réalisée en 1951 [Hamelin et Fisher, 1951]. C'est à cette époque que ces deux molécules furent reconnues comme identiques et prirent le nom commun de sérotonine [Erspamer et Asero, 1952].



*Figure 1 : Structure moléculaire de la sérotonine*

Sur le plan neuroendocrinien, le thalamus régule via la sérotonine la sécrétion d'hormones par l'adénohypophyse et notamment l'ACTH (adrenocorticotropin hormon), la prolactine et la GH (growth hormon). La sérotonine favorise aussi la libération de CRH (corticotropin-releasing hormon) à partir des noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus.

La sérotonine est le précurseur de la mélatonine et à ce titre participe à la régulation du rythme circadien.

La pluralité des effets centraux et périphériques de la sérotonine est la conséquence du nombre de récepteurs spécifiques différents mis en évidence.

Le recensement des sous-types spécifiques de récepteurs sérotoninergiques débuta dans les années 70. Bradley, et al. [1986] proposèrent en 1986 une première classification à partir de données pharmacologiques et physiologiques. Les techniques de biologie moléculaire permirent ensuite une identification plus exhaustive des différents récepteurs à la sérotonine. Une classification fut établie en 1993 par le *Serotonin Club Receptor Nomenclature Committee* sur la base des informations opérationnelles, structurelles et transductionnelles disponibles pour chaque récepteur [Humphrey, et al., 1993]. Sept familles de récepteurs 5-HT sont différenciées à ce jour et la classification est amendée au fur et à mesure des avancées dans la connaissance de ces récepteurs [Barnes et Sharp, 1999, Hoyer, et al., 1994, Hoyer, et al., 2002, Hoyer et Martin, 1997].

Barnes et Sharp établirent en 1999 la liste et les fonctions des sept familles de récepteurs 5-HT mises en évidence à ce jour. (Tableau 1)

Récepteur		Radioligands	Localisations	Rôles ou effets constatés
5-HT <sub>1A</sub>	PG	[ <sup>3</sup> H]WAY100635 [ <sup>18</sup> F]MPPF [ <sup>18</sup> F]FCWAY [ <sup>3</sup> H]8-OH-DPAT	ensemble du SNC et surtout: noyaux du raphé, récepteurs post-synaptiques limbiques	c.f. chapitre correspondant
5-HT <sub>1B</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]GTI [ <sup>125</sup> I]CYP [ <sup>3</sup> H]Sumatriptan [ <sup>3</sup> H]GR 125743	SNC: ganglions de la base, striatum, cortex frontal Artères cérébrales > vaisseaux périphériques	Central: auto-récepteur terminal et hétérorécepteur contrôlant la libération des autres neurotransmetteurs Périph: inhibition de la libération de noradrénaline dans la veine cave, inhibition de la vasodilatation induite par la stimulation trigéminal
5-HT <sub>1D</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]GTI [ <sup>3</sup> H]Sumatriptan [ <sup>3</sup> H]GR 125743	SNC: Raphé dorsal Cœur	
5-HT <sub>1E</sub>	PG	[ <sup>3</sup> H]5-HT	SNC: cortex frontal	?
5-HT <sub>1F</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]LSD [ <sup>3</sup> H]LY 334370	SNC: raphé dorsal, hippocampe, striatum, thalamus et hypothalamus Mésentère et utérus	?
5-HT <sub>2A</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]DOI [ <sup>3</sup> H]Ketanserin [ <sup>3</sup> H]MDL 100907	Ubiquitaire	Central: stimulation de la sécrétion d'ACTH, de corticostérone, d'ocytocine, de rénine et de prolactine Contractilité des vaisseaux et des muscles lisses bronchiques, utérins et vésicaux
5-HT <sub>2B</sub>	PG	[ <sup>3</sup> H]5-HT	Estomac Vaisseaux SNC: cervelet, paroi latérale du septum, hypothalamus et amygdale médiale	Contraction des muscles fundiques Médiation de la vasodilatation Central: induction de comportements d'hyperphagie, effet anxiolytique
5-HT <sub>2C</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]LSD [ <sup>3</sup> H]Mesulergine	SNC et plexus choroïdes	Anxiolytique, inhibition du système dopaminergique et adrenergique dans le cortex frontal
5-HT <sub>3</sub>	ION	[ <sup>3</sup> H](S)-zacopride [ <sup>3</sup> H]tropisetron [ <sup>3</sup> H]granisetron [ <sup>3</sup> H]GR 65630 [ <sup>3</sup> H]LY 278584	SNC: Hippocampe (cellules pyramidales du segment CA1), noyau dorsal du tractus solitaire SNP: neurones pré et postganglionaires du système autonome et neurones sensitifs	Régulation du système cardio-vasculaire, motilité et sécrétions intestinales (par le biais du système nerveux autonome)
5-HT <sub>4</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]SB 207710 [ <sup>3</sup> H]GR 113808 [ <sup>3</sup> H]RS 57639	Tube digestif	Libération d'acétylcholine, contraction de l'œsophage et du côlon
5-HT <sub>5A</sub> 5-HT <sub>5B</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]LSD [ <sup>3</sup> H]5-CT	SNC: hypothalamus, hippocampe, corps calleux, fimbria, paroi des ventricules et glie	?
5-HT <sub>6</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]SB 258585 [ <sup>125</sup> I]LSD [ <sup>3</sup> H]5-HT	SNC: striatum, noyau accumbens, amygdale, hippocampe et bulbe olfactif	Régulation du cycle veille / sommeil
5-HT <sub>7</sub>	PG	[ <sup>125</sup> I]LSD [ <sup>3</sup> H]SB 269970 [ <sup>3</sup> H]5-CT [ <sup>3</sup> H]5-HT	Ensemble du système vasculaire (muscles lisses, thalamus médian, substance noire, raphé dorsal, neurones relais du système sensitif)	Vasodilatation

**Tableau 1 : Familles de récepteurs sérotoninergiques, radioligands, localisation et rôles.**

Il est précisé dans la deuxième colonne si le récepteur est couplé à une protéine G (PG) ou à un canal ionique (ION). SNC : système nerveux central, SNP : système nerveux périphérique.

### **ROLE DES RECEPTEURS 5-HT<sub>1A</sub> :**

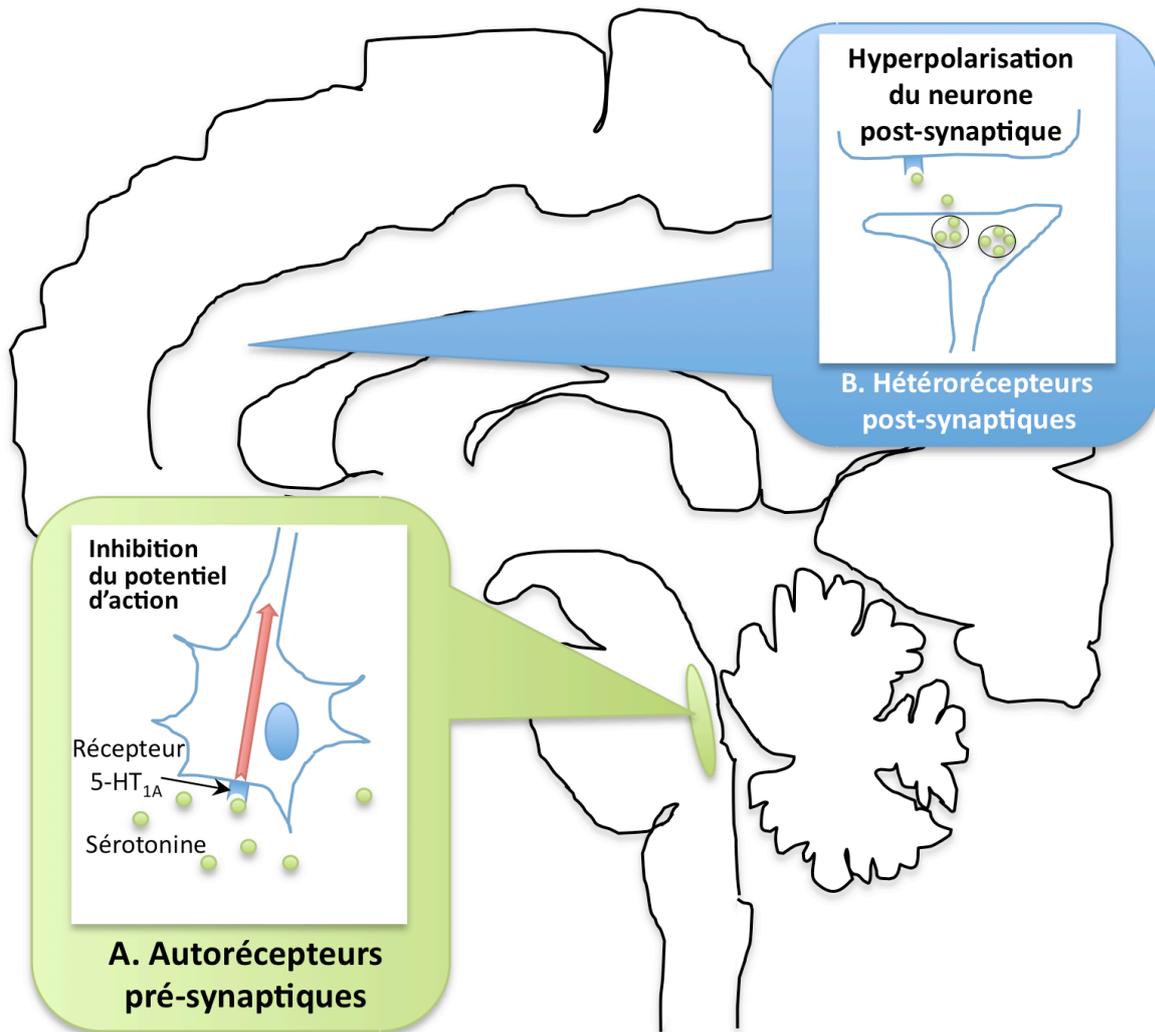
Les récepteurs de la famille 5-HT<sub>1</sub> ont été initialement définis et individualisés du fait de leur haute affinité pour la sérotonine marquée au <sup>3</sup>H dans le cortex du rat et de leur faible affinité pour la spiperone [Peroutka et Snyder, 1979].

Les propriétés pharmacologiques communes de cette famille ont été rapportées par Bradley [Bradley, et al., 1986] : ces récepteurs sont activés par le 5-CT (5-carboxamidotryptamine), respectivement inhibés et stimulés par la méthiothépine et le méthysergide. Enfin, ces récepteurs ne sont pas bloqués par les antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT<sub>2</sub> et 5-HT<sub>3</sub>. Le gène codant pour ce récepteur a été le premier à être complètement séquencé et est situé chez l'humain sur le chromosome 5 (5 q11.2-q13).

Les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sont couplés à une protéine G et ont deux effets distincts : inhibition de l'activité de l'adényl cyclase et ouverture des canaux potassiques, responsable d'une hyperpolarisation neuronale [Hoyer, et al., 2002].

Les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sont présents au sein du système nerveux central en situation pré-synaptique sur les corps cellulaires de noyaux du raphé mais aussi en post-synaptique, notamment sur les neurones hippocampiques. Anatomiquement, ils se répartissent entre les structures du système limbique, en particulier l'hippocampe, le septum, le gyrus cingulaire et le cortex entorhinal et les noyaux du raphé. Ils sont aussi représentés, bien que plus faiblement, dans l'ensemble du cortex supra-tentorial. Ces récepteurs sont en revanche pratiquement indétectables dans les ganglions de la base et dans le parenchyme cérébelleux. Les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sont aussi représentés au niveau du tube digestif.

Les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> se différencient des autres représentants de cette famille par leurs propriétés pharmacologiques. Ainsi des agonistes sélectifs ont pu être développés.



**Figure 2 : Schéma du rôle des autorécepteurs et des récepteurs post-synaptiques 5-HT<sub>1A</sub>**

- A. Noyaux du raphé : la fixation de sérotonine sur les auto-récepteurs situés au niveau du corps neuronal des récepteurs sérotoninergiques inhibe la production du potentiel d'action.
- B. Au niveau des projections sérotoninergiques (principalement dans le système limbique), la sérotonine libérée au niveau de la terminaison axonale des neurones sérotoninergiques se fixe sur des récepteurs post-synaptiques, provoquant l'hyperpolarisation de la cellules en aval.

L'hyperpolarisation neuronale consécutive à l'afflux intracellulaire de potassium secondaire à l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> serait responsable de l'action anti-épileptique de ces derniers [Andrade et Nicoll, 1987, Beck et Choi, 1991, Okuhara et Beck, 1994].

### *Relations entre épilepsie et sérotonine*

Durant les dernières années, de nombreux travaux expérimentaux sont venus confirmer l'existence d'interactions étroites entre le système sérotoninergique et l'épilepsie [Bagdy, et al., 2007]. Par ailleurs plusieurs antiépileptiques ont effet sur le système sérotoninergique. Ces différentes interactions sont décrites en distinguant successivement le rôle de la sérotonine sur l'épilepsie et le rôle de cette dernière sur le système sérotoninergique.

#### **ROLE DE LA SEROTONINE SUR L'EPILEPSIE**

##### *Les modèles animaux*

L'étude de modèles animaux a permis de mettre en évidence l'effet anticonvulsivant de la sérotonine. Dans de nombreux modèles d'épilepsie, le système sérotoninergique joue un rôle modulateur. Dans la grande majorité des cas, les molécules responsables d'une élévation de la sérotonine extracellulaire, comme le 5-hydroxytryptophane ou les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine, inhibent à la fois les crises focales et généralisées [Loscher, 1984, Prendiville et Gale, 1993, Yan, et al., 1994]. Une diminution de la sérotonine cérébrale donne un effet inverse et provoque une diminution du seuil de déclenchement des crises audiogènes et provoquées par stimulation chimique ou électrique [Browning, et al., 1978, Statnick, et al., 1996]. Cependant, des effets contradictoires ont été décrits dans des modèles d'épilepsie généralisée. Ainsi, il a été constaté une sensibilité accrue aux crises dans les modèles de

rongeurs génétiquement disposés lors de l'exposition à des agonistes des récepteurs sérotoninergiques [Buterbaugh, 1978, Filakovszky, et al., 1999, Kilian et Frey, 1973].

Certains modèles d'épilepsie apparaissent plus directement que d'autres concernés par le système sérotoninergique et notamment le modèle de rat bicuculline [Prendiville et Gale, 1993], le rat WAG/Rij, qui est un modèle génétique validé de l'épilepsie absence chez l'Homme [Graf, et al., 2004, Jakus, et al., 2003, Loscher et Schmidt, 1988], et les modèles de crises audiogéniques chez le rats [Dailey, et al., 1989, Jobe, et al., 1973] ou la souris [Brennan, et al., 1997, Tecott, et al., 1995]. Le modèle murin d'épilepsie myoclonique est associé à une profonde déplétion sérotoninergique dans l'ensemble du cerveau, exception faite du striatum [Welsh, et al., 2002]. Dans le cas particulier du modèle d'épilepsie absences atypiques chez le rat traité par le AY-9944, il a été constaté des taux élevés d'acide 5-hydroxyindolacétique et de sérotonine tout comme une altération du recyclage de la sérotonine ce qui suggère une altération de la neurotransmission sérotoninergique [Bercovici, et al., 2006]. L'inhibition par la galanine des neurones sérotoninergiques dans les noyaux du raphé aggrave les états de mal épileptiques limbiques induits par stimulations électriques dans des modèles murins [Mazarati, et al., 2005].

Par ailleurs, les phénomènes d'embrassement (kindling) sont retardés chez le rat [Lerner-Natoli, 1987, Schmitz, et al., 1998] et le chat [Wada, et al., 1992] lorsque la recapture de la sérotonine est inhibée. Cette activité est sous-tendue par l'action des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> comme cela est démontré en utilisant des agonistes spécifiques de ces récepteurs (8-OH-DPAT) [Wada, et al., 1993]. L'injection de ce même agoniste au niveau de l'hippocampe diminue la fréquence des crises chez les rats-kaïnate [Gariboldi, et al., 1996] ou les rats-bicuculline [Salgado-Commissariat et Alkadhi, 1997].

### *Les médicaments sérotoninergiques*

Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) modifient la transmission sérotoninergique à travers leur effet sur une vaste gamme de récepteurs pré et post-synaptiques qui ont chacun des potentiels de fixation et de dissociation différents. Cela explique l'effet pro- ou anti-épileptique qui est constaté selon les doses administrées. De plus, l'augmentation de la libération de sérotonine ou l'activation de ces récepteurs peut conduire à la libération d'autres neurotransmetteurs qui seront à leur tour responsables d'effets indirects. L'effet thérapeutique des IRSR va donc dépendre de la résultante entre des effets opposés sur l'excitabilité neuronale [Theodore, 2003].

Globalement, les médicaments responsables d'une augmentation de la sérotonine intracérébrale exercent un effet anticonvulsivant sur divers modèles animaux [Dailey, et al., 1992, Wada, et al., 1993, Watanabe, et al., 1998, Yan, et al., 1994, Yan, et al., 1995]. Cet effet apparaît, là encore, dépendant des récepteurs 5-HT<sub>1</sub> [Lu et Gean, 1998]. La fluoxétine est un inhibiteur hautement sélectif de la recapture de la sérotonine. Cette molécule prévient l'apparition de crises induite par la bicuculline, que la fluoxétine soit injectée en périphérie [Prendiville et Gale, 1993] ou directement dans la substance noire [Pasini, et al., 1992]. L'effet anti-épileptique de la fluoxétine au sein de la substance noire apparaît résulter d'une augmentation de l'action de la sérotonine endogène à ce niveau et ce par son action sur plusieurs types de récepteurs sérotoninergiques [Pasini, et al., 1996]. Le blocage de la recapture de la sérotonine par la fluoxétine est responsable d'une diminution de la durée et d'une augmentation du seuil de déclenchement des post-décharges dans des modèles d'épilepsie par embrasement de chats ou de rats [Wada, et al., 1993]. Il est démontré une potentialisation de l'effet anti-épileptique de la phénytoïne et de la carbamazépine par la fluoxétine dans le cas de souris présentant des crises toniques induites par des stimulations électriques [Leander, 1992]. Dans un autre modèle de souris présentant des crises, la

fluoxétine accroît le pouvoir anti-épileptique de la carbamazépine, de la diphénylhydantoïne, du valproate et du phénobarbital [Borowicz, et al., 2006]. Cet effet est confirmé par la dose d'anti-épileptique nécessaire à diminuer de moitié le nombre de crises. Cette dose nécessaire se révèle en effet inversement corrélée à la dose de fluoxétine administrée. Le prétraitement de souris par de la fluoxétine a permis une augmentation significative du taux de survie à 60 mn après injection de pentylentétrazole, tout comme la durée de survie et la latence d'apparition des crises [Magyar, et al., 2003]. Des résultats similaires ont été observés avec un métabolite de la fluoxétine (la norfluoxétine) sur ce même modèle murin [Kecskemeti, et al., 2005].

L'administration à long terme de fluoxétine permet une inhibition des crises hippocampiques déclenchées par stimulations électriques chez le rat [Wada, et al., 1995]. Cependant, l'effet au long court de la fluoxétine a été étudié chez des souris présentant une épilepsie partielle et par ailleurs traitées par des doses stables de phénytoïne [Raju, et al., 1999]. Non seulement la fluoxétine n'a démontré dans ce cas aucun effet anti-convulsivant mais plutôt un effet proconvulsivant.

### **MODULATION DU SYSTEME SEROTONINERGIQUE PAR L'ÉPILEPSIE :**

#### ***Les modèles animaux et vérifications anatomiques***

Si certaines chimiothérapies anticonvulsivantes ont précocement démontré leur responsabilité dans l'augmentation de la sérotonine cérébrale [Bonnycastle, et al., 1956], les effets des crises sur les récepteurs 5-HT semblent très divers selon le type d'épilepsie.

L'étude d'un modèle génétique d'épilepsie généralisée (Genetically Epilepsy-Prone Rats) chez le rat montre une diminution globale de la concentration de la sérotonine intracérébrale [Dailey, et al., 1992]. Sa recapture et sa synthèse sont aussi diminuées

[Statnick, et al., 1996a, Statnick, et al., 1996b]; les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sont diminués concomitamment.

Sur les modèles d'épilepsie temporale par embrasement chez le rat, on constate une augmentation focale bilatérale des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans les hippocampes.

Chez l'Homme, la sérotonine et son métabolite (l'acide 5-hydroxyindolacétique) sont augmentés dans la zone épileptogène et notamment au sein des régions riches en pointes intercritiques sur l'électroencéphalographie pré-opératoire. Cette démonstration a été apportée par l'étude des pièces de lobectomie temporale chez les patients bénéficiant d'une chirurgie de l'épilepsie [Louw, et al., 1989, Pintor, et al., 1990].

### *Les médicaments anti-épileptiques*

L'acide valproïque, la lamotrigine, la carbamazépine, la phénytoïne, le zonisamide élèvent tous le taux de base de la sérotonine ou stimulent sa libération [Ahmad, et al., 2005, Dailey, et al., 1997, Okada, et al., 1992]. Cet effet est d'ailleurs considéré comme participant aux propriétés anti-épileptiques de ces médicaments. Ainsi, les effets des médicaments anti-épileptiques sur la sérotonine ont été étudiés sur le rat génétiquement prédisposé à l'épilepsie généralisée (Genetically Epilepsy-Prone Rats) par microdialyse. Il a été démontré une corrélation positive entre effet anti-épileptique du médicament et le taux extracellulaire de sérotonine [Dailey, et al., 1997]. Les effets de la lamotrigine, de la phénytoïne et de la carbamazépine sur les taux extracellulaires de sérotonine et de dopamine basaux et après stimulation ont été étudiés [Ahmad, et al., 2005]. L'effet de ces drogues sur la libération de sérotonine apparaît aussi dépendre du taux de base de cette dernière.

### ROLE DES RECEPTEURS 5-HT<sub>1A</sub>

Les différentes études détaillées dans les paragraphes précédents établissent un rôle antiépileptique à la sérotonine. Au sein du système sérotoninergique, les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> jouent un rôle particulier dans cet effet antiépileptique.

Les différentes expérimentations qui contribuent à définir ce rôle sont rapportées dans le tableau 2. La grande majorité de ces études, réalisées sur des modèles animaux, confère aux récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> un rôle protecteur à l'égard du développement des crises et de l'épileptogénèse au sein du parenchyme cérébral. Les molécules antagonistes de ces récepteurs ont quant à elle un effet délétère et favorise l'émergence des crises d'épilepsie. Ces effets apparaissent reproductibles dans différents modèles d'épilepsie, que ce soit chez le rat, la souris ou des préparations histologiques isolées. Une unique étude chez la souris se révèle négative [Middlemiss et Fozard, 1983] et il est mis en évidence un effet aggravant de la stimulation des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sur l'épilepsie dans un modèle d'épilepsie généralisée chez le rat [Filakovszky, et al., 1999, Filakovszky, et al., 2001, Gerber, et al., 1998]. Il a par ailleurs été démontré une interdépendance du rôle de ces récepteurs avec les récepteurs glutamatergiques dans ce même modèle.

Action expérimentale	Conséquences	Modèle animal	Références
<b>Absence de récepteurs</b>	Baisse du seuil d'apparition des crises audiogènes Augmentation de la mortalité après administration de kainate	souris knock out pour les récepteurs 5-HT <sub>1A</sub> souris knock out pour les récepteurs 5-HT <sub>1A</sub>	Sarnyai et al. (2000) Parsons et al. (2001)
<b>Agonistes des 5-HT<sub>1A</sub></b> 8-OH-DPAT	<i>Pas d'effet sur le seuil d'induction des crises</i>  <i>Augmentation des décharges de pointes-ondes</i>  Diminution des décharges Diminution du développement des crises Diminution des décharges dans CA1  Diminution du nombre de crises  Diminution des clonies, des crises toniques et de la mortalité consécutive aux crises Augmentation de la latence d'apparition des crises  Diminution de la durée et de l'extension de la crise	<i>souris MES</i>  <i>rat WAG/Rij</i>  crises induites par la bicuculline embrasement tranches d'hippocampe de rat épilepsie déclenchée chez le chat par stimulations électriques haute fréquence et épilepsie partielle induite par l'acide kainique  crises induites chez la souris par la picrotoxine  crises induites chez la souris par le pentylenetetrazol crises motrices focales induites par la pilocarpines	<i>Middlemiss and Fozard (1983)</i> <i>Gerber et al. (1998); Filakovszky et al. (1999, 2001)</i> Salgado and Alkadhi (1995) Wada et al. (1996) Salgado and Alkadhi (1995)  Wada et al. (1993); Gariboldi et al. (1996)  Pericic et al. (2005)  Kecskemeti et al. (2005)  Clinckers et al. (2004b)
<b>Antagonistes des 5-HT<sub>1A</sub></b> WAY-100135  WAY-100635  NAN-190 Pindolol	Augmentation de la sévérité des crises Diminution de l'effet positif de la fluoxétine sur les décharges Diminution de l'effet positif du 8-OH-DPAT sur les décharges Augmentation des clonies, des crises toniques et de la mortalité consécutive aux crises Augmentation de la durée de la première postdécharge obtenue Diminution de la latence d'apparition de la seconde post-décharge <i>Diminution de l'effet négatif du 8-OH-DPAT sur les décharges de pointes-ondes</i> Augmentation de l'effet inhibiteur de la fluoxétine	stade I de l'embrasement chez le rat rat WAG/Rij rat WAG/Rij crises induites chez la souris par la picrotoxine crises partielles induites chez le rat par stimulations électriques à basse fréquence  rat WAG/Rij crises hippocampiques chez le rat	Watanabe et al. (2000) Jakus et al. (2003); Graf et al. (2004) Graf et al. (2004) Pericic et al. (2005)  Watanabe et al. (2000)  Gerber et al. (1998) Wada et al. (1999)

***Tableau 2 : Rôles des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans les modèles animaux d'épilepsie (d'après Bagdy et al. 2007)***

Les études qui mettent en évidence un effet facilitateur des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sont reportées en italiques. Toutes les autres études plaident en faveur d'un effet protecteur de la mise en jeu de ces récepteurs.

8-OH-DPAT : agoniste sélectif des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> (effet conjoint sur les récepteurs  $\alpha$ 1 et 5-HT<sub>7</sub>).

MES : Maximal electroshock

Antagonistes des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> : WAY-100135 : N-tert-butyl-3-(4-(2-methoxyphenyl)-piperazin-1-yl)-2-phenylpropanamide; WAY-100635 : N-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-2-pyridinyl cyclohexane-carboxamide maleate; NAN-190 : 1-(2-methoxyphenyl)-4-[4-(2-phthalimido)butyl]pipérazine.

## IMAGERIE TEP DES RECEPTEURS 5-HT<sub>1A</sub> :

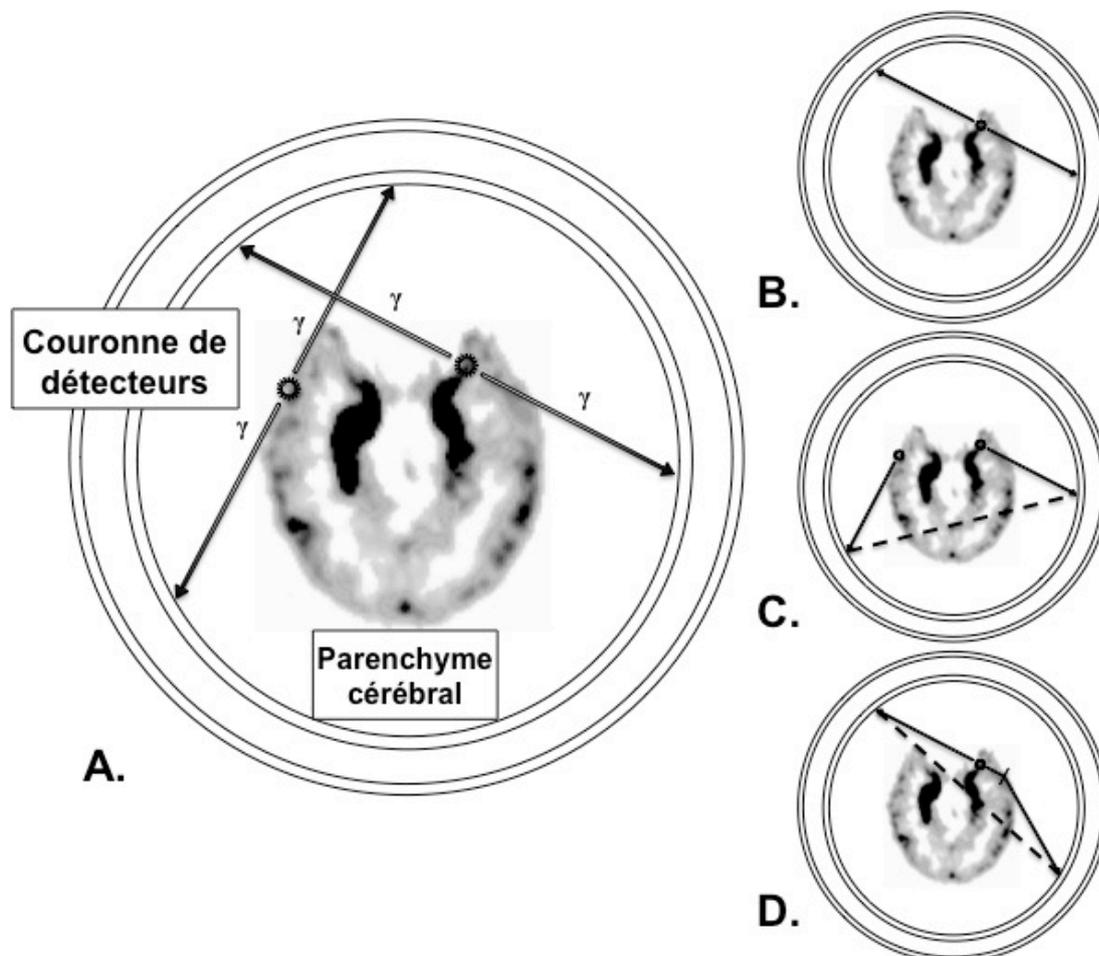
### *Principe de la tomographie par émission de positons (TEP) :*

La TEP est une technique d'imagerie fonctionnelle radio-isotopique, permettant après l'administration à dose traceuse d'une molécule biologique marquée par un isotope radioactif émetteur de positons, l'étude *in vivo* du fonctionnement du corps humain. Le principe de la TEP repose sur les caractéristiques physiques de radio- isotopes à courte demi-vie, émetteurs de positons [Houdé, et al., 2002]. Le positon (e<sup>+</sup>) est l'antiparticule de l'électron. Les isotopes utilisés en TEP sont principalement l'oxygène 15, l'azote 13, le carbone 11 et le fluor 18, dont les demi-vies sont respectivement de 2, 10, 20 et 110 minutes. Ce sont des éléments radioactifs instables qui libèrent un positon lors de leur retour à l'équilibre. Le positon, après un court trajet dans la matière (de l'ordre du millimètre, dépendant de l'énergie de libération de l'isotope), rencontre un électron libre (e<sup>-</sup>). Ces particules s'annihilent, laissant place à 2 photons gamma possédant deux caractéristiques essentielles: une énergie identique (511 keV) et une direction opposée à 180°. La caméra TEP détecte ces paires de photons gamma émis lors de l'annihilation au moyen de scintillateurs disposés en couronne autour de l'organe cible (Figure 3). Ainsi, les deux photons émis lors d'une annihilation sont recueillis en coïncidence temporelle par le couple de scintillateurs placés sur la ligne de réponse. La lumière secondaire émise par les scintillateurs est amplifiée par des photomultiplicateurs et transformée en signal électrique. Ces deux détecteurs sont munis d'un dispositif de coïncidence temporelle permettant de recueillir les détections coïncidence. La fenêtre de coïncidence est de l'ordre de quelques nanosecondes. En effet, avec la caméra TEP que nous avons utilisée, la transduction du signal photonique n'est pas assez rapide pour prendre en considération le temps de vol respectif des deux photons gamma entre le point de l'annihilation positonique et chacun des deux détecteurs. La détection de ces deux photons gamma dans une fenêtre de coïncidence est

appelée un "événement".

**Trois types d'évènements** peuvent être détectés (Figure 3):

- les événements dit « vrais » provenant de la même annihilation, pour lesquels les photons gamma ont suivi une trace directe jusqu'aux détecteurs sans interaction avec la matière traversée,
- les événements « diffusés », pour lesquels au moins l'un des deux photons a subi une interaction avec la matière, ce qui a provoqué une déviation de sa trajectoire,
- les événements « fortuits » se produisent lorsque deux photons provenant de deux annihilations différentes survenues quasiment au même instant sont captés par deux photorécepteurs dans la même fenêtre temporelle de coïncidence.



**Figure 3 : Schéma des différents événements en coïncidence détectés par une caméra à positons.**

- A. les photons gamma ( $\gamma$ ) sont représentés par les flèches qui partent dans des directions opposées à partir du point d'annihilation, B. Coïncidence vraie, C. Coïncidence fortuite, D. Coïncidence diffusée

Il existe plusieurs techniques pour distinguer ces différents types d'événements en coïncidence et obtenir une estimation des seules coïncidences vraies. Pour corriger le nombre total d'événements fortuits, une fenêtre de coïncidence dite « retardée » est utilisée afin d'éliminer les arrivées multiples de photons simples pour lesquelles la résolution temporelle du système ne permet pas de déterminer s'ils proviennent de la même annihilation. La correction des événements diffusés est plus complexe et s'effectue par seuillage sur l'énergie d'arrivée des photons simples (350 KeV) ; les photons diffusés ont une énergie plus faible que les photons initiaux. Cette correction est complétée par l'évaluation du taux d'évènements diffusés à partir de la mesure d'atténuation tissulaire (mesure de transmission effectuée par une source émettrice de positons externe,  $^{68}\text{Ge}$ ).

En effet, un autre phénomène, l'atténuation, perturbe le parcours des photons dans le cerveau. Afin d'obtenir une mesure quantitative de la radioactivité locale, il est nécessaire de connaître l'atténuation subie par les photons le long des lignes de réponses, or les photons ne parcourent pas la même distance à travers le cerveau. Pour corriger cette atténuation, une mesure de « transmission » est effectuée, elle consiste à faire tourner une source externe au cerveau, calibrée, émettrice de positons ( $^{68}\text{Ge}$ ) autour du sujet et à recueillir les photons simples qui traversent les tissus. Ainsi une carte d'atténuation tenant compte de la densité des tissus traversés (cerveau, crâne) et des matériaux (lit, support de tête) peut être reconstruite. Cette mesure prend 10 minutes et est réalisée en début d'un examen TEP.

Notons que l'activité du radioélément injecté décroît avec le temps, une correction de cette décroissance est donc nécessaire.

La reconstruction des images est effectuée à partir du comptage des coïncidences vraies sur chaque ligne de réponse. Les deux principales catégories d'algorithmes de reconstruction sont la rétroprojection filtrée et la reconstruction itérative. La rétroprojection filtrée présente l'avantage d'être rapide, facile et assez satisfaisante dans le cas de fixations de traceur relativement homogènes. Néanmoins, elle est connue pour amplifier le bruit statistique inhérent aux données acquises. A la fin de cette reconstruction, le nombre d'annihilations de positons a été converti en chaque point du cerveau en unité de radioactivité. Cependant, d'autres phénomènes peuvent affecter les images TEP : l'effet du volume partiel et les mouvements du sujet. L'effet de volume partiel résulte des deux aspects de la résolution spatiale. Le premier est lié à la résolution spatiale limitée du tomographe (entre 3 et 10 mm) et le second est lié à l'échantillonnage des images sur une grille de pixels. Ainsi, la petite taille de certaines structures associée à cette résolution spatiale limitée de la TEP produit un phénomène de dispersion de l'activité réelle au niveau de ces structures (une partie de l'activité de ces structures sera située en dehors de ces structures) et par conséquent la perte d'une partie de l'information sur la concentration (qui est sous-estimée) (spill-out effect). En dehors de la structure, l'effet de volume partiel entraîne une sur-estimation des concentrations dues à la contamination des structures voisines (spillover effect). En TEP cérébrale, l'effet de volume partiel peut se traduire par une contamination des régions cérébrales de forte radioactivité sur celles de faible radioactivité et par une mesure de radioactivité réduite dans les structures cérébrales de petite taille comme les noyaux du raphé. En effet, les études menées chez les sujets sains concluent à un volume du raphé mesuré à partir des images fonctionnelles en TEP de [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF de l'ordre de 400 mm<sup>3</sup>. Bien que peu d'études aient été réalisées sur l'anatomie du raphé dorsal chez l'Homme, la taille réelle de cette structure serait

en fait environ 8 fois inférieure [Underwood, et al., 1999]. Ceci prouve que la taille apparente de cette structure sur les images TEP dépasse la taille réelle de la structure anatomique, et suggère qu'un effet de volume partiel en altère les mesures.

Plusieurs méthodes de correction de l'effet de volume partiel ont été développées, dont la méthode de Geometric Transfer Matrix (GTM). Cette méthode repose sur la connaissance de la fonction de réponse de l'imageur dans le domaine spatial et des contours des structures dans l'image TEP au moyen d'une image anatomique (Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) recalée sur l'image TEP. Elle permet l'extraction des courbes d'activité temporelles réelles des structures étudiées à partir de l'information anatomique fournie par l'IRM.

La qualité des images TEP peut aussi être dégradée par les mouvements du sujet lui-même. Ces mouvements sont de deux types : les mouvements involontaires du sujet pendant l'acquisition des images et les mouvements physiologiques, tels que la respiration. La méthode la plus répandue de correction de ces mouvements est une méthode de correction algorithmique basée sur le réalignement de chaque séquence (*frame*) d'émission sur une cible.

### *Les radiotraceurs des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> :*

Un premier radioligand a été développé par Pike et al [Pike, et al., 1996] en 1996 : le [<sup>11</sup>C]WAY-100635. Il s'agit d'un antagoniste spécifique des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>.

Le second, le [<sup>18</sup>F]-(2'-methoxyphenyl-(N-2"-pyridinyl)-p-fluoro-benzamido-ethyl-piperazine ([<sup>18</sup>F]MPPF) a été élaboré en 1997 [Shiue, et al., 1997]. Sa synthèse, initialement complexe, a été simplifiée par Le Bars et al en 1998 au CERMEP [Le Bars, et al., 1998].

Le traceur utilisé dans notre laboratoire présente l'avantage d'être marqué au <sup>18</sup>F dont la demi-vie radioactive est de 110 minutes soit 5,5 fois plus longue que celle du WAY-100635 marqué au <sup>11</sup>C. De plus, son affinité pour les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> (Kd = 3,3 nM) est

proche de celle de la sérotonine endogène [Le Bars, et al., 1998] contrairement au WAY dont la forte affinité aux récepteurs le rend peu sensible aux variations de sérotonine endogène.

La corrélation entre répartition en récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et marquage par le MPPF a été démontrée par des études réalisées chez le chat et le rat [Ginovart, et al., 2000, Le Bars, et al., 1998, Plenevaux, et al., 2000a, Plenevaux, et al., 2000b]. Le [<sup>18</sup>F]MPPF permet ainsi de rendre compte de la perte neuronale hippocampique subie dans l'épilepsie du cortex limbique comme cela a été démontré chez le rat kaïnate [Van Bogaert, et al., 2001].

### *Estimation de la densité en récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> :*

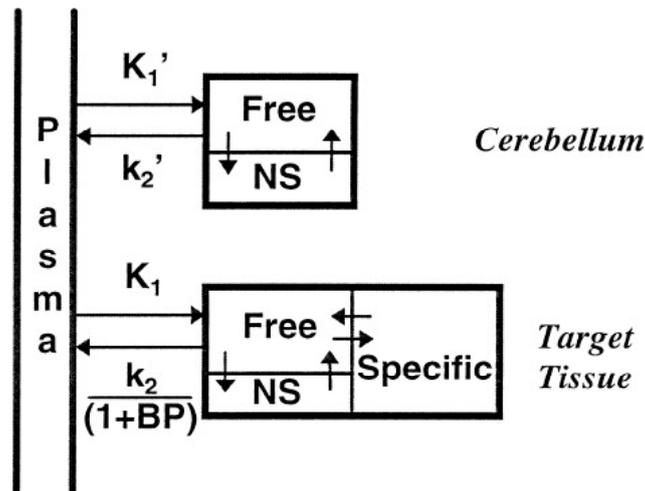
La tomographie par émission de positons encéphalique permet d'acquérir des images reflétant la présence d'un traceur radioactif au sein du parenchyme cérébral et de ses différentes enveloppes.

Ce signal radioactif est le reflet à un temps donné de la présence du traceur. De cette activité brute, il convient d'en déduire la composante informative soit l'activité radioactive correspondant à la fixation spécifique du traceur sur le récepteur 5-HT<sub>1A</sub>. Cette activité est en effet surchargée par le rayonnement du traceur présent dans le compartiment vasculaire et de celui se situant dans le parenchyme mais non lié aux récepteurs.

Le modèle habituel d'évaluation de la fixation spécifique d'un radioligand à des récepteurs implique la réalisation de prélèvements artériels. Cette méthode invasive est difficilement applicable dans le cadre de protocoles cliniques chez des patients.

Une méthode d'évaluation simplifiée, ne nécessitant pas de prélèvement artériel, a été développée par Gunn [Innis, et al., 2007] pour le WAY puis validée dans notre laboratoire par Costes [Costes, et al., 2002] pour le [<sup>18</sup>F]MPPF.

Ce modèle distingue trois compartiments distincts (Figure 4) : le compartiment vasculaire, le compartiment où le ligand est présent de manière aspécifique (ligand libre et ligand fixé de manière aspécifique) et un dernier compartiment où le ligand se fixe de manière spécifique aux récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>.



**Figure 4 :** Représentation des différentes constantes de flux entre le plasma et le compartiment de référence (cervelet) d'une part et le compartiment cible (l'hippocampe) d'autre part.

Au sein de chaque compartiment, le ligand est réparti entre fraction libre (free), fraction liée de manière aspécifique aux récepteurs (NS) et fixation spécifique (Specific) pour le tissu cible.

Gunn a démontré que, pour un radioligand franchissant la barrière hémato-encéphalique de manière non saturable et sans métabolite actif au sein du parenchyme cérébral, l'évolution de la radioactivité spécifique de la fixation du ligand aux récepteurs au cours du temps peut être exprimée comme :

$$C_T(t) = R_1 C_R(t) + \left( k_2 - (R_1 k_2) / (1+BP) \right) C_R(t) \otimes e^{-(k_2/(1+BP) + \lambda)t}$$

où  $C_r(t)$  est l'activité radioactive en fonction du temps au sein de la région de référence,  $C_t(t)$  est l'activité radioactive en fonction du temps au sein de la région cible, BP est le potentiel de fixation,  $k_2$  est la constante de flux de sortie du ligand de la région cible, R1 exprime le rapport entre les constantes de flux d'entrée dans la région cible sur la région de référence ( $= K_1/K_1'$ ),  $\lambda$  est la constante de radioactivité du traceur du ligand et  $\otimes$  représente l'opération de convolution.

Cette relation permet de déduire les valeurs de BP,  $k_2$  et R1 pour une région cible donnée à partir de la comparaison de la radioactivité de cette dernière au cours du temps avec celle enregistrée dans une région de référence.

### *Méthode d'acquisition de la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF*

Toutes les acquisitions TEP effectuées au cours de ce travail ont été réalisées sur une caméra CTI-SIEMENS HR+ (Knoxville, TN, USA), pendant l'après-midi, au CERMEP-imagerie du vivant à Lyon.

Le sujet est allongé en état de repos sensoriel dans la salle d'examen et un masque thermoformable est modelé sur son visage afin de limiter les mouvements de la tête pendant l'acquisition. Avant le début de l'examen, une mesure de transmission de 10 minutes est effectuée. Puis, un bolus d'environ 200 MBq de [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF (2,7 MBq par kilo de poids) est injecté par voie intraveineuse périphérique, sur 30 secondes environ, suivi d'une rinçure par du sérum physiologique. Pour l'injection du radiotracer, un cathéter intraveineux est placé dans la veine radiale du bras gauche. Pour une haute activité spécifique de 1 Ci/ $\mu\text{mol}$ , ceci correspond à une quantité maximale de [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF injecté de 2,5  $\mu\text{g}$  (5nmol), soit pour un individu de 60 kg, 0.042  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . L'acquisition dynamique des images radioactives du cerveau commence immédiatement après l'injection et dure 60 minutes. Pendant l'acquisition, l'absence d'endormissement est contrôlé par le personnel paramédical. Après reconstruction, une séquence dite « dynamique » est obtenue. Elle regroupe 35 acquisitions successives ou «frames» décomposées en 15 frames de 20 s, 15 frames de 120 s et 5 frames de 300 s.

Ces images sont corrigées du diffusé et de l'atténuation, et reconstruites par une méthode de rétroprojection filtrée 3D (Hanning filter) pour fournir un volume de 63 coupes jointives de 128 x 128 voxels de 2,01 x 2,01 x 2,42 mm<sup>2</sup>. La résolution spatiale est d'environ 4 mm dans le centre du champ de vue.

Ces images TEP brutes de radioactivité sont ensuite transformées en images quantifiées de BP du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF aux récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> à partir d'un modèle simplifié à référence tissulaire à trois compartiments (SRTM, Simple Reference Tissue Model) [Gunn, et

al., 1998]. Ces images quantifiées pourront être statistiquement analysées soit voxel à voxel soit par régions d'intérêt (ROI).

### **LA MODELISATION DES DONNEES TEP AU [<sup>18</sup>F]MPPF**

Après son injection, le radioligand se répartit dans le cerveau en traversant la barrière hémato-encéphalique. Dans le cas où le radioligand est un agoniste ou un antagoniste d'un récepteur, il va se fixer sur les récepteurs correspondants en entrant en compétition avec le neurotransmetteur endogène. Au moment de l'acquisition, la fixation du ligand dépend donc du nombre de récepteurs disponibles et de la compétition avec le neurotransmetteur endogène. Des cartes de disponibilité de récepteurs peuvent ainsi être obtenues.

La TEP permet l'acquisition continue du signal radioactif cérébral une période de 60 minutes. La série d'images fournie par la TEP permet une extraction régionale des courbes tissulaires cérébrales de l'activité radioactive (Time activity curves TAC). L'objet de la modélisation est de transformer cette mesure cinétique de radioactivité en une mesure quantitative des paramètres régissant les échanges ligand- récepteur au niveau local, voire au niveau du voxel. L'interaction ligand-récepteur repose sur la reconnaissance spécifique du ligand par le récepteur. Cette liaison est spécifique, réversible et donc saturable. Il n'y a en effet qu'un nombre limité de récepteurs dans une synapse. La modélisation *in vivo* des interactions ligand-récepteurs découle de la modélisation *in vitro* de ces interactions, mais en diffère pour plusieurs raisons : l'apport du ligand se fait par voie intraveineuse (nécessité d'inclure la cinétique du ligand entre la circulation sanguine et les récepteurs), la concentration de ligand libre (F) n'est pas constante, la concentration du ligand sous forme liée (B) n'est pas accessible directement par la mesure, une partie du ligand est métabolisée et

---

le système ne contient plus un seul compartiment cible mais éventuellement d'autres compartiments non-spécifiques.

Les modèles compartimentaux sont le « gold standard » de la modélisation de ces interactions. Ils permettent l'étude de la cinétique de produits entre différents systèmes. Ces modèles sont constitués d'un nombre fini de compartiments liés les uns aux autres par des vitesses d'échange de produits et par des constantes d'équilibre. Ces modèles se formulent mathématiquement par des équations différentielles qui permettent de calculer la dynamique des produits au cours du temps et les échanges entre les différents compartiments. Pour modéliser l'interaction ligand-récepteur *in vivo*, Delforge a proposé un modèle compartimental répondant aux exigences de la modélisation *in vivo* [Delforge, et al., 1996]. Ce modèle comporte 4 compartiments. Le premier compartiment représente la concentration de ligand libre dans le plasma et les trois autres compartiments ont la même signification que dans le modèle *in vitro* : concentration tissulaire du ligand libre, du ligand spécifiquement ou non spécifiquement fixé à ses récepteurs.

Dans ce modèle, la liaison non spécifique est supposée non saturable. De plus, si les échanges avec le compartiment non spécifique sont rapides et atteignent un état d'équilibre par rapport à la liaison spécifique, le modèle peut être réduit à 3 compartiments.

Le problème majeur de la quantification *in vivo* des interactions ligand- récepteurs est l'incertitude concernant la concentration réelle de ligand libre. Il est donc nécessaire d'ajouter deux variables supplémentaires à ce modèle pour l'imagerie TEP.

Ces deux variables sont la fraction  $f_1$  de ligand plasmatique libre susceptible de traverser la barrière hémato-encéphalique 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 et sont sans unité mais de dimension  $\text{ml.ml}^{-1}$ .

Ainsi  $K_1 = f_1.k_1$

$$k_2 = k_2$$

$$k_3 = f_2 \cdot k_{on} B'_{max}$$

$$k_4 = k_{off}$$

Où  $k_{on}$  : constante d'association du ligand-récepteur (min<sup>-1</sup>)

$k_{off}$  : constante de dissociation (min<sup>-1</sup>)

$B'_{max}$  : concentration de récepteurs spécifiques potentiellement disponibles

(pmol.cm<sup>-3</sup>)

La résolution et donc l'identification des paramètres de ce modèle à 4 compartiments sont particulièrement compliquées. Trois stratégies sont possibles :

- 1) réaliser une première modélisation chez l'animal de la cinétique du ligand dans une expérience de multi-injection permettant la résolution complète du système d'équations différentielles puis valider une simplification des protocoles chez l'homme,
- 2) Réaliser une expérience de multi-injection chez l'homme, dans le respect des contraintes de dosimétrie, de toxicologie et de temps d'examen,
- 3) simplifier ce modèle pour permettre une identification plus accessible des paramètres restants.

Pour le [<sup>18</sup>F]MPPF une identification complète des paramètres du modèle a été menée à l'aide d'une expérience de multi-injection chez l'homme [Costes, et al., 2002]. Le modèle à 4 compartiments a été simplifié en modèle à 3 compartiments (cf. Figure 26). Ces compartiments sont le compartiment plasmatique, le compartiment contenant la fraction de radioligand libre et le compartiment contenant la fraction de radioligand lié de façon spécifique aux récepteurs.

Il convient de remarquer que dans ce type de modélisation compartimentale de la répartition tissulaire du traceur, le volume de réaction,  $V_r$ , est défini par le rapport entre la concentration moyenne de ligand dans le tissu et la concentration locale de ligand au voisinage des récepteurs.  $V_r$  ne peut être estimé séparément de  $k_{on}$  : seul le rapport  $k_{on}/V_r$  peut être estimé. De la même façon, seul le produit  $K_d V_r$  peut être estimé.

Le paramètre  $V_r$  prend en compte l'effet d'une possible liaison non spécifique incluse dans le compartiment « ligand libre ».

Dans les conditions d'un modèle tri-compartimental, la cinétique du radioligand est évaluée dans les différents compartiments et des équations différentielles décrivent les modifications des concentrations dans ces compartiments :

$$dC_f/dt = K_1 \cdot C_a - (k_2 + k_3)C_f + k_4 \cdot C_b$$

$$\text{et } dC_b/dt = k_3 \cdot C_f - k_4 \cdot C_b$$

où  $C_f$  : concentration tissulaire de ligand libre pouvant se lier

$C_a$  : concentration de ligand libre dans le sang traversant la barrière hémato-encéphalique

$C_b$  : concentration tissulaire de ligand lié aux récepteurs

Le relevé des cinétiques régionales de la distribution du [<sup>18</sup>F]MPPF, ainsi que la connaissance de la fonction artérielle mesurée par une voie artérielle périphérique a permis de résoudre le système et donner une évaluation fiable des paramètres du modèle compartimental. Ainsi, une étude TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF en multiinjection a permis cette validation chez 5 sujets sains et a déterminé la densité des récepteurs disponibles ( $B_{max}$  en pmol/cc), les vitesses d'association et de dissociation de la fixation aux récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> ( $k_{on}$  et  $k_{off}$  en min<sup>-1</sup>) ainsi que la vitesse de passage de la barrière hémato-encéphalique ( $k_1$  et  $k_2$  en min<sup>-1</sup>) [Costes, et al., 2002].

---

**MODELISATION SIMPLIFIEE AVEC COURBE DE REFERENCE TISSULAIRE**

Une simplification importante a été trouvée en considérant une région tissulaire de référence dépourvue de récepteur spécifique du traceur étudié. Ce type de modèle permet seulement la quantification d'une partie des paramètres du modèle compartimental complet. Pour résoudre le système d'équations différentielles de ce modèle simplifié, plusieurs stratégies ont été développées. L'une repose sur une représentation graphique paramétrique de Logan [Logan, 2000] élaborée à partir des TAC des régions cibles et des TAC de la région de référence. Ce graphe paramétrique est utilisé pour mettre en évidence une linéarisation de la courbe à l'équilibre. Les paramètres de l'asymptote de cette courbe sont liés aux paramètres du modèle compartimental. Une autre stratégie s'appuie sur une solution analytique du système simplifiée (voir ci-dessous). Il s'agit du modèle SRTM [Gunn, et al., 1998]. Ces approches sont basées sur la construction de courbes temporelle de concentration de traceur dans une région d'intérêt cible  $C_{roi}(t)$  et dans une région de référence  $C_{ref}(t)$ . La méthode de Logan permet une estimation du paramètre du volume de distribution et le modèle SRTM que nous utilisons, permet, quant-à-lui, une estimation des paramètres BP,  $k_2$  et R1 (rapport des  $K_1$  dans la région cibles et dans la région de référence).

Le BP vise à déterminer cette concentration tissulaire en récepteur en prenant en compte de façon linéaire deux paramètres : la densité des récepteurs ( $B_{max}$ ) et l'affinité du radioligand pour le récepteur étudié. Le BP fut tout d'abord défini *in vitro* par la relation suivante [Mintun, et al., 1984] :

$$BP = B_{max}/K_d = B_{max} \times \text{affinité}$$

Puis adapté à l'imagerie TEP par Laruelle (2000) de la façon suivante :

$$BP = k_3/k_4 = f_2 k_{on} B_{max}/k_{off} = f_2 (B_{max}/K_d)$$

Notons que jusqu'à présent, la nomenclature du BP pouvait correspondre à différentes relations, récemment un consensus autour de l'appellation du BP a été fait [Innis, et al., 2007]. Trois différents BP sont distingués : BP<sub>F</sub>, BP<sub>P</sub> et BP<sub>ND</sub> [Innis, et al., 2007]. Le BP<sub>F</sub> se réfère au ratio à l'équilibre entre la concentration de radioligand spécifiquement lié dans le tissu et celle de radioligand libre (free) dans le plasma. Le BP<sub>P</sub> se réfère au ratio à l'équilibre entre la concentration de radioligand spécifiquement lié et celle de radioligand total dans le plasma. Le BP<sub>ND</sub> se réfère, quant à lui, au ratio à l'équilibre entre la concentration de radioligand spécifiquement lié et celle de radioligand non-déplaçable dans le tissu ; ce BP<sub>ND</sub> est la mesure typique utilisée à partir d'un modèle simplifié avec référence tissulaire. Dans nos études, nous utilisons le BP<sub>ND</sub>.

Si fP est la fraction libre plasmatique du ligand :

$$BP_F = (VT - VND) / fP = K1k3 / fPk2k4$$

$$BP_P = VT - VND = K1k3 / k2k4$$

$$BP_{ND} = (VT - VND) / VND = VT / VND - 1 = k3/k4$$

Où VT / VND est le ratio du volume de distribution, VT : le volume de distribution total et VND : le volume de distribution non-déplaçable.

L'utilisation de ces modèles suppose plusieurs hypothèses : (1) il existe une région de référence dans laquelle la concentration de récepteurs est négligeable, (2) l'amplitude de la liaison non-spécifique est la même dans la région de référence et dans les régions d'intérêt, (3) les volumes de distribution dans les compartiments libre et non-spécifique sont les mêmes dans la région de référence et dans les régions d'intérêt et (4) les échanges entre les compartiments libre et non-spécifique sont rapides. Pour nos études, le modèle SRTM à trois compartiments [Gunn, et al., 1998] a été validé pour transformer les images brutes TEP de [<sup>18</sup>F]MPPF (de radioactivité) en des images quantifiées de la fixation du traceur.

Le cervelet contenant peu ou pas de récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> est utilisé comme région de référence et permet d'évaluer la radioactivité non spécifique et les hippocampes sont considérés comme régions d'intérêt cibles, riches en récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>. Dans ce modèle SRTM, par convolution, nous obtenons les TAC pour chaque ROI (C<sub>T</sub>(t)) selon l'équation suivante [Gunn, et al., 1998].

$$C_T(t) = R_1 C_R(t) + \left\{ k_2 - \frac{R_1 k_2}{1 + BP} \right\} C_R(t) \otimes e^{-[k_2/(1+BP)+\lambda]t}$$

où C<sub>R</sub>(t) représente la TAC dans la région de référence, k<sub>2</sub> le flux de sortie du tissu, R<sub>1</sub> le rapport entre l'entrée dans la ROI et dans la région de référence : R<sub>1</sub>=k<sub>1</sub>/k<sub>1</sub>' , λ la valeur physique de la décroissance de l'isotope (<sup>18</sup>F) et l'opérateur de produit de convolution.

L'application de cette équation opérationnelle à une région de référence et à la série d'images dynamique TEP, permet d'estimer les trois paramètres k<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>, et BP et d'obtenir des trois images paramétriques voxel à voxel de k<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>, et BP pour chaque sujet (cf. Figure 29). Nous utilisons le module Bindimg du logiciel CAPP (Clinical Application Programming Package) pour effectuer cette étape.

#### NORMALISATION ET LISSAGE

Pour pouvoir effectuer des comparaisons inter-sujets, ces images paramétriques de BP, R<sub>1</sub>, k<sub>2</sub> sont normalisées spatialement par rapport à un cerveau standard dans un espace stéréotaxique standard (ICBM, International Consortium for Brain Mapping). Pour ce faire, l'image statique de [<sup>18</sup>F]MPPF de chaque sujet étudié est normalisé au préalable sur l'image template [<sup>18</sup>F]MPPF du CERMEP (constituée de la moyenne de 45 images statiques normalisées de sujets sains) puis les paramètres de cette matrice de transformation non linéaire sont appliqués aux images de BP, R<sub>1</sub>, k<sub>2</sub>. Cette étape déterminante se fait avec le

logiciel SPM2 (Statistical Parametric Mapping, SPM2, Wellcome Department of imaging neuroscience, Londres, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/>).

La résolution des images TEP est de l'ordre de 5 mm isotropiques et la taille d'un voxel est de 2x2x2 mm<sup>3</sup>. Le suréchantillonnage indique qu'il existe une corrélation spatiale entre les voxels adjacents. Pour tenir compte de cette résolution et imposer la distribution gaussienne de cette corrélation, les images de BP, R1, k2 normalisées sont lissées à l'aide d'un filtre Gaussien isotropique. Cette stratégie permet en outre (1) de réduire la variabilité anatomique interindividuelle et le bruit introduit par la normalisation et (2) d'augmenter la sensibilité de l'analyse statistique [Friston, et al., 1991].

Pour l'ensemble des études réalisées dans le cadre de ce travail, le modèle simplifié SRTM avec comme tissu de référence la substance blanche du cervelet a été utilisé pour transformer les images brutes en images quantifiées en estimant la valeur du BPND du [<sup>18</sup>F]MPPF [Innis, et al., 2007]. Les images paramétriques de BPND obtenues ont été normalisées et lissées dans un espace stéréotaxique standard à l'aide du logiciel SPM2.

Classiquement, l'analyse de ces images de BP, R1, k2 du [<sup>18</sup>F]MPPF normalisées et lissées peut être de trois types : visuelle, par régions d'intérêt (ROIs) et voxel à voxel à l'aide du logiciel SPM2.

Les différences statistiques entre groupes de sujets sont estimées en utilisant le modèle linéaire généralisé voxel à voxel [Friston, 1995] du logiciel SPM2 et en effectuant une analyse de covariance (ANCOVA) selon un nombre de facteurs prédéfinis. Les voxels présentant une variance anormalement élevée, liée aux facteurs d'intérêts, subissent un test post-hoc de comparaison de moyennes (test de Student) qui détermine si la valeur locale de BP d'un sujet ou d'un groupe est significativement différente d'un autre sujet ou groupe. La densité de probabilité (ddp) des cartes statistiques paramétriques est évaluée, soit au niveau du voxel, tenant compte du Z-score de la comparaison statistique effectuée, soit au niveau du

cluster, tenant compte du Z-score du voxel maximum dans le cluster et la taille du cluster considéré. Ces ddp sont calculées à l'aide de formules extraites de la théorie des champs gaussiens aléatoires [Worsley, et al., 1996]. Les valeurs sont considérées comme statistiquement significatives quand leur ddp est inférieure à une valeur fixée par l'opérateur, après correction par le nombre de tests effectués et de la dépendance spatiale des mesures.

Certains facteurs, telles que les variations de l'activité globale, l'âge ou le sexe, peuvent être considérées comme covariable de non-intérêt. Dans ce cas, les anomalies significativement différentes entre les groupes ou sujets sont, par définition, supposées indépendantes des variations liées à l'activité globale, l'âge et le sexe.

## **PLACE DE LA NEUROIMAGERIE DANS LE BILAN DES EPILEPSIES PHARMACORESISTANTES**

Pour plus de la moitié des patients souffrant d'une épilepsie, le traitement médicamenteux permet un contrôle complet des crises sans effets secondaires majeurs ou impact négatif sur la qualité de vie. Pour ces patients, le traitement chirurgical ne se justifie pas. En revanche, lorsque les médicaments anti-épileptiques échouent à contrôler l'épilepsie, la question de l'opérabilité de ces patients se pose [Schuele et Luders, 2008]. C'est au sein de cette population que la définition de la zone épileptogène (ZE) est cruciale. Les patients souffrant d'une épilepsie mésio-temporale représente la plus forte proportion des épilepsies pharmaco-résistantes et sont de bon candidat pour la chirurgie. Cette dernière permet le contrôle des crises et l'amélioration de la qualité de vie de ces patients [Engel, et al., 2003, Sindou, et al., 2006, Trevathan, 2006, Wiebe, et al., 2001].

Cependant, entre 20 et 50% des patients avec EMLT, selon les séries, ne sont pas libres de crises après la chirurgie [Schramm, 2008, Sindou, et al., 2006, Tellez-Zenteno, et al., 2007]. Ce taux d'échec justifie à lui seul la nécessité de disposer de meilleurs outils pour définir la ZE.

### *Détermination de la zone épileptogène chez un patient épileptique*

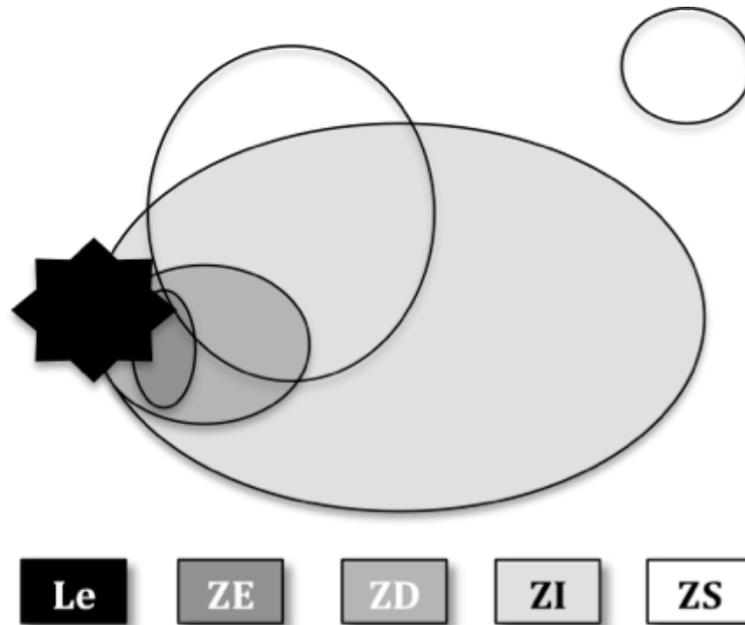
La définition de « zone épileptogène » retenue est celle proposée par Rosenow et Lüders en 2001 [Rosenow et Luders, 2001].

La ZE est définie par la région corticale indispensable à la survenue de crises d'épilepsie chez un patient épileptique. Cette zone contient donc les régions cérébrales qui sont à l'origine des crises d'épilepsies ainsi que les régions cérébrales susceptibles de développer secondairement une potentialité épileptogène, après une cortectomie notamment (c-à-d une ZE « potentielle »). À ce jour, la seule approche objective disponible de la ZE est la chirurgie. Ainsi, il est possible d'affirmer que la ZE est incluse dans la région cérébrale réséquée lorsqu'un patient est totalement libre de crise au décours de la chirurgie.

La ZE est à distinguer d'autres régions impliquées dans le processus épileptogène (Figure 5) :

- la zone symptomatogène (ZS) : il s'agit de la région du cerveau qui, lorsqu'elle activée par la décharge épileptique, produit les symptômes critiques. Elle peut être définie par l'analyse attentive des symptômes cliniques critiques. Plusieurs ZS peuvent être successivement ou simultanément mises en jeu au cours du développement de la décharge critique. Certaines ZS peuvent être activée très à distance de la ZE. Dans la grande majorité des cas, il n'existe pas de recouvrement complet de la ZS par la ZE.
- la zone irritative (ZI) est la région corticale qui est à l'origine des pointes intercritiques. L'étendue de cette zone peut être évaluée par l'électroencéphalographie et la magnétoencéphalographie (MEG). De façon plus anecdotique, elle peut être évaluée par l'IRM fonctionnelle (IRMf) des pointes interictales.
- la zone de départ des crises (ZD) est la région corticale où les crises sont générées. La ZD se différencie de la ZE qui est la région cérébrale indispensable à la survenue de crises. La ZD peut être définie par les enregistrements électro-encéphalographiques intracérébraux et est constituée par les régions cérébrales capables de produire des post-décharges après stimulation électrique intracérébrale. Il s'y associe des pointes

répétitives qui peuvent produire des symptômes cliniques lorsqu'elles envahissent des régions corticales éloquentes.



**Figure 5 : Schéma des différentes zones corticales impliquées dans l'épileptogénèse**

*Le : lésion épileptogène, ZD : zone de départ des crises, ZE : zone épileptogène, ZI : zone irritative, ZS : zone(s) symptomatogène(s).*

La lésion épileptogène est mise en évidence par les explorations radiologiques. Cependant, dans de nombreux cas, l'IRM cérébrale ne permet pas de circonscrire complètement la lésion et toutes ne sont pas visibles à l'IRM. Par ailleurs, certaines lésions radiologiques ne sont pas épileptogènes. Enfin, la lésion et la ZE ne sont pas nécessairement superposables. En effet, seule une partie de la lésion peut être impliquée dans l'apparition de crises d'épilepsie et la ZE peut s'étendre au delà de la zone lésionnelle. Les limites de l'imagerie morphologique justifient que les informations recueillies par l'analyse électro-

clinique des crises d'épilepsie soient étayées par les données de la neuroimagerie fonctionnelle.

Le bilan préchirurgical réalisé chez les patients épileptiques pharmaco-résistants a pour but d'identifier la ZE. Cette identification doit être aussi précise que possible quant à la localisation anatomique, l'étendue et les rapports de la ZE avec les régions cérébrales fonctionnelles adjacentes. En effet, c'est sur la base de ces données que sera réalisée la cortectomie dont le but est la disparition des crises d'épilepsie sans sacrifier aucune des fonctions cérébrales. L'identification précise de la ZE détermine directement le type de geste chirurgical chez les patients atteints d'une épilepsie partielle pharmaco-résistante.

L'ensemble du bilan préopératoire va donc s'attacher à déterminer les limites de cette ZE. La première étape de ce bilan est l'enregistrement vidéo et électro-encéphalographique de crises au cours d'une vidéo-EEG. L'établissement d'une corrélation électroclinique à partir de cet examen, associé aux données anamnestiques, permet dans la plupart des cas d'identifier une région cérébrale candidate à abriter la ZE. Trois cas distincts se présentent alors à l'issue de ce premier bilan. Premièrement, le syndrome épileptique identifié comporte tous les critères diagnostiques d'une épilepsie éligible au traitement chirurgical et une cortectomie peut être proposée d'emblée. C'est le cas de l'épilepsie temporo-mésiale (ETM) répondant à tous les critères syndromiques ainsi que certaines épilepsies lésionnelles lorsque les caractéristiques cliniques, électriques et iconographiques sont parfaitement congruentes. Dans le second cas, l'option chirurgicale est écartée car l'analyse électro-clinique permet de conclure à l'existence d'une épilepsie pour laquelle soit les ZE sont multiples, soit la ZE est très vaste, soit encore la ZE implique directement et précocement des régions du cerveau fonctionnelles donc inaccessibles à la chirurgie. Dans la troisième situation, qui est la plus courante en dehors du cas particulier de l'ETM, l'enregistrement vidéo-EEG permet

d'identifier une ZE potentiellement accessible à un geste de cortectomie mais dont la délimitation est insuffisamment précise pour proposer d'emblée une chirurgie.

L'examen de référence pour circonscrire la ZE est l'enregistrement par électrodes intracrâniennes, sous forme de grilles sous-durales [*grids*] d'électrodes corticales de surface ou d'électrodes intracérébrales implantées par stéréotaxie (Stéréo-Electro-Encéphalographie).

Cette limitation technique aux explorations invasives a conduit au développement de techniques non-invasives d'exploration, en premier lieu de neuro-imagerie fonctionnelle.

### *Apport de la neuroimagerie*

Les différentes techniques de neuroimagerie sont autant d'outils qui permettent d'affiner la localisation de la ZE. Tandis que certaines comme l'IRM sont avant tout morphologiques, d'autres comme le PET ou le SPECT donnent des informations sur l'état d'activité métabolique ou neurochimique du cerveau. C'est la TEP au [<sup>18</sup>F]FDG qui, historiquement, a été initialement utilisée alors que l'IRM cérébrale n'était pas encore disponible. C'est avec la TEP au [<sup>18</sup>F]FDG qu'une première grande avancée dans le bilan non invasif préopératoire des épilepsies a été faite. Cet examen permet la mise en évidence d'un hypométabolisme intercritique focal chez des patients dont la tomодensitométrie cérébrale était normale. Cette première approche a permis la mise en évidence d'une région cérébrale « fonctionnellement déficitaire » durant la période intercritique [Luders et Awad, 1991]. Les différentes techniques d'investigations IRM ont ensuite apporté une plus-value morphologique. Ainsi, la proportion d'exams IRM considérés normaux chez un patient épileptique est de plus en plus faible. Cependant, la mise en évidence d'une anomalie morphologique qu'elle soit malformative ou lésionnelle, ne permet en aucun cas d'affirmer que la ZE se limite ou est même concernée par la lésion mise en évidence. Le développement en imagerie TEP de radioligands de récepteurs apporte des informations complémentaires de

la morphologie. Ainsi les différents traceurs développés permettent la mise en évidence d'anomalies de la neurotransmission qui reflètent l'hyperexcitabilité neuronale. Cependant, les anomalies mises en évidence ne reflètent pas directement le processus d'épileptogénèse. Les informations obtenues par chaque technique de neuro-imagerie apparaissent donc plutôt comme complémentaires que redondantes [Duncan, 2009].

Les principales techniques de neuroimagerie utilisées dans le cadre du bilan préchirurgical des épilepsies sont rapportées ici avec une attention particulière portée aux différents traceurs PET.

### **L'IMAGERIE PAR RESONNANCE MAGNETIQUE (IRM) CEREBRALE**

L'IRM est actuellement l'examen iconographique de routine qui permet l'évaluation du parenchyme cérébral chez les patients épileptiques au cours de leur bilan préchirurgical. La rentabilité de cet examen est cependant très dépendante du type de séquences réalisées et de l'interpréteur (spécialisé ou non en épileptologie), ainsi que les propriétés de la machine utilisée. Ainsi, la réalisation d'une IRM cérébrale à 3 teslas permet la mise en évidence d'anomalies, essentiellement des anomalies focales du développement cortical, pour près de 20% des patients épileptiques chez qui l'IRM à 1,5 teslas était considérée normale [Strandberg, et al., 2008]. L'utilisation d'antennes de surface permet de confirmer l'existence de lésions douteuses sur l'IRM standard mais n'augmente pas le taux de détection des anomalies.

La tractographie est une technique IRM qui permet de reconstruire les différents faisceaux de substance blanche à partir de l'étude du coefficient d'anisotropie mesurée sur des séquences de diffusion. Il a été démontré que la diminution du nombre de connexions était inversement corrélée aux performances de mémoire verbale chez les patients souffrant d'une

épilepsie temporale gauche [Diehl, et al., 2008, Yogarajah et Duncan, 2008]. Ces études n'ont cependant pour lors aucune application clinique en routine.

L'enregistrement de l'EEG couplé à l'IRMf permet la mise en évidence de perturbations corticales induites par les crises d'épilepsie [Hamandi, et al., 2008].

### **LA SCINTIGRAPHIE CEREBRALE ICTALE ET INTER-ICTALE PAR EMISSION MONOPHOTONIQUE (SPECT)**

La SPECT permet la mesure du débit sanguin cérébral par enregistrement de l'activité de l'hexaméthyl propylène amine oxime (HMPAO) marqué avec le [<sup>99</sup>Tc]. Ce traceur est en effet capté par le parenchyme cérébral proportionnellement au débit sanguin dans chaque région du cerveau. La longue demi-vie du [<sup>99</sup>Tc] (6 heures) permet une acquisition dans les heures qui suivent l'injection.

Cet examen est réalisé en période ictale et interictale. Plus que l'interprétation isolée de ces deux examens, c'est la soustraction de la mesure inter-ictale de celle effectuée au cours d'une crise qui donne des informations sur la localisation de la ZE. Cependant, des études récentes comme celle de Fukuda [Fukuda, et al., 2006] remettent en cause la fiabilité de cette méthode de localisation de la ZE. La fiabilité des résultats de la SPECT est d'autant plus importante que les images de soustractions (ictale – interictale) peuvent être superposées à l'IRM du sujet [Matsuda, et al., 2009] par fusion d'images (SISCOM pour 'Substraction Ictal SPECT COregistred with MRI').

### **LA MAGNETO-ELECTROENCEPHALOGRAPHIE (MEG)**

La MEG permet l'enregistrement de champs magnétiques de l'ordre de 100 femto-Tesla, produits par le cortex cérébral, avec une fréquence d'échantillonnage temporel supérieure à 1 kHz [Stufflebeam, et al., 2009].

La première indication de la MEG en pratique clinique est l'exploration pré-chirurgicale des épilepsies pharmaco-résistantes. Cet examen permet la localisation anatomique au sein du cortex cérébral de décharges épileptiques ou d'anomalies intercritiques. L'enregistrement concomitant de la MEG et de l'EEG permet la localisation des anomalies épileptiques [Tang, et al., 2003]. La MEG se révèle plus sensible que l'EEG pour identifier des anomalies épileptiques sur le cortex de la convexité.

Il est établi que l'utilisation de la MEG dans le bilan préchirurgical des épilepsies améliore le pourcentage de patients libres de crises et ce indépendamment des autres examens [Knowlton, et al., 2008a, Knowlton, et al., 2008b]. De plus, il a été montré que les informations données par la MEG apparaissent non redondantes de celles obtenues par les autres investigations et ce dans un cinquième à un tiers des évaluations préchirurgicales [Knake, et al., 2006, Sutherling, et al., 2008].

### **LA TOMOGRAPHIE PAR EMISSION DE POSITONS (TEP)**

Nous détaillons ici les traceurs qui se sont révélés cliniquement utiles dans le cadre du bilan préchirurgical des épilepsies. Les radioligands des récepteurs cérébraux seront ici différenciés des traceurs métaboliques. En effet, les voies d'action de la grande majorité des neuromédiateurs peuvent maintenant être explorées et permettent une évaluation fonctionnelle du parenchyme cérébral et non plus seulement métabolique, comme c'est le cas avec le [ $^{18}\text{F}$ ]FDG.

***Radioligands métaboliques***



Le premier traceur utilisé, tant chronologiquement que numériquement, est le  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ . Il traverse la barrière hémato-encéphalique avant d'être phosphorylé à l'intérieur de la cellule dans une proportion corrélée à la glycolyse. La molécule de  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  est alors piégée dans la cellule et permet l'estimation du métabolisme glucidique du cerveau à un instant donné. Cet examen apparaît d'un intérêt particulier pour les 20 à 25% de patients qui souffrent d'une épilepsie pharmaco-résistante et ont une IRM cérébrale normale. La mise en évidence d'un hypométabolisme focal chez ces patients peut révéler une malformation du développement cortical passée inaperçue ou guider un enregistrement EEG intracérébral. Dans le cas de l'épilepsie du lobe temporal, la sensibilité et la spécificité estimées sont respectivement de 84 et 86% [Spencer, 1994]. La sensibilité et la spécificité sont encore améliorées avec l'étude d'index d'asymétrie [Van Bogaert, et al., 2000]. Il est possible de différencier différents sous-types d'hypométabolisme chez les patients TLE sans cependant mettre en évidence de relation avec le pronostic chirurgical [Chassoux, et al., 2004]. Une méta-analyse récente a démontré la valeur positive sur le pronostic chirurgical de l'existence d'un hypométabolisme focal au sein du lobe temporal pour les patients souffrant de TLE [Willmann, et al., 2007].

De plus, le coût de cet examen apparaît justifié au regard des informations qu'il fournit, notamment lorsque son indication est réservée aux patients dont l'IRM cérébrale et l'EEG de scalp ne sont pas informatifs [O'Brien, et al., 2008].

### ***Radioligands des récepteurs cérébraux***

Les modifications de la neurotransmission sont actuellement placées au cœur des mécanismes qui sont suspects de présider à l'hyperexcitabilité neuronale. A ce titre, les radioligands des récepteurs sont d'excellents candidats à l'identification de zones d'hyperexcitabilité corticale et, par voie de conséquence, à la délimitation de la ZE. L'interprétation des images obtenues avec ces traceurs se heurtent à deux écueils principaux : la quantification et l'interprétation fonctionnelle des images obtenues.

La quantification tout d'abord nécessite d'évaluer la proportion d'activité mesurée qui correspond à une fixation spécifique du radioligand sur le récepteur correspondant. Deux principales techniques sont utilisées : la première requiert des mesures artérielles répétées afin de mesurer l'évolution de l'activité au cours du temps et pouvoir ainsi quantifier celle-ci. Cette échantillonnage du sang artériel permet aussi de calculer les paramètres biologiques qui régulent la liaison du radioligand, comme le sont l'affinité du ligand pour le récepteur ( $K_d$ ) et la disponibilité de ce dernier ( $B_{max}$ ). Deux méthodes permettent de calculer l'activité spécifique [Delforge, et al., 1996]. La première consiste à comparer la courbe d'activité en fonction du temps (TAC, *time-activity curve*) dans une région connue pour être riche en récepteurs à une région de référence dépourvue de ceux-ci. La seconde méthode consiste à réaliser deux fois l'examen, la première en condition standard et la seconde après avoir saturé tous les récepteurs disponibles avec un ligand froid, c'est à dire non marqué. La comparaison d'activité entre ces deux examens permet de calculer l'activité spécifique.

La seconde difficulté est l'interprétation des images obtenues. En effet, une fois l'estimation d'une fixation spécifique du radioligand sur son récepteur, les images obtenues doivent être interprétées sur le plan physiopathologique mais une modification identique de la fixation d'un radioligand peut résulter de différents changements biologiques. Ainsi, la diminution de la fixation spécifique d'un radioligand au sein d'une région cérébrale peut

résulter de plusieurs mécanismes d'origines physiopathologiques opposées. En effet, une diminution de la fixation du radioligand peut tout aussi bien résulter d'une diminution du nombre de récepteurs disponibles à la surface des neurones soit du fait d'une internalisation, soit d'un déplacement du radioligand par le ligand endogène. Les conclusions physiopathologiques sont alors inverses.

### *[<sup>11</sup>C]-alpha-methyl tryptophane (AMT)*

L'AMT est un précurseur de la sérotonine et de la kinurénine. À ce titre, il a été étudié chez des patients épileptiques. L'intérêt de ce traceur a été démontré lorsqu'il existe plus d'un foyer épileptique potentiel, notamment dans le cas de patients souffrant de sclérose tubéreuse de Bourneville [Chugani, et al., 1998, Juhasz, et al., 2003, Kagawa, et al., 2005]. Une étude a montré la grande spécificité d'une augmentation de la fixation du [<sup>11</sup>C]AMT pour mettre en évidence des malformations occultes du développement cortical chez des enfants souffrant d'une épilepsie pharmacorésistante avec IRM normale [Wakamoto, et al., 2008]. Ce traceur se révèle aussi très performant pour mettre en évidence des hétérotopies périventriculaires [Natsume, et al., 2003].

### *[<sup>11</sup>C]-Flumazenil (FMZ)*

Ce radioligand permet l'étude des récepteurs aux benzodiazépines dont leur densité semble inversement corrélée à la perte neuronale [Henry, et al., 1993 1993, HEISS, 2000]. Cependant, si les diminutions constatées du [<sup>11</sup>C]FMZ sont bien corrélés à la perte neuronale dans les études auto-radiographiques [Koepp, et al., 1998], la correspondance n'est pas aussi claire in vivo [Koepp, et al., 1997] ce qui laisse à penser qu'une partie des diminutions observées peut refléter des modifications fonctionnelles. Une corrélation a été observée entre l'étendue de la diminution du [<sup>11</sup>C]FMZ et la fréquence des crises [Savic, et al., 1996] et une

normalisation des anomalies au décours d'une chirurgie efficace [Savic, et al., 1998]. Cependant, certains cas de fausses latéralisation ont été mises en évidence [Koepp, et al., 2000, Ryvlin, et al., 1998] et ces dernières semblent labiles au cours du temps [Ryvlin, et al., 1999]. Ce radioligand apparaît donc intéressant pour étudier les régulations à court terme des récepteurs aux benzodiazépines [Bouvard, et al., 2005] mais est d'utilisation délicate dans le cadre du bilan préchirurgical des épilepsies et peut être source d'erreur car sa fixation semble dépendante du délai séparant la dernière crise de l'acquisition des données TEP.

### *Marqueurs des récepteurs opioïdes : [<sup>11</sup>C]Diprenorphine et [<sup>11</sup>C]Carfentanil*

L'intérêt qui est porté aux marqueurs des récepteurs opioïdes dans l'épilepsie résulte de la mise en évidence d'un système anticonvulsivant endogène chez l'Homme, médié par les récepteurs opioïdes. La libération de peptides opioïdes survient lors de la phase de résolution des crises d'épilepsie. Le premier radioligand utilisé dans l'étude de ces récepteurs chez les patients épileptiques est le [<sup>11</sup>C]Carfentanil qui est un agoniste des récepteurs morphiniques  $\mu$ . La fixation de ce radioligand est augmentée au sein du lobe épileptogène de patients souffrant d'ELT [Frost, et al., 1988, Mayberg, et al., 1991]. Ces modifications concernent le néocortex temporal, adjacent aux structures temporo-mésiales. La [<sup>11</sup>C]Diprenorphine, un autre radioligand ciblant les récepteurs morphiniques  $\delta$ ,  $\kappa$  et, à un moindre degré  $\mu$ , a aussi été étudié. Une discrète diminution de la fixation de ce radioligand dans une petite proportion des patients avec une ELT a, cette fois-ci, été mise en évidence [Frost, et al., 1990, Mayberg, et al., 1991, Theodore, et al., 1992]. Une diminution de la fixation de la [<sup>11</sup>C]Diprenorphine a aussi été mise en évidence dans les absences induites par l'hyperventilation [Bartenstein, et al., 1993]. Comme avec chaque traceur d'un récepteur, l'interprétation physiopathologique qui est faite peut être plurielle. La diminution de la fixation de la [<sup>11</sup>C]Diprenorphine au sein de la

région pariéto-temporo-occipitale gauche de patients souffrants d'épilepsie à la lecture a été ainsi interprétée comme un déplacement du radioligand par une libération d'opioïdes endogènes au moment de la crise [Koepp, et al., 1998]. Une étude récente met en évidence l'existence d'une augmentation de la disponibilité des récepteurs opioïdes subséquentement à des crises spontanées chez l'Homme [Hammers, et al., 2007].

## OBJECTIFS

Le but de notre travail est d'évaluer la nature du lien qui existe entre l'expression des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et la zone épileptogène dans l'épilepsie du lobe temporal.

Poursuivant les précédents travaux portant sur ce sujet, nous nous attacherons à étudier cette relation sur le plan individuel et non pas seulement à l'échelle du groupe. Différentes approches méthodologiques seront évaluées afin de déterminer celle qui est la plus adaptée à la pratique clinique quotidienne.

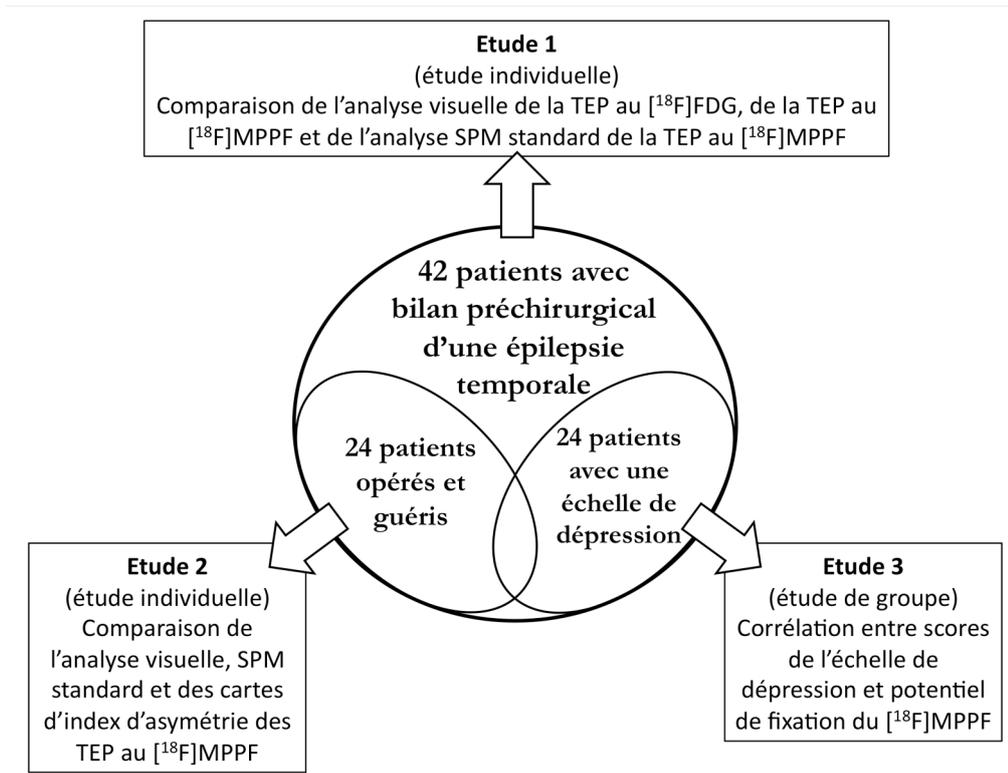
Ainsi, dans une première étude, nous avons étudié l'intérêt de l'analyse visuelle rapportée à l'analyse statistique voxel à voxel. Nous comparerons au cours de cette même étude l'intérêt relatif du [<sup>18</sup>F]MPPF et du radiotracer de référence, le [<sup>18</sup>F]FDG, dans l'identification de la ZE.

La seconde étude est consacrée à l'évaluation d'une nouvelle approche d'analyse individuelle des données TEP par index d'asymétrie. Cette méthode d'analyse a été comparée à l'analyse standard. Pour chacune de ces méthodes d'analyse, l'intérêt pratique dans le cadre du bilan préchirurgical de l'épilepsie du lobe temporal a lui aussi été évalué.

La dernière étude fut consacrée à l'effet sur la fixation du [<sup>18</sup>F]MPPF de la comorbidité psychiatrique principale associée à l'épilepsie du lobe temporal : la dépression. Nous avons étudié au niveau du groupe les modifications que cette pathologie peut engendrer sur les résultats de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF et discuterons son éventuel retentissement sur les conclusions du bilan pré-chirurgical.

Pour conduire ces différentes études, nous avons utilisé les examens TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF réalisés chez 42 patients inclus prospectivement dans notre base de données entre 2001 et 2006. Tous ces patients présentaient une épilepsie pharmacorésistante et ont accepté

de réaliser cet examen TEP au cours de leur bilan d'évaluation préchirurgicale. Parmi les 148 patients qui ont bénéficié d'un examen TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF durant la période d'inclusion (2001 à 2006), seuls les 42 patients avec un diagnostic établi d'ELT ont été retenus pour ces différentes études (Figure 6).



**Figure 6 : Schéma des différentes études**

**- Partie I -**

**INTERET DE L'ANALYSE VISUELLE DE LA TEP AU  
[<sup>18</sup>F]MPPF**

Plusieurs questions se posent lorsqu'il s'agit d'évaluer un nouvel examen diagnostique dans le cadre d'un bilan préchirurgical de l'épilepsie. En effet, les études à l'échelle du groupe ont établi un lien avec la zone épileptogène. Cependant, cette discrimination est-elle suffisamment précise et robuste pour être pertinente au plan individuel ? Nous avons donc souhaité comparer les résultats de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF à la technique de référence (la TEP au [<sup>18</sup>F]FDG) chez les patients souffrant d'une épilepsie temporale en cours de bilan préchirurgical. De plus, il nous est apparu utile de déterminer quel type d'analyse est le plus adapté pour l'analyse individuelle. Nous avons donc comparé les examens TEP de patients souffrant d'une épilepsie temporale selon que la TEP au [<sup>18</sup>F] MPPF était analysée visuellement ou statistiquement, par une technique de comparaison voxel à voxel. Ce travail a été publié dans la revue *Brain*, sous la référence :

*PET imaging of brain 5-HT1A receptors in the preoperative evaluation of temporal lobe epilepsy. Didelot A, Ryvlin P, Lothe A, Merlet I, Hammers A, Mauguière F. Brain. 2008 Oct;131(Pt 10):2751-64.*

Cet article est détaillé dans les paragraphes suivants.

## *Méthodes*

### **PATIENTS**

42 patients (21 hommes et 21 femmes) ont été inclus dans l'étude entre 2001 et 2004. Tous répondent aux critères d'inclusion suivants : i) une épilepsie temporale pharmaco-résistante documentée cliniquement, ii) un enregistrement vidéo-EEG de scalp comportant au moins trois crises spontanées associées à des décharges critiques impliquant les régions temporales et iii) une IRM cérébrale dans l'année précédant l'inclusion.

Tout patient prenant un traitement sérotoninergique (et notamment des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine) est exclu de l'étude.

### **TEMOINS**

La base de témoins est constituée de 48 sujets sains (24 hommes et 24 femmes), âgés de 19 à 68 ans (âge moyen : 40,5 ans), ne prenant aucun traitement et sans antécédent neurologique ou psychiatrique [Costes, et al., 2005].

Dix-neuf examens TEP similaires en âge et en sexe à des patients étudiés ont été extraits de cette base de données et mélangés de façon aléatoire aux examens des patients pour réaliser l'analyse visuelle.

### **IRM**

Les IRM cérébrales des patients sont réalisées avec un scanner Siemens Magnetom 1,5 Tesla (Siemens AG, Erlangen, Allemagne) et comprennent pour tous les patients et les témoins les séquences suivantes :

- une séquence volumique 3D pondérée T1 (TR : 9,7 ms, TE : 4 ms) incluant l'ensemble de l'encéphale et dont les voxels mesurent 1 mm<sup>3</sup>. Des reconstructions en coupes millimétriques sont effectuées parallèlement et perpendiculairement au plan bi-hippocampique,
- une séquence pondérée T2 (TR : 2260 ms et TE : 45 et 90 ms) turbo spin echo en coupes de 6 mm dans le plan bi-hippocampique,
- une séquence pondérée T2 (TR : 3000 ms et TE 16 et 98 ms) turbo spin echo en coupes coronales de 3 mm, perpendiculaires à la séquence précédente.

Deux observateurs indépendants (PR et AD) analysèrent les IRM et obtinrent des conclusions congruentes pour tous les patients sans être informés des données cliniques associées. Les IRM ont été considérées normales dans 7 cas (17%), montrèrent une sclérose hippocampique ipsilatérale au lobe temporal épileptogène dans 23 cas (55%), une atrophie bilatérale chez un patient (2%) et une lésion focale dans 11 cas (26%) dont 9 avec un aspect de dysplasie focale et deux avec une lésion atrophique.

#### **VIDEO STEREO-ELECTROENCEPHALOGRAPHIE**

Chez 18 patients (43%), une exploration invasive par enregistrement de l'activité cérébrale par électrodes intra-cérébrales profondes fut réalisée. En effet, les résultats du bilan préopératoire non invasif chez ces patients étaient insuffisamment congruents pour proposer une lobectomie temporale antérieure réglée ou, au contraire, pour contre-indiquer définitivement la chirurgie.

### **TEP AU [<sup>18</sup>F]FDG**

La TEP au [<sup>18</sup>F]FDG a été réalisée dans le cadre de l'évaluation préchirurgicale de routine et avec le même appareil que celui utilisé pour réaliser la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF. La procédure précise d'acquisition a été détaillée dans une précédente publication [Ryvlin, et al., 1992]. Les résultats de cet examen étaient disponibles pour 38 des 42 patients au moment de l'étude et intégrés dans la discussion du dossier préchirurgical, notamment pour décider de la nécessité de réaliser une vidéo SEEG. Indépendamment, et pour les besoins de l'étude, les images de ces examens ont été anonymisées et analysées à nouveau visuellement par deux interpréteurs indépendants (PR et FM). Ceux-ci ont identifié les régions d'hypométabolisme et seules les régions identifiées comme telles par les deux interpréteurs ont été prises en compte pour la comparaison avec le [<sup>18</sup>F]MPPF.

### **ÉTUDE DE LA TEP AU [<sup>18</sup>F] MPPF**

L'examen est réalisé selon le protocole décrit dans le chapitre consacré au principe d'acquisition de la TEP au [<sup>18</sup>F] MPPF dans le chapitre « Rappels théoriques ».

La construction des images de potentiels de fixation du [<sup>18</sup>F]MPPF (BP<sub>ND</sub>) est réalisée selon le protocole décrit dans le chapitre « Rappels théoriques » en utilisant comme région de référence pour la fixation aspécifique du [<sup>18</sup>F]MPPF, le cervelet.

### **CHIRURGIE DE L'ÉPILEPSIE**

A l'issue du bilan préchirurgical, 35 des 42 patients se sont révélés éligibles à une chirurgie de l'épilepsie et 27 d'entre eux ont finalement été opérés. 22 de ces patients ont justifié d'une lobectomie temporale antérieure réglée. Une amygdalo-hippocampectomie

sélective a été réalisée chez un patient et les quatre patients restant ont été opérés d'une cortectomie temporale à façon dont les limites ont été fixées par l'exploration stéréo-électroencéphalographique.

Le suivi postopératoire moyen est de 25 mois [7 à 48 mois] et 24 des 27 patients opérés (89%) sont libres de crise (Classe I de Engel). Les trois patients restants sont dans la classe II de Engel.

### CLASSIFICATION SYNDROMIQUE DE L'EPILEPSIE

Le groupe I est constitué par tous les patients atteints d'une EMT telle que définie par l'ensemble des symptômes décrits dans la littérature [French, et al., 1993, Williamson, et al., 1993], caractérisée par la vidéo-SEEG ou guérie par une lobectomie temporale antérieure réglée. Le groupe II regroupe les patients où les arguments cliniques et paracliniques sont insuffisants pour caractériser une EMT ainsi que les patients pour lesquels les crises ont leur origine dans des structures extra-mésiales du lobe temporal, telles qu'identifiées par la SEEG. Les épilepsies temporales néocorticales (NC), temporo-périsylvienne (T+) et temporales sans précision (t) sont distinguées au sein de ce groupe.

### ANALYSE DES EXAMENS TEP AU [<sup>18</sup>F]MPPF

#### *Sensibilité et spécificité*

Quelle que soit l'analyse effectuée dans cette étude, la sensibilité est définie par le pourcentage d'examen où la diminution mesurée sur la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF (visuellement ou statistiquement) implique la ZE telle que définie par le bilan préchirurgical (ou la chirurgie lorsque le patient a été opéré et guéri).

La spécificité est quant à elle définie par la proportion d'examens qui présentent une anomalie et où cette dernière est circonscrite à la ZE telle que définie au cours du bilan préchirurgical.

### *Analyse visuelle*

Les images de BP<sub>ND</sub> des TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF ont été reconstruites dans les plans axial et frontal puis mélangés de façon aléatoire avec les images de 19 témoins. Cette série de 61 examens reconstruits a ensuite été soumise à interprétations à trois examinateurs (FM, PR et AH) qui n'avaient aucune indication clinique sur les examens qu'ils ont du interpréter. Seuls les diminutions jugées significatives du BP<sub>ND</sub> devaient être reportées sur une grille de réponse. Lorsque l'interprétation de ces examens étaient discordante entre les examinateurs, une relecture réunissant les trois examinateurs était effectuée et a permis un consensus dans tous les cas.

### *Analyse voxel à voxel des TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF*

Les images de BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF de chaque patient ont été individuellement comparées à celles des 48 témoins en réalisant une analyse voxel à voxel avec le logiciel SPM99. Une ANCOVA a été réalisée sur les images normalisées, lissées à 8 mm et où l'âge et le sexe ont été pris en compte comme variables de non intérêt. Les deux contrastes (témoins – patient et patient – témoins) ont été étudiés à un seuil statistique de  $p < 0,001$ , non corrigé au niveau du voxel et avec un seuil de 100 voxels au niveau du cluster.

*Etude de la corrélation entre l'activité critique enregistrée en SEEG et les modifications du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF*

Pour étudier la corrélation entre modifications du BP<sub>ND</sub> et ZE, nous avons segmenté en 83 régions d'intérêt, grâce à un atlas probabiliste [Hammers, et al., 2003], l'examen TEP des 18 patients qui avaient justifié d'une exploration SEEG. Sur la base des résultats de la SEEG, les régions dans lesquelles ont été enregistrées précocement une activité rapide de bas voltage ou une décharge recrutante lors de crises d'épilepsie spontanées étaient considérées épileptogènes. Seules les 54 régions d'intérêt supra-tentorielles de l'atlas utilisé ont été prises en compte dans cette analyse.

La variation de BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF a été estimée dans chaque région d'intérêt en la comparant à la valeur moyenne obtenue dans les régions homologues chez 19 témoins de notre base. La répartition par âges et le sexe ratio étaient comparables compte tenu des modifications connues du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF liées à l'âge et au sexe [Cidis Meltzer, et al., 2001, Costes, et al. 2005].

Cette variation est exprimée en pourcentage en appliquant la formule suivante :

$$\Delta BP_{ND} = 100 \times \frac{BP_{ND} \text{ patient} - BP_{ND} \text{ témoins}}{BP_{ND} \text{ témoins}}$$

Une comparaison est ensuite effectuée par un test de Mann et Whitney entre les valeurs de  $\Delta BP_{ND}$  obtenues dans les régions épileptogènes par rapport à celles obtenues dans les régions non épileptogènes.

## *Résultats*

### **ANALYSE VISUELLE**

Le taux de concordance inter-individuelle de l'interprétation des TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF est élevé (93%) contre seulement 66% pour les TEP au [<sup>18</sup>F]FDG.

Tous les examens [<sup>18</sup>F]MPPF de témoins mélangés aux patients ont été interprétés comme normaux. Parmi les examens des patients, une anomalie significative du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF a été identifiée chez 38 d'entre eux (90%). La sensibilité résultante est équivalente dans le groupe I (90,6%) et le groupe II (90%).

Les diminutions du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF sont restreintes à la ZE pour 12 des 29 patients du groupe I présentant une anomalie de fixation, ce qui correspond à une spécificité de 40%. Dans le groupe II, la spécificité chute à 33% (anomalie restreinte à la ZE pour 3 des neuf patients de ce groupe avec une anomalie mise en évidence).

#### **ANALYSE STATISTIQUE VOXEL A VOXEL**

La sensibilité résultante de cette analyse est de 67% (28 des 42 patients présentent une diminution significative BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF). Le lobe temporal épileptogène est impliqué dans 27 cas (96%). Cette diminution est restreinte aux structures temporo-mésiales pour 14 des patients du groupe I (soit une spécificité de 58%). Dans le groupe II, cette diminution n'est jamais restreinte aux régions épileptogènes.

#### **CORRELATION ENTRE DIMINUTION DU BP<sub>ND</sub> DU [<sup>18</sup>F]MPPF ET ZONE EPILEPTOGENE**

Comparé aux régions homologues chez les témoins, il existe une diminution significative du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dans les régions épileptogènes identifiées. En revanche, les régions non impliquées dans la génération des crises ne présentent pas de différences significatives du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF avec les régions homologues des témoins.

## *Discussion*

L'analyse visuelle se révèle très sensible et supérieure à l'analyse statistique pour détecter des diminutions du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF. Cette analyse permet l'identification correcte du côté où se trouve la ZE dans 90% des cas et ce sans fausse latéralisation.

La faible spécificité de l'analyse visuelle (40%) est expliquée dans la grande majorité des cas par une extension de la diminution de la fixation du [<sup>18</sup>F]MPPF dans l'insula ipsilatérale au foyer épileptogène. Cette diminution a été visuellement retenue dans 47% des cas et ce indépendamment du sousgroupe d'ELT. Ce résultat plaide en faveur de modifications significative du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF au delà de la seule ZE et ce d'autant que certains patients présentant cette anomalie ont été opérés et guéris par une lobectomie temporale antérieure réglée. L'implication d'autres zones extra-temporales n'est en revanche visuellement jamais retenue dans cette étude. Cette constatation nous amène à reconsidérer la définition de la spécificité dans les études ultérieures. Il apparaît en effet licite, sur la foi de ce résultat, de chercher à quantifier la diminution du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF et de considérer la région d'anomalie maximale qui peut mieux refléter la localisation de la ZE.

La faible sensibilité relative de l'analyse statistique semble pouvoir être, pour part, expliquée par la grande variabilité des valeurs du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF chez les témoins [Costes, et al., 2005]. Cette grande variabilité inter-individuelle a des conséquences dans l'estimation de l'intervalle des valeurs normales du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dans un voxel. Ce grand intervalle normatif implique que la valeur mesurée dans un voxel doit être drastiquement augmentée ou diminuée pour être reconnue comme pathologique. Une façon de diminuer cette variabilité est d'analyser le rapport de BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF entre deux régions homologues en calculant un index d'asymétrie. Cette méthode a déjà été validée en utilisant des régions d'intérêt [Kang, et al., 2001], une combinaison de volumes d'intérêt et d'analyse

voxel à voxel [Hammers, et al., 2001] ou une méthode d'analyse voxel à voxel [Van Bogaert, et al., 2000].

Une diminution du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF localisée à l'hippocampe, à l'amygdale et au pôle temporal s'associe à un bon pronostic chirurgical y compris en l'absence d'atrophie hippocampique à l'IRM ou lorsque l'histoire clinique est atypique pour évoquer une EMT.

Une relation directe entre épileptogénicité du parenchyme cérébral et diminution du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF a été précédemment établie [Merlet, et al., 2004a] tout comme l'existence d'une diminution significative du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dans les régions épileptogènes comparées à des régions homologues chez des témoins [Merlet, et al., 2004b]. Nous montrons dans cette étude que cette relation est valable pour chaque structure anatomique concernée par la ZE.

## PET imaging of brain 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the preoperative evaluation of temporal lobe epilepsy

Adrien Didelot,<sup>1,2,3,4</sup> Philippe Ryvlin,<sup>1,2,4,5,6,7</sup> Amélie Lothe,<sup>4,6</sup> Isabelle Merlet,<sup>8,9</sup>  
Alexander Hammers<sup>10</sup> and François Mauguière<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Hospices Civils de Lyon, Service de Neurologie Fonctionnelle et d'Épileptologie, Hôpital Pierre Wertheimer, Boulevard Pinel, Lyon F-69003, <sup>2</sup>Université Lyon I, Lyon F-69003, <sup>3</sup>INSERM, U879, Lyon F-69003, <sup>4</sup>Institut Fédératif des Neurosciences de Lyon, Lyon F-69003, <sup>5</sup>CERMEP, Lyon F-69003, <sup>6</sup>INSERM U821, <sup>7</sup>CTRS-INSERM IDEE, Lyon F-69003, <sup>8</sup>INSERM U642, Rennes F-35042, <sup>9</sup>Université de Rennes I, LTSI, Rennes F-35042, France and <sup>10</sup>MRC Clinical Sciences Centre and Division of Neuroscience, Faculty of Medicine, Imperial College, Hammersmith Hospital, DuCane Road, London, UK

Correspondence to: François Mauguière, Functional Neurology and Epilepsy Department, Hôpital Pierre Wertheimer, 59, Boulevard Pinel, Lyon F-69003, France  
E-mail: mauguiere@univ-lyon1.fr

[<sup>18</sup>F]MPPF PET has previously been used to identify the epileptic lobe in temporal lobe epilepsy (TLE) patients at the group level. This study aims to validate the visual analysis of [<sup>18</sup>F]MPPF PET in the assessment of individual TLE patients for their suitability to undergo temporal lobe resection. Forty-two patients suffering from TLE and 18 control subjects matched for age and gender were prospectively enrolled for [<sup>18</sup>F]MPPF PET. Four subtypes were defined according to the presurgical evaluation: mesio-TLE (MTLE, 32 patients), temporal neocortical epilepsy (NC, five patients), temporo-perisylvian epilepsy (T+, three patients) and temporal epilepsy without further information (t, two patients). Parametric binding potential (BP<sub>ND</sub>) images were obtained using a simplified reference tissue model. Three examiners, who were blinded to other data, visually interpreted each scan and delineated areas of decreased [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub>. Statistical parametric mapping (SPM) analysis of MPPF BP<sub>ND</sub> images was also performed. Visual analysis showed a low rate of disagreement between the three examiners (7%). PET scans were considered normal in four patients (9.5%). In the remaining 38 patients (90.5%), areas of focal BP<sub>ND</sub> decrease were identified. A specific pattern was encountered in the MTLE subgroup, consisting of a BP<sub>ND</sub> decrease involving hippocampus, amygdala and temporal pole altogether. Combining the results from the presurgical investigations and the surgical outcome, we estimated that the area of BP<sub>ND</sub> decrease coincided with the epileptogenic zone in 40% of patients in the MTLE subgroup and 33% in the other TLE subtypes. This relatively low precision was due to 47% of patients who showed BP<sub>ND</sub> decreases in the insula ipsilateral to the epileptogenic lobe. The SPM analysis had much lower sensitivity (67%) to detect BP<sub>ND</sub> decreases in the epileptogenic temporal lobe, but revealed areas of increased BP<sub>ND</sub> outside the epileptogenic zone and bitemporal BP<sub>ND</sub> decreases of undetermined clinical significance, which were undetectable by visual analysis, in 29% of patients. In conclusion, visual analysis of [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> images helps in the correct identification of the epileptogenic temporal lobe in all patients showing BP<sub>ND</sub> decreases, with a false negative rate inferior to 10% and no false positives in control subjects. All TLE patients with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> decreases involving hippocampus, amygdala and temporal pole together, with or without extension to the ipsilateral insula, were good candidates for anterior temporal lobectomy. All these patients became seizure free after surgery, even when the clinical presentation was not that of a typical MTLE, or when MRI failed to detect hippocampal atrophy.

**Keywords:** temporal lobe epilepsy; brain 5-HT<sub>1A</sub> receptors; serotonin; [<sup>18</sup>F]MPPF PET; presurgical evaluation

**Abbreviations:** BP<sub>ND</sub> = binding potential; EZ = epileptogenic zone; FDG = [<sup>18</sup>F]deoxyglucose; MTLE = mesio-temporal lobe epilepsy; NC = Temporal neocortex; SPM = Statistical parametric mapping; TLE = temporal lobe epilepsy; PVE = Partial volume effect; 5-HT<sub>1A</sub> = 5-hydroxytryptamine-1A

Received April 3, 2008. Revised June 25, 2008. Accepted August 21, 2008. Advance Access publication September 12, 2008

## Introduction

Temporal lobe epilepsies (TLEs) represent the majority of drug-resistant partial epilepsies that are eligible for surgical treatment consisting of the removal of the epileptogenic zone (EZ), i.e. the area of brain necessary and sufficient to initiate seizures (Engel, 1993). There is no 'gold standard' criterion for delineating the cortical area to be resected for controlling seizures so that preoperative evaluation is based on convergence of data obtained through the various non-invasive and invasive investigations that are available in each epilepsy centre (Rosenow and Luders, 2001). Thus, according to series published by the different epilepsy centres, between 7% and 50% of patients are not seizure free after surgery (Sindou *et al.*, 2006), indicating a failure to remove or disconnect the EZ completely.

Among non-invasive presurgical investigations, <sup>18</sup>Fdeoxyglucose (FDG) PET is useful to evaluate the extent of the interictal functional deficit (Mauguière, 2004) and to predict the surgical outcome of temporal lobectomy in TLE (Gambhir *et al.*, 2001). However, FDG PET has a low specificity regarding the extent of the EZ. Various radioligands of opiate, GABA-A, histamine, muscarinic and N-methyl-D-aspartate receptors have been developed to map binding changes that might be directly related to epileptogenicity (for a review, see Mauguière, 2004). Recent PET studies using various radioligands of 5-hydroxytryptamine-1A (5-HT<sub>1A</sub>) receptors showed a decrease in 5-HT<sub>1A</sub> receptor density on the side of the epileptogenic temporal lobe (Toczek *et al.*, 2003). In TLE patients, this decrease is significantly greater, at a group level, in regions involved in the intracerebral discharge onset than in regions where only interictal paroxysms are recorded by depth-EEG (Merlet *et al.*, 2004a). In patients showing mesiotemporal discharges on depth-EEG ictal recordings, this decrease is mostly located in mesiotemporal areas and in the temporal pole (Merlet *et al.*, 2004b).

5-HT<sub>1A</sub> receptors have a preferential cortical distribution in the limbic cortex, especially in mesiotemporal regions. Several preclinical studies provided some evidence for an anticonvulsant and antiepileptic effect of serotonin mediated by 5-HT<sub>1A</sub> receptors. Serotonin binding to 5-HT<sub>1A</sub> receptors causes neuronal hyperpolarization through the G-protein-coupled opening of K<sup>+</sup> channels (Andrade and Nicoll, 1987; Beck and Choi, 1991; Okuhara and Beck, 1994). An excitatory/inhibitory imbalance mediated by changes in serotonergic transmission thus represents one of the plausible mechanisms of neuronal hyperexcitability in TLE.

However, hitherto available studies supporting the concept that areas with decreased 5-HT<sub>1A</sub> receptors could coincide with those showing interictal spikes or ictal discharges are based on group analysis or region of interest delineation, so that the reliability of 5-HT<sub>1A</sub> receptors PET studies for mapping the EZ in individual patients remains unknown. In this PET study, we used an <sup>18</sup>F-labelled

antagonist of 5-HT<sub>1A</sub> receptors, 4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2-pirydynyl)-p-fluorobenzamido]-ethyl-piperazine (MPPF), which has an affinity close to that of endogenous serotonin (Costes *et al.*, 2005), to estimate the binding potential of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in TLE patients. Patients were prospectively enrolled to undergo MPPF PET during presurgical evaluation of their epilepsy with the objectives:

- (1) To assess the sensitivity of MPPF PET visual analysis in the routine non-invasive preoperative evaluation of TLE.
- (2) To compare visual analysis and voxel-based statistical SPM analysis of individual PET data.
- (3) To assess the specificity of areas showing a visually detectable decrease of MPPF binding in terms of overlap with the epileptogenic area.

## Methods

### Patients

Forty-two fully informed consecutive patients (21 males and 21 females) were included from 2001 to 2004. Inclusion criteria were the following: (i) a clinically documented history of drug resistant TLE; (ii) Scalp video-EEG recordings of at least three spontaneous seizures associated with ictal discharges in the temporal regions; (iii) brain MRI performed in the year preceding inclusion.

Patients under medication interacting with the serotonergic transmission (serotonin reuptake inhibitors) were excluded.

### MRI

Brain MRI was performed using a 1.5 T Siemens Magnetom scanner (Siemens AG, Erlangen, Germany), and included the following sequences in all patients and normal subjects from the MPPF PET control database:

- 3D anatomical T<sub>1</sub>-weighted sequence (TR: 9.7 ms, TE: 4 ms) covering the whole brain volume with 1 mm<sup>3</sup> cubic voxels, providing 1-mm-thick slices in transverse, bihippocampal and coronal planes.
- Six-millimeter-thick turbo-spin echo T<sub>2</sub>-weighted sequence (TR: 2260 ms, TE: 45 and 90 ms) acquired in the bihippocampal plane.
- Turbo-spin echo T<sub>2</sub> sequence (TR: 3000 ms, TE: 16 and 98 ms yielding 3-mm-thick slices) perpendicular to the latter.

Two independent observers, who were blinded to all other data, analysed MRI scans and reached a consensus in all patients. The MRI findings are detailed in Table 2. MRI was normal in seven patients (17%); it showed isolated hippocampal atrophy ipsilateral to the epileptogenic temporal lobe in 23 (55%); bilateral hippocampal atrophy in one (2%) and a focal lesion in 11 (26%) including nine patients with a focal dysplasia (Patients 31, 32 and 36–42); and two with an atrophic lesion (temporal pole and neocortical atrophy for Patient 34 and post-traumatic atrophy for Patient 35).

### Depth stereotactic EEG recordings (video-SEEG)

Ictal and interictal intracranial video-SEEG recordings were performed in 18 patients (43%) in whom data from non-invasive

**Table 1** Clinical features of patients

Patient	TLE subtype	Sex	Age (Years)	Handed -ness	Age at 1st seizure (years)	Epilepsy duration (years)	Side of epileptogenic zone
1	MTLE	F	24	R	6	18	R
2	MTLE	F	50	R	9mo	49	R
3	MTLE	M	55	L	9	46	L
4	MTLE	F	50	L	40	10	L
5	MTLE	F	32	A	15	17	R
6	MTLE	F	44	L	33	11	R
7	MTLE	F	39	A	6 mo	38	L
8	MTLE	M	29	R	3	26	R
9	MTLE	F	61	R	6.5	54.5	R
10	MTLE	M	35	R	1	34	R
11	MTLE	M	23	A	9 mo	23	R
12	MTLE	M	46	R	28	18	L
13	MTLE	M	36	A	8 mo	35	R
14	MTLE	M	48	R	30	18	L
15	MTLE	M	20	R	3	17	R
16	MTLE	M	28	R	7	21	L
17	MTLE	F	22	R	NA	NA	B
18	MTLE	M	48	R	33	15	R
19	MTLE	M	60	R	20	40	L
20	MTLE	F	38	R	28	10	R
21	MTLE	F	28	R	4	24	R
22	MTLE	F	31	R	1.5	29.5	L
23	MTLE	M	23	R	11	12	L
24	MTLE	M	36	R	5	31	R
25	MTLE	M	40	R	10	30	R
26	MTLE	M	31	R	5	26	R
27	MTLE	M	47	R	30	17	L
28	MTLE	F	36	R	6	30	R
29	MTLE	F	35	R	16	19	L
30	MTLE	M	35	R	6	29	R
31	MTLE	M	18	L	2	16	R
32	MTLE	F	41	R	4	37	L
33	NC	M	42	R	33	9	L
34	NC	F	30	R	14	16	R
35	NC	M	32	L	16	16	R
36	NC	F	18	R	13	5	L
37	NC	F	34	R	27	7	R
38	T+	F	34	R	2.5	31.5	R
39	T+	F	18	L	6 mo	17	L
40	T+	M	38	R	29	9	L
41	t	F	17	R	NA	NA	R
42	t	F	24	R	9	15	L

NC = neocortical; T+ = temporo-perisylvian, t = temporal; F = female; M = male; R = right; L = left; A = ambidextrous; mo = months, NA = non-available; B = bilateral.

evaluation were considered not congruent enough to undertake anterior temporal lobectomy or to discard definitely the possibility of surgical treatment (Guenot *et al.*, 2001).

### FDG PET

FDG PET was performed as a routine presurgical investigation using the same device as that used for the MPPF PET study (see below) and a standard procedure described elsewhere (Ryvlin *et al.*, 1992). FDG PET was obtained in 38 of the 42 patients. FDG PET findings were integrated into the presurgical discussion

regarding the need for intracranial EEG recording and the surgical decision. However, for the purpose of the present study, FDG PET images have been anonymized and visually reanalysed in terms of focal hypometabolism by two independent examiners (P.R. and F.M.) blinded to all other data. Only areas reported by both examiners as showing glucose hypometabolism were considered for comparison with MPPF PET data. Any scan with at least one area reported as hypometabolic by only one of the two examiners was taken into account for calculating the rate of interobserver discrepant interpretations.

### [<sup>18</sup>F]MPPF PET study

Ethical Committee agreement was obtained for the [<sup>18</sup>F]MPPF PET procedure (CCPPRB, Centre Léon Berard, Lyon) in accordance with the Declaration of Helsinki. Patients were fully informed and signed a written consent form.

### Data acquisition

[<sup>18</sup>F]MPPF was obtained by nucleophilic fluorination on a nitro-precursor with a radiochemical yield of 20–25% at the end of the synthesis and a specific activity of 32–76 GBq/μmol (Le Bars *et al.*, 1998). PET scans were performed on a CTI-Siemens HR+ scanner (Knoxville, TN, USA) during the afternoon. For tracer injections, an intravenous catheter was placed in a vein of the left forearm. A thermo-formable head holder was modelled for each subject to limit head movements during acquisitions.

Before emission acquisition, a 10-min transmission scan was performed using three <sup>68</sup>Ge rod sources for the measurement of tissue and head support attenuation. After i.v. injection of a bolus of 171 ± 15 MBq [<sup>18</sup>F]MPPF, a dynamic emission scan consisting of 35 frames of increasing duration (20 s to 5 min) was acquired over 60-min post-injection. The PET scanner was operating in 3D mode. Images were corrected for scatter and attenuation, and reconstructed using a filtered back projection (Hanning filter, cut-off 0.5 cycles/pixels) to provide a 3D volume of 63 slices (2.42 mm thickness) with 128 × 128 voxels in plane (2.06 × 2.06 mm<sup>2</sup>). In the centre of the field of view, the NEMA (National Electrical Manufacturers Association) protocol measured a nominal axial resolution of 4.1 mm and a nominal transverse resolution of 4.4 mm for a <sup>18</sup>F point source reconstructed with a ramp filter (Brix *et al.*, 1997).

### Modelling

For each subject, the MRI was coregistered with mutual information criteria with the static-weighted and summed PET image to obtain a complete data set (anatomic MRI, static and dynamic PET) with common orientation and size. Parametric images of binding potential were obtained using an analytical solution for the compartment model with a simplified reference tissue model developed for [<sup>11</sup>C]WAY100635 (Gunn *et al.*, 1998) and validated for [<sup>18</sup>F]MPPF studies (Costes *et al.*, 2002).

MPPF binding potential was abbreviated BP<sub>ND</sub> (with the ND suffix indicating 'non-displaceable tissue uptake') in accordance with the recent consensus nomenclature (Innis *et al.*, 2007). This model provides three parameters (k<sub>2</sub>, R<sub>1</sub> = k<sub>1ref</sub>/k<sub>1ROI</sub> and BP<sub>ND</sub>) without the need for an arterial input function: the free and non-specific ligand kinetic is based on the time-activity curve of a reference region (i.e. cerebellum) that is devoid of specific 5-HT<sub>1A</sub> binding. Using this model, a previous study confirmed

**Table 2** MRI results, FDG PET data and surgical outcomes

Patient	TLE subtype	MRI		FDG PET		SEEG	Surgery	Engel's class	Months from surgery
		Lesion	Hippocampal sclerosis	Decreases					
				Ipsilateral	Contralateral				
1	MTLE	No	R	NC+PS+I+F	None	No	AL	1a	35
2	MTLE	No	R	H+A+P+Th	None	No	AL	1a	29
3	MTLE	No	L	H+A+P+NC	None	No	AL	1a	36
4	MTLE	No	L	H+A+P+PS+F	None	No	AL	1a	12
5	MTLE	No	R	H+A	None	No	AL	1a	26
6	MTLE	No	R	H+A+P	NC+Th	No	AL	1c	23
7	MTLE	No	L	H+A+P	None	No	AL	1a	31
8	MTLE	No	R	H+A+P+NC+I+F	None	No	AL	1a	31
9	MTLE	No	R	H+A+P	None	No	AL	1a	35
10	MTLE	No	R	H+A+P+NC+PS+I	None	No	AL	1a	48
11	MTLE	No	R	H+A+P+NC	None	No	AL	1a	10
12	MTLE	No	L	H+A+P	None	No	SC	1c	16
13	MTLE	No	R	H+A+PS+I	None	No	No		
14	MTLE	No	L	None	None	No	No		
15	MTLE	No	R	PS+I+F	None	No	No		
16	MTLE	No	L	H+A+I	None	No	No		
17	MTLE	No	No	NA	NA	Yes	No		
18	MTLE	No	No	None	None	Yes	No		
19	MTLE	No	No	H+A+P+NC+Th	None	Yes	AL	1b	12
20	MTLE	No	No	P+Th	None	Yes	AL	1a	7
21	MTLE	No	No	H+A+P+NC+I+F+Th	None	Yes	AL	1c	30
22	MTLE	D	No	NA	NA	Yes	AL	11a	17
23	MTLE	D	L	None	None	Yes	AL	11c	30
24	MTLE	No	R	PS+I+Th	None	Yes	AL	1a	18
25	MTLE	No	R	P	None	Yes	AL	1a	32
26	MTLE	No	R	H+A+P+NC+I+F	None	Yes	AL	1c	19
27	MTLE	No	L	H+A+NC	H+A+NC	Yes	T		
28	MTLE	No	R	A	None	Yes	T		
29	MTLE	No	L	P+NC	None	Yes	T		
30	MTLE	No	B	P+NC+I+Th	None	No	AL	1a	24
31	MTLE	D	No	H+A+P+NC+PS	None	No	AL	1a	21
32	MTLE	No	No	H+A+P+NC+Th	None	No	AL	1a	12
33	NC	No	No	None	None	Yes	SC	1a	17
34	NC	FA	No	H+A+P	None	Yes	SC	11	33
35	NC	FA	No	H+A+P+NC+F	None	Yes	No		
36	NC	D	No	P	None	Yes	SC	1a	36
37	NC	D	No	P	PS	No	SC	1a	29
38	T+	D	R	PS+I+F	None	No	No		
39	T+	D	No	H+A+P+NC	None	Yes	No		
40	T+	D	No	H+A+P	None	No	No		
41	t	D	No	NA	NA	No	No		
42	t	D	No	NA	NA	No	No		

D = focal dysplasia; FA = focal atrophy. Hippocampal sclerosis is considered separately from other MRI lesions. R = right; L = left; B = bilateral. Ipsilateral and contralateral FDG decreases: to the epileptogenic lobe as defined by preoperative investigations. PS = perisylvian cortex; F = frontal cortex; P = temporal pole; Th = thalamus; H = hippocampus; A = amygdala, TO = temporo-occipital junction; NA = non-available. AL = anterior temporal lobectomy, SC = selective cortectomy (see details below), T = stereotactic thermocoagulation.

that BP<sub>ND</sub> was a good index of local receptor concentration in normal subjects (Kung et al., 1996). Figure 1 illustrates a normal MPPF BP<sub>ND</sub> scan.

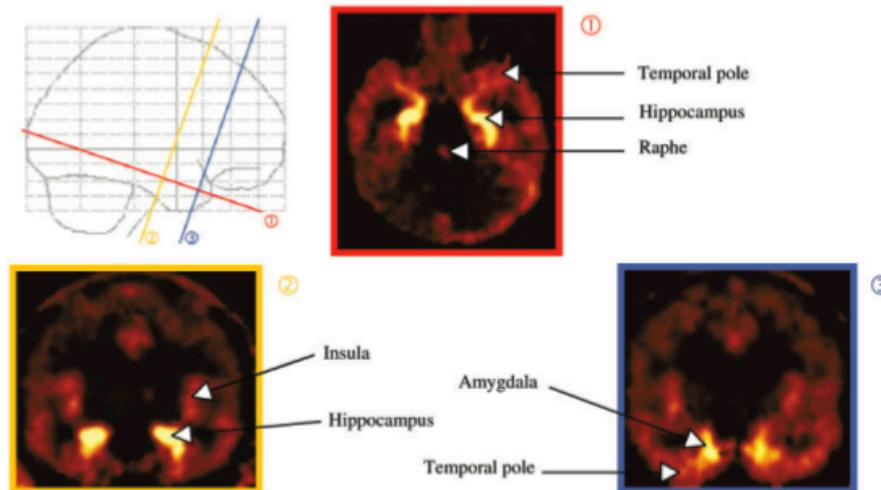
**Data preprocessing**

BP<sub>ND</sub> images were spatially normalized to a BP<sub>ND</sub> template built in MNI/ICBM152 space using SPM 99 (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Trust Center for Neuroimaging, UCL, London, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>). Normalized BP<sub>ND</sub>

images were smoothed using a 8 × 8 × 8 mm<sup>3</sup> FWHM isotropic Gaussian kernel that accommodates interindividual anatomy variability and improves the sensitivity of the statistical analysis (Ashburner and Friston, 1997).

**Control MPPF PET database**

The control database used for SPM and visual analysis consisted of MPPF BP<sub>ND</sub> scans acquired in 48 healthy drug-free volunteers [24 men aged 20–68 years (mean 40.9 years), and 24 women aged



**Fig. 1** MPPF BP<sub>ND</sub> in a control subject. Binding of MPPF mostly involved limbic structures like hippocampus, amygdala, temporal pole and insula. Note that the cerebellum shows no specific MPPF binding because of the absence of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in this structure.

19–67 years (mean 40.1 years)] without history of psychiatric or neurological illness (Costes *et al.*, 2005). BP<sub>ND</sub> images of controls were treated using the same preprocessing as for patients. Nineteen BP<sub>ND</sub> scans of control subjects matched for age and gender with the TLE patients were selected from this data base and randomly intermixed with the TLE scans for visual analysis assessment.

### Surgical procedure and outcome

Following preoperative evaluation, 35 patients (86%) were considered as eligible for epilepsy surgery and 27 have been operated upon (Table 2). Five patients (Patients 13–16 and 21) declined surgery although they were eligible, and the three remaining patients (Patients 27–29) were enrolled in a prospective study of stereotactic thermocoagulation treatment (Guenot *et al.*, 2004).

Twenty-two patients (Patients 1–11 and 22–32) underwent anterior temporal lobectomy (Williamson *et al.*, 1993). A selective amygdalo-hippocampectomy was performed for Patient 12. In the four remaining patients (Patients 33, 34, 36 and 37) the delineation of the temporal lobectomy was defined by results of the preoperative evaluation and involved basal or lateral temporal cortex (see Table 2 for further details).

With a mean follow-up of 25 months (7–48), 24 of these 27 operated patients (89%) were seizure free (Engel Class I) and the three others (11%) were classified under Engel Class II outcome.

### Epileptic syndrome: classification of patients

For the analysis of BP<sub>ND</sub> data, patients with mesio-TLE (MTLE), gathered in Group I, were separated from those without MTLE (Group II). MPPF PET results were not taken into account in this classification. MTLE patients should fulfill all the clinical, imaging and surface EEG diagnostic criteria for the MTLE syndrome (French *et al.*, 1993; Williamson *et al.*, 1993) including the following: a history of prolonged febrile seizures during childhood; first seizures in the latter half of the first decade of life; drug refractory complex partial seizures with ictal symptoms, including epigastric aura, suggesting an early involvement of mesiotemporal

cortex; history of no or rare secondarily generalized seizures; unilateral rhythmic theta ictal activity on scalp temporal electrodes occurring after the clinical onset and unilateral hippocampal sclerosis on brain MRI on the side of EEG abnormalities. Patients not presenting with all criteria of the MTLE syndrome were classified in Group I if appropriate video-SEEG provided evidence for mesiotemporal onset of their seizures. Patients seizure free after anterior temporal lobectomy were also included in Group I.

In Group II, we further considered patients in whom the diagnostic criteria of a MTLE syndrome were not fulfilled or whose seizures were shown to originate outside mesiotemporal structures by ictal video-SEEG recordings. Patients with a MRI lesion outside the mesial temporal region and a strong relation between ictal video-EEG symptoms and lesion localization were also classified under this subgroup according to ictal onset. Patients with neocortical seizure onset (NC), those with temporo-perisylvian seizure onset (T+) and those with TLE without further information (t) were subsequently distinguished within Group II.

### MPPF PET analysis

#### Visual analysis

Axial, coronal and sagittal images of BP<sub>ND</sub> of the 42 patients randomly intermixed with the 19 control scans selected from our control MPPF PET database were visually analysed. Mean age and gender distribution was similar for patient and control subgroups. A set of 61 MPPF PETs was thus obtained, in which each scan was identified by a random number. Three independent examiners, who were blinded to all other data (P.R., A.H. and F.M.), were asked to report BP<sub>ND</sub> decreases by drawing the visually abnormal area on individual charts showing a tridimensional picture of the brain where amygdala and hippocampus were delineated, or to specify if no BP<sub>ND</sub> decrease was detectable. Only BP<sub>ND</sub> decreases were analysed, because the three examiners converged on the opinion that BP<sub>ND</sub> increases were not reliably visually detectable. Scans with discrepant interpretations were taken into account for calculating the rate of interobserver discrepancies and thereafter

reinterpreted by the three examiners together to reach a consensus.

### Sensitivity of visual analysis

Patients with BP<sub>ND</sub> decrease within the EZ were defined as true positives. The EZ for each subgroup was defined as follows: hippocampus, amygdala and temporal pole in MTLE, temporal neocortex in NC, perisylvian cortex in T+ and temporal lobe in t. False negatives were defined as patients in whom BP<sub>ND</sub> decreases within the EZ were absent.

### Specificity of visual analysis

Visual analysis yielded 38/42 abnormal scans. For assessing the specificity of MPPF BP<sub>ND</sub> decreases in these 38 abnormal scans, Groups I and II were considered separately, since the extent of the EZ was different according to TLE subtypes. In Group I (MTLE), abnormal scans showing no BP<sub>ND</sub> decrease outside hippocampus, amygdala and temporal pole were considered as specific.

In Group II, the patients with a neocortical (NC) EZ and those for whom the exact localization of the EZ within the TL was uncertain (t), specific scans were those showing no extratemporal BP<sub>ND</sub> decrease. In the patients with temporo-perisylvian epilepsies (T+), scans showing no BP<sub>ND</sub> decrease outside temporal lobe, insula and fronto-parietal operculum were considered as specific. Conversely, false positive scans were those showing BP<sub>ND</sub> decrease outside the EZs as described above for each group.

### Voxel-based analysis of MPPF PET data

BP<sub>ND</sub> images of each patient were statistically compared with BP<sub>ND</sub> images of the control subjects using the linear model at each and every voxel (Friston, 1995) and SPM99.

On the normalized smoothed images, an ANCOVA (analysis of covariance) was performed, where age, gender and global BP<sub>ND</sub> were taken into account as covariates of no interest. We used a 'Full Monty' design modelling each patient and the control group as separate conditions. Statistical parametric maps of the *t*-statistic (SPM<sub>t(t)</sub>) were calculated for two contrasts per patient (controls-patient and patient-controls) with a threshold of *P* < 0.001 uncorrected at the voxel level; an extent threshold of 100 voxels (of 2 mm × 2 mm × 2 mm) was applied at the cluster level.

### Analysis of BP<sub>ND</sub> changes in relation with SEEG-recorded ictal activity

In the 18 patients who underwent SEEG exploration, we quantitatively analysed MPPF BP<sub>ND</sub> using regions of interest (ROIs) and compared data between ROIs located in and out of the EZ as defined by invasive exploration. Any ROI where SEEG showed a low voltage fast activity or a recruiting discharge during spontaneous seizures was considered as epileptogenic. Conversely, all ROIs where no ictal activity had been recorded were considered as non-epileptogenic including those unexplored by depth electrodes when clearly located outside the epileptogenic cortex.

For the comparison of BP<sub>ND</sub> in anatomical ROIs, we used a frequency-based anatomical atlas (Hammers et al., 2003) based on manual delineation in 30 young adults of 83 regions (Gousias et al., 2008) concatenated into a maximum probability atlas in MNI/ICBM152 space. Time-activity curves were automatically extracted in each ROI permitting calculation of *k*<sub>1</sub>, *k*<sub>2</sub> and BP<sub>ND</sub>.

Regional BP<sub>ND</sub> values were used for statistical analysis. Only supratentorial cortical ROIs were considered for quantitative analysis (*N* = 54). To statistically assess regional changes of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding, patients' BP<sub>ND</sub> data were compared with those measured in the 19 subjects of our database of 48 controls, who were in the same age range as patients. Regional BP<sub>ND</sub> values in male and female patients were assessed using the gender-matched subgroup of control subjects (12 males, 7 females). The mean age was identical for controls and patients of the same gender. As previous studies have shown age-related changes and gender-specific differences (Cidis et al., 2001; Costes et al., 2005), gender and age were thus taken into account.

For each ROI, individual regional BP<sub>ND</sub> changes in patients were calculated as a percentage of the mean BP<sub>ND</sub> value measured in the same region in the control group. This percentage ( $\Delta$ BP<sub>ND</sub>) was calculated using the following formula:

$$\Delta\text{BP}_{\text{ND}} = 100 \times \frac{\text{BP}_{\text{ND}} \text{ patient} - \text{BP}_{\text{ND}} \text{ control}}{\text{BP}_{\text{ND}} \text{ control}}$$

The  $\Delta$ BP<sub>ND</sub> is nil when BP<sub>ND</sub> values are identical in patients and controls, negative for binding decrease and positive for binding increase in patients versus control subjects.

$\Delta$ BP<sub>ND</sub> in epileptogenic and non-epileptogenic regions were then compared using the Mann-Whitney test ('R' software: Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>). Firstly, we performed a global analysis on all cortical ROIs (Fig. 3A): for each of the 18 patients, a mean global BP<sub>ND</sub> was calculated for pooled ROIs, where ictal activities were recorded. This BP<sub>ND</sub> was then compared with that measured within homologous regions of control subjects. The same procedure was performed for non-epileptogenic ROIs in patients and homologous ROIs in controls. We subsequently calculated  $\Delta$ BP<sub>ND</sub> for epileptogenic and non-epileptogenic ROIs.

Secondly, a regionally specific analysis was performed in the seven anatomical areas most often involved in SEEG ictal discharges. In this analysis, the  $\Delta$ BP<sub>ND</sub> values were pooled together in each epileptogenic region and compared with the pooled values of  $\Delta$ BP<sub>ND</sub> in the homologous non-epileptogenic region.

## Results

### Clinical features

The forty-two patients, whose clinical features, MRI data and surgical outcomes are given in Tables 1–3, were aged from 18 to 61 years (mean 35.4 years). The mean epilepsy duration was 21 years ( $\sigma$  = 9.5). Seven of the 34 patients, where data were available (21%), all with MTLE (Group I), had a Beck Depression Inventory (BDI II) score higher than 14 and may thus be considered as presenting depressive symptoms.

### Group I consisted of 32 patients (Patients 1–32; 76%) suffering from MTLE:

- Patients 1–16 fulfilled all criteria described above and showed temporal hypometabolism on FDG PET. This was ipsilateral to the ictal and interictal EEG

abnormalities and to the hippocampal atrophy. All these patients were thus considered eligible for temporal lobectomy without undergoing video-SEEG. Anterior temporal lobectomy was performed in Patients 1–11, and Patient 12 underwent selective amygdalo-hippocampectomy. All were Engel Class I after a mean follow-up of 20 (10–48 months). Four (Patients 13–16) declined surgery.

- Thirteen other patients (Patients 17–29) were included in this MTLE group on the basis of data from the video-SEEG exploration of mesial, polar and lateral temporal cortex. A mesiotemporal origin of seizures was demonstrated, although none of them presented with all criteria of the MTLE syndrome as detailed above. In five patients (Patients 17–21), brain MRI was normal. Patients 22 and 23 had a focal dysplasia located within the hippocampus. The six remaining patients (Patients 24–29) had lateralized hippocampal atrophy on brain MRI but atypical clinical history and/or ictal surface video-EEG semiology. Surgery was not indicated for Patient 17 because of the bilateral onset of her mesiotemporal seizures proved by SEEG, and Patient 18 declined surgery. Eight patients (Patients 19–26) underwent anterior temporal lobectomy. Six patients (75%) were seizure free (Engel Class I) and two (Patients 25 and 27) were Engel Class II with a mean post-surgical follow-up of 21 months (7–32 months). Patients 27–29 were not operated upon despite eligibility, because they volunteered to enter a study of stereotactic thermo-coagulation treatment at the end of the video-SEEG recording procedure.
- Patients 30–32 were included in the MTLE group, because they presented clinically as a MTLE, but with atypical MRI findings (bilateral hippocampal sclerosis in Case 30, mesiotemporal dysplasia in Case 31 and normal MRI in Case 32). None of them underwent video-SEEG monitoring before surgery. They are all seizure free (Engel's Class Ia) after anterior temporal lobectomy.

#### *Group II consisted of 10 TLE patients:*

- Five patients (Patients 33–37) were classified under neocortical TLE (NC). In all of them, scalp ictal video-EEG recordings showed low-voltage discharges under temporal electrodes at the very onset of their seizures. Three of them (Patients 33, 34 and 36) reported ictal onset symptoms such as auditory hallucinations, vertigo or early aphasia suggestive of a seizure onset outside mesiotemporal areas and none reported epigastric auras at the beginning of their seizure. MRI was normal in one patient (Patient 33) and showed atrophy of the temporal pole and lateral neocortex in two (Patients 34 and 35) and lateral temporal dysplasia in two (Patients 36 and 37). Ictal video-SEEG recordings confirmed seizure onsets in the lateral temporal neocortex in four of

them (Patients 33–36), of whom three were operated. Patient 33 underwent an amygdalotomy associated with temporo-polar, entorhinal area and T5 anterior cortectomy. Anterior lobectomy including right T1–T4, 4 cm from the pole, was performed for Patient 34, and Patient 36 underwent temporo-basal lobectomy including, from the temporal pole, 2 cm of T1, 4 cm of T2 and 8 cm of T3 and T4. Two have a Class Ia (Patients 33 and 36), and one a Class II outcome (Patient 34), 17–36 months after surgery.

The fifth patient (Patient 37) with a temporal dysplasia involving basal and lateral temporal cortex was seizure free (Engel Class Ia) 29 months after lesionectomy including the mid-third of anterior T2 and two-thirds of anterior T3. Invasive exploration was not felt to be necessary for this patient because of the strong relationship between ictal video-EEG symptoms and localization of the dysplasia.

- Three patients (Patients 38–40) with a focal cortical dysplasia were classified as temporo-perisylvian epilepsies (T+) on the basis of video-SEEG or video-EEG data showing an early implication of frontal, parietal or temporal opercular cortex in their seizures. None of these patients was considered eligible for surgery after preoperative evaluation.
- The two remaining patients (Patients 41 and 42) were classified as TLE without further information (t). In both, MRI showed a large dysplasia of the temporal cortex. Precise delineation of structures involved in seizures would have required a video-SEEG exploration that the two patients declined, so that surgery could not be offered to them.

#### **FDG PET data**

Results of FDG PET visual analysis for the 38 patients in whom FDG PET was performed are given in Table 2. Interobserver discrepancies occurred in 13 scans (i.e. 34%). FDG PET was considered normal in four patients (Patients 14, 18, 23 and 33), while two other patients only demonstrated hypometabolism outside the epileptogenic temporal lobe (Patients 15 and 24). Overall, 32 out of 38 patients showed FDG PET abnormality within their epileptogenic temporal lobe providing a sensitivity of 84%. However, three of these patients had bilateral focal areas of hypometabolism (Patients 6, 27 and 37). Seven of the MTLE patients had a focal hypometabolism restricted to mesiotemporal structures. Extratemporal hypometabolism was reported in 13 patients and mostly involved the insula (11 patients) and the frontal lobe (eight patients).

#### **MPPF PET visual analysis**

Table 3 summarizes the results of the MPPF PET visual analysis. Discrepant initial PET data interpretations between the three examiners occurred for only three of the 42

**Table 3** Results of visual and statistical analysis ( $p < 0.001$ , cluster threshold:  $k = 100$  voxels)

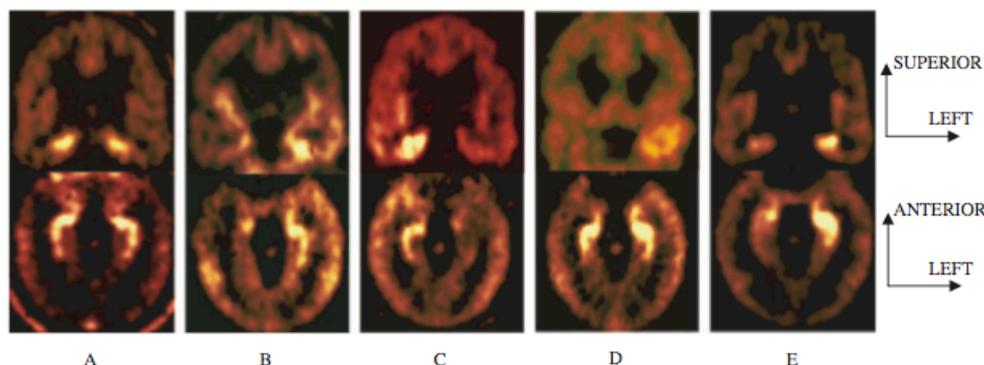
Patient	TLE subtype	Visual analysis of MPPF BP <sub>ND</sub>		Statistical analysis of MPPF BP <sub>ND</sub>			
		Decreases ipsilateral		Decreases		Increases	
				Ipsilateral	Contralateral	Ipsilateral	Contralateral
1	MTLE	H+A		None	None	F	None
2	MTLE	H+A+P		H	None	None	None
3	MTLE	H+P+NC		H+P	None	None	None
4	MTLE	H+A+P		None	None	None	None
5	MTLE	H+A		None	None	None	None
6	MTLE	H+A+P		P+NC+FP	FP	None	None
7	MTLE	H+A+P+I		H+A+P	None	None	P
8	MTLE	H+A+P+NC		H+P	None	None	TO
9	MTLE	H+A+P		None	None	None	None
10	MTLE	H+A+P+NC		H+A	None	None	None
11	MTLE	H+A+P+I		P	None	None	None
12	MTLE	H		TL+PO+PL	TP+PO+PL	None	None
13	MTLE	H+A+P+I		None	None	F	None
14	MTLE	H+A		None	None	None	None
15	MTLE	H+A+NC+I		I	None	None	None
16	MTLE	H+A+P+NC+I		None	None	None	None
17	MTLE	H+A+P+I		P (left only)	None	TO	None
18	MTLE	None		None	P	None	None
19	MTLE	None		None	None	None	None
20	MTLE	H+A		None	None	None	None
21	MTLE	P+I		H	None	None	None
22	MTLE	H+A		PS+FP	TL+FP	None	None
23	MTLE	H+I		None	None	P	F
24	MTLE	H+A+P		P	None	FP	None
25	MTLE	H		TL	None	None	None
26	MTLE	H+A+P+NC+I		P+PL	None	None	FP
27	MTLE	None		P	None	None	None
28	MTLE	H+A+P+I		H	None	None	None
29	MTLE	H+A+P+NC		H	None	None	FP
30	MTLE	H+A+P+NC		P+NC	None	None	None
31	MTLE	H+A+P+I		H	None	None	None
32	MTLE	H+A+P+I		H+P	None	None	None
33	NC	None		P	None	None	None
34	NC	A+P+NC+I		P	None	None	None
35	NC	H+A+P+NC		TL+PS	None	None	None
36	NC	H+A+P+NC+I		None	None	None	None
37	NC	H+P+I		None	None	None	None
38	T+	H+PA		A	P	P	None
39	T+	H+A+P+NC+I		None	None	None	TO
40	T+	A+P		None	None	None	F
41	t	H+A+P+I		H	None	None	None
42	t	H+A+P+NC+I		P	None	None	FO

MTLE = mesial temporal lobe epilepsy; NC = neocortical; T+ = temporo-perisylvian; t = unspecified TLE; Ipsilateral/contralateral: to the epileptogenic lobe as defined by the preoperative investigations. TP = temporal pole; H = hippocampus; F = frontal cortex; FP = frontal pole; TL = temporal lobe; PO = parietal opercular; PL = parietal lobe; NC = temporal neocortex; TO = temporo-occipital junction; I = insula; PS = peri-sylvian cortex; FO = frontal opercular. A = BP<sub>ND</sub> decrease in amygdala contralateral to the epileptogenic zone (patient 38).

patients (7%). Only structures neighbouring the epileptic hippocampus were concerned by these discrepancies. No interexaminer mismatch was observed for side or lobe identification. Furthermore, none of the 19 randomly intermixed control scans were considered as showing a focal decrease of MPPF binding by any of the three examiners, so that interpretations were fully converging for 58 of 61 (95%) PET images. This low percentage of divergences reflects the observation by the three examiners

that decreases of MPPF binding (BP<sub>ND</sub>) were usually unequivocal on visual analysis.

Thirty-eight of the 42 patients' scans were abnormal on blinded visual analysis. BP<sub>ND</sub> decreases involved the epileptogenic lobe and ipsilateral mesiotemporal structures in all 38 abnormal scans, i.e. there were no false lateralization on visual analysis. Hippocampus (35/38, 92%), amygdala (32/38, 84%) and temporal pole (29/38, 76%) were the structures most often involved (Fig. 2).



**Fig. 2** Main patterns of MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases. A coronal slice and a slice parallel to the hippocampal long axis illustrate each case. (A) Patient with MPPF scan considered normal. (B) MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases involving right hippocampus, amygdala and temporal pole (H + A + P). (C) MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases within left hippocampus, amygdala, temporal pole and insula (H + A + P + I). (D) MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease restricted to the right amygdala and temporal pole (A + P). (E) MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases located within the right hippocampus (H).

In 24 of 38 (63%) patients with MPPF PET abnormalities (63%), the area of decreased  $\text{BP}_{\text{ND}}$  spread beyond the mesial temporal region and involved lateral temporal, insular or perisylvian cortical areas. In particular, a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease within the insula was observed in 18 of the 38 abnormal scans (47%).

In Group I (MTLE), seven of the 32 scans (22%) showed a BP decrease limited to mesiotemporal structures (amygdala and/or hippocampus). In addition to mesiotemporal structures, the  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease also spread ipsilaterally to the temporal pole in five patients (16%), to the temporal neocortex beyond the temporal pole in five (16%) and to the insular cortex in twelve (37%). The three remaining patients had no decrease of  $\text{BP}_{\text{ND}}$ .

In Group II, no patient showed a BP decrease restricted to mesiotemporal structures (amygdala, hippocampus or both), and none but one patient (Patient 40) showed a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease that involved strictly the amygdala and the temporal pole. In temporal epilepsies classified as 'neocortical' (NC), one patient showed no  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease (Patient 33). The four others showed a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease in the hippocampus and/or amygdala and in the temporal pole that also involved the lateral temporal neocortex (Patients 34–36), and/or the insula (Patients 34, 36 and 37). In two of the three patients classified as temporo-perisylvian epilepsies (T+), there was a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease outside the epileptogenic temporal lobe either in the ipsilateral insula (Patient 39) or opposite to it in contralateral amygdala (Patient 38). The third patient of this subgroup (Patient 40) had a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease restricted to amygdala and temporal pole on the epileptogenic side. Both patients (Patients 41 and 42) in whom the location of the EZ was uncertain (t) showed large  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases in the epileptogenic temporal lobe, spreading to the ipsilateral insula.

#### Sensitivity of visual analysis

PET scans were considered normal in four of 42 patients (9.5%) and lateralized focal decreases of  $\text{BP}_{\text{ND}}$  were visually

identified in the epileptogenic temporal lobe of 38/42 patients. Thus, the global sensitivity was of 90.5%. Sensitivity was similar in Group I (29/32 patients; 90.6%) and Group II (9/10 patients; 90%). The scan of Patient 17 with bilateral MTLE and a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease on left side only was considered twice in this calculation as truly positive on the left side and falsely negative on the right side.

#### Specificity of visual analysis

**Specificity of the presence of visually identified decreases of MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$ .** None of the 19 healthy controls were incorrectly identified as showing MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases; therefore, visually identified decreases were 100% specific for an epileptogenic temporal lobe.

**Specificity of the extent of visually identified decreases of MPPF  $\text{BP}_{\text{ND}}$  for indicating the exact extent of the EZ.** According to our conservative criteria, only 12 of the 29 abnormal MPPF scans in the MTLE group showed a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease restricted to mesiotemporal structures and temporal pole, thus leading to a specificity of 40%. The scan of Patient 17 with bilateral MTLE was classified as a false positive, since it showed a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease spreading to the insula on the abnormal side. The 17 scans classified as false positive showed ipsilateral extension of  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease to the insula in nine patients, to lateral temporal cortex in five and to both of these areas in three.

In Group II, the specificity of MPPF PET abnormalities was lower (33%), since only three of the nine patients with abnormal scan had a  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease limited to the EZ. As for Group I, there was a major impact of the low specificity of insular  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases, which were the only false positive data in five patients.

#### MPPF PET SPM analysis

Results of the SPM analysis are given in Table 3. Thirty-three patients (79%) showed  $\text{BP}_{\text{ND}}$  abnormalities. Most of them were  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases (28/33, 85%), but 12/33 (36%)

showed BP<sub>ND</sub> increases. In all patients showing at least one or several areas of BP<sub>ND</sub> decrease, the epileptogenic temporal lobe was involved except for Patient 15 in whom only the ipsilateral insula showed a decrease; however, in four, both temporal lobes were involved (4/28, 14%). BP<sub>ND</sub> increases could be ipsilateral or contralateral to the epileptogenic temporal lobe (four and seven patients, respectively) and were bilateral in one (Patient 27), but they never involved the EZ, although they could be located in its vicinity. In terms of BP<sub>ND</sub> decrease, the sensitivity of SPM analysis was only 67% (28/42) when evaluated with the same criteria as for visual analysis.

### BP<sub>ND</sub> changes in relation with SEEG-recorded ictal activity

As illustrated in Fig. 3, the  $\Delta$ BP<sub>ND</sub> values were consistently negative indicating reduced BP<sub>ND</sub> in the SEEG-delineated epileptogenic regions, but not in non-epileptogenic regions (Fig. 3A), compared to controls. Furthermore, when compared with contralateral homotopic non-epileptogenic regions, these abnormalities were highly significant in most epileptogenic regions including hippocampus (Fig. 3B), amygdala (Fig. 3C), temporal pole (Fig. 3D), parahippocampal gyrus (Fig. 3E) and insula (Fig. 3H). Significance level was not reached in superior and middle temporal gyri (Fig. 3F and G) primarily due to higher SD/mean ratios (coefficients of variation, CV, expressed as a percentage) in these two areas (CV = 27.6 and 24.7%, respectively) compared with other anatomical structures (hippocampus, CV = 18.9%; amygdala, CV = 16.5%; temporal pole, CV = 15.3%; parahippocampal gyrus, CV = 10.9%; insula, CV = 17.6%).

## Discussion

### Methodological issues

Before addressing the questions of MPPF PET sensitivity, specificity and clinical relevance in the presurgical assessment of TLE patients, several issues regarding data analysis and interpretation deserve some comments.

### Partial volume effect

Partial volume effect (PVE) certainly had an impact on the evaluation of hippocampal BP<sub>ND</sub> in the majority of our patients who showed hippocampal atrophy in the epileptogenic temporal lobe (25/42; 60%). There is no doubt that visual analysis cannot make the distinction between BP<sub>ND</sub> decreases according to whether they reflect reduced receptor density or volume loss; the same limitation applies to atrophic regions in the ROI analysis and voxel-by-voxel analysis. However, the visual analysis did show hippocampal BP<sub>ND</sub> decreases in 11 of our 17 patients (65%) without hippocampal atrophy. Using the <sup>18</sup>F-radioligand FCWAY for mapping 5-HT<sub>1A</sub> receptor density, Giovacchini *et al.* (2005) showed that BP decreases in mesial temporal structures and insula measured by ROI analysis remain

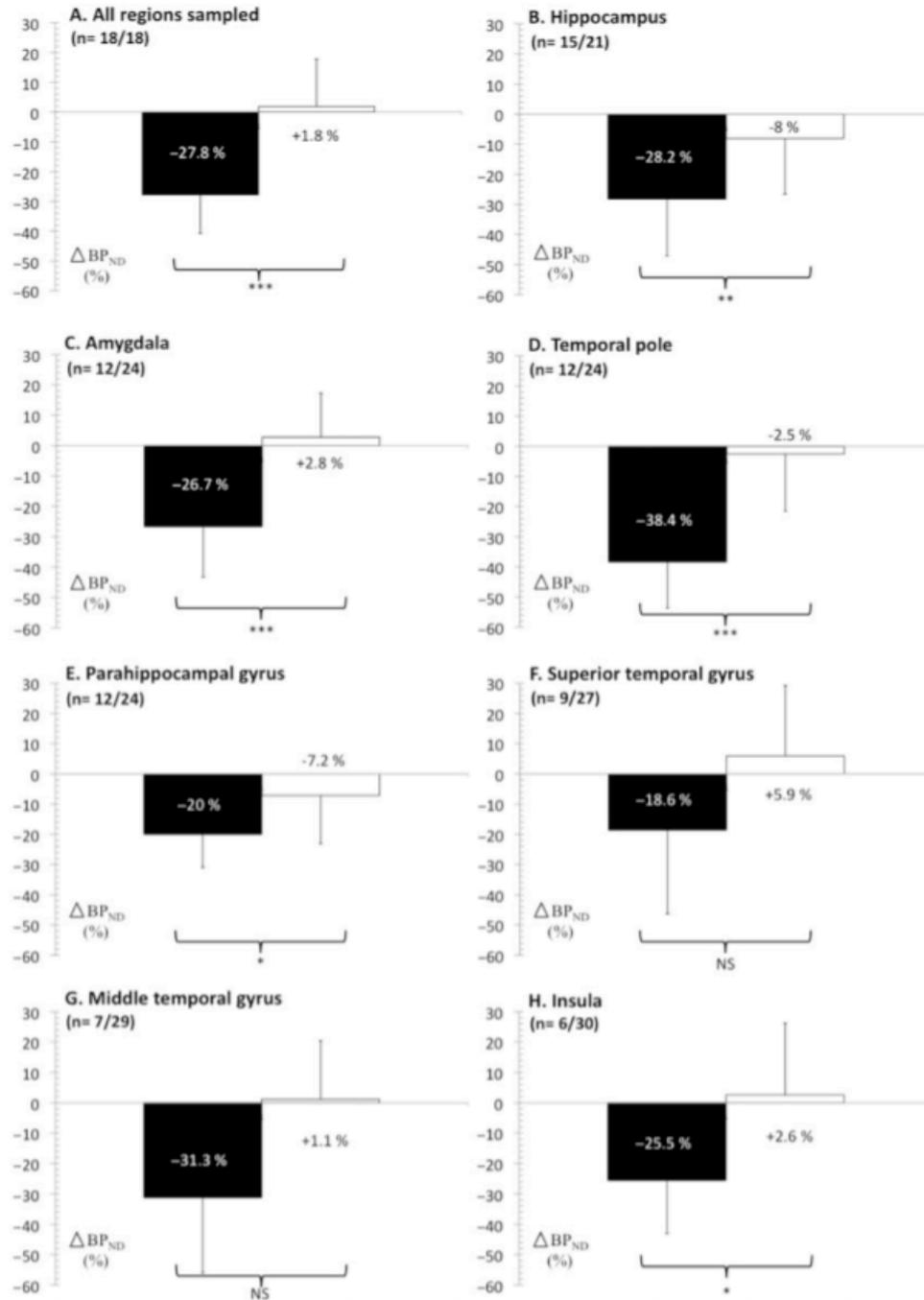
significant after PVE correction in TLE patients. More generally, the clinical relevance of PVE correction is questionable in our study design that aimed to assess the diagnostic value of MPPF PET visual analysis in individual patients. PVE may fully explain our findings in only two of our patients (Patients 12 and 28) with hippocampal atrophy whose area of BP<sub>ND</sub> decrease was restricted to hippocampus, whereas in 95% of patients with abnormal MPPF scans (36/38), the BP<sub>ND</sub> decreases were seen outside the hippocampus as well; the same argument holds for non-atrophic epileptogenic regions in ROI analysis.

### Interaction between epilepsy and depression

Previous studies of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in TLE have reported correlation between PET findings and depressive symptoms. A significant inverse relation between the Montgomery Asberg Depression rating scale and 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding was reported by (Savic *et al.*, 2004), in the anterior cingulate gyrus ipsilateral to seizure focus using [<sup>11</sup>C]WAY100635. An inverse relation between BDI scores and 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in the hippocampus ipsilateral to seizure focus was reported with [<sup>18</sup>F]FCWAY (Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). In a parallel study including 24 of the 32 patients of the present series, we have demonstrated a positive correlation between depressive symptoms, as measured with BDI II, and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the left insula and the raphe nuclei. We also observed a positive correlation between the intensity of the somatic symptoms of depression and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> within the epileptogenic and atrophic hippocampus (Lothe *et al.*, 2008). The opposite direction of the correlation observed with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> as compared with the [<sup>18</sup>F]FCWAY might reflect their different affinities for 5-HT<sub>1A</sub> receptors, whereby only [<sup>18</sup>F]MPPF can be displaced by endogenous serotonin. In any event, these findings indicate that depression is unlikely to account for the decreased BP<sub>ND</sub> observed in our patients.

### BP<sub>ND</sub> changes in relation to SEEG-recorded ictal activity

Quantitative analysis of BP<sub>ND</sub> using ROIs confirmed two of our previous findings regarding the relation between decreased 5-HT<sub>1A</sub> receptors binding and epileptogenicity. Firstly, the BP<sub>ND</sub> was reduced in areas showing ictal activity on SEEG recordings when compared with homologue cortical regions in controls (Merlet *et al.*, 2004b). Secondly, this decrease was significant when comparing epileptogenic versus non-epileptogenic regions in patients (Merlet *et al.*, 2004a). In addition, we showed that BP<sub>ND</sub> decrease also correlated with ictal activity for individual anatomical structures individually studied. Superior and middle temporal gyri did not show significant correlation of reduced BP<sub>ND</sub> with ictal activity because of large SD values for these structures. However, the  $\Delta$ BP<sub>ND</sub> decrease



**Fig. 3**  $BP_{ND}$  changes in relation with SEEG-recorded ictal activity. Anatomical areas were defined with a frequency-based atlas (see text for details) and have been classified as epileptogenic (filled bars) or non-epileptogenic (open bars) ROIs.  $BP_{ND}$  in patients was compared with the corresponding values in 19 controls, matched for gender (e.g. a  $BP_{ND}$  in the hippocampus in a male patient was compared against the  $BP_{ND}$  values in all hippocampi in all male controls). Numbers of ROIs differ by region as a function of frequency with which they were sampled.  $\Delta BP_{ND}$ : % of  $BP_{ND}$  decrease or increase compared with gender-matched control groups.  $n$  = number of epileptogenic ROIs/ number of non-epileptogenic ROIs for each comparison. Error bars represent the SD. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.005$ , \*\*\* $P < 0.0001$ , NS: not significant.

measured within superior temporal gyrus was close to significance level ( $P=0.08$ ).

### Sensitivity of MPPF PET

#### Visual analysis

This study shows that, in individual TLE patients, visual analysis of MPPF PET data, blinded to clinical information and data from other presurgical investigations, permits to identify the epileptogenic lobe with a sensitivity of 90%. Interobserver disagreement was very low at 7%; note that the disagreement was about extent of abnormalities but never about lateralization. No sophisticated or time-consuming procedures are required to derive  $BP_{ND}$  images, and visual analysis proved usable in clinical practice for preoperative evaluation of TLE patients. The side of the epileptogenic temporal lobe could be accurately identified in 38 of the 42 patients (90%), even in those without hippocampal sclerosis. MPPF  $BP_{ND}$  decreases involving hippocampus, amygdala and temporal pole together were observed exclusively in MTLE patients, in agreement with our previous finding that, at a group level, these three areas were showing  $BP_{ND}$  decrease on statistical parametric analysis in MTLE patients with hippocampal atrophy (Merlet *et al.*, 2004b). No false seizure focus lateralization was seen on MPPF PET images, as has been described with  $B_{max}$  images derived from [<sup>11</sup>C]flumazenil PET (Bouvard *et al.*, 2005).

In contrast to statistical SPM analysis, visual analysis is limited by the difficulty to identify regions with increased binding areas, which were often located in the hemisphere opposite to the epileptogenic temporal lobe (see below).

#### SPM analysis

Statistical analysis is a more objective way for identifying areas of abnormal MPPF  $BP_{ND}$ . However, the sensitivity of SPM analysis of individual MPPF PET data in terms of  $BP_{ND}$  decrease proved lower than that of visual analysis. SPM analysis with the standard settings used in our analysis may thus identify the epileptogenic lobe but is seriously lacking sensitivity, since no 5-HT<sub>1A</sub> receptor-binding decreases were detected in nearly half (17 patients, i.e. 40%) of epileptogenic temporal lobes. This low sensitivity likely pertains to the high variability of MPPF  $BP_{ND}$  values across healthy subjects and brain regions (Costes *et al.*, 2005). Indeed, the mean global  $BP_{ND}$  value in healthy subjects is  $0.49 \pm 0.09$  (range: 0.27–0.71), which rises to 0.8–1.5 in the hippocampus and to 0.5–1.2 in the limbic cortex.

The SPM analysis is based on the statistical comparison of each voxel's  $BP_{ND}$  value in an individual patient with those measured in the near homologous voxel in a set of control subjects. Thus, only dramatically abnormal  $BP_{ND}$  voxel values are detected by statistical analysis when the range of normal values is large. This effect was only partly decreased by taking into account the global value of  $BP_{ND}$

of each patient and control in the statistical analysis (see 'Methods' section). At an individual level, this bias may be overcome by other methods currently being validated using either asymmetry indices between homologous ROI (Kang *et al.*, 2001), combinations of voxel-based analysis and volumes of interest (Hammers *et al.*, 2001), or standardizations with reference to intrasubject measures (Hammers *et al.*, 2007). However, many of these methods are still very time consuming, and do not currently lend themselves to widespread routine clinical use.

SPM has the advantage over visual analysis to reveal areas of increased  $BP_{ND}$  areas, but in this study, all such areas were contralateral to the seizure focus when they were located in the temporal lobe, and outside the temporal lobe when ipsilateral to the seizure focus. Although these  $BP_{ND}$  increases have a limited diagnostic utility, they might be relevant for assessing the mechanism of serotonin transmission changes in TLE. Extra-temporal increases of  $BP_{ND}$  involve regions that are not included in the epileptogenic network and may reflect an over-expression of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in healthy cerebral tissue. This is consistent with a possible antiepileptic effect of endogenous serotonin through 5-HT<sub>1A</sub> receptors. Although the antiepileptic effect of serotonin remains a matter of discussion (Barnes and Sharp, 1999), recent neuropharmacological studies performed on three different types of epilepsy models support this hypothesis (Lopez-Meraz *et al.*, 2005).

### Specificity of MPPF PET visual analysis

Specificity can be evaluated either according to the epilepsy subtypes and related extents of the EZ as assessed by presurgical explorations, or according to the surgical outcomes, with the limitation that a seizure-free outcome only indicates that the epileptogenic area was included in the resected tissue. In what follows, only the specificity of visual analysis will be considered.

#### Specificity regarding epilepsy subtypes

While the epileptogenic lobe is identified with great accuracy by visual analysis of MPPF PET, and this analysis is 100% specific in the sense that no healthy controls were considered abnormal, the specificity is <40% when the precise mapping of the EZ is at stake. Indeed the extent of  $BP_{ND}$  decreases did not correspond exactly to that of the EZ as defined by preoperative evaluation. Areas showing a decrease of  $BP_{ND}$  often spread outside the EZ within the temporal lobe as well as to the neighbouring structures. Thus, the area of 5-HT<sub>1A</sub> receptor-binding decrease was larger than the EZ in near a half of patients (20/42, 48%). Furthermore, in 12 of the 24 patients who have remained seizure free since their operation, the area showing reduced 5-HT<sub>1A</sub> receptor-binding extended beyond the resection area.

Insula ipsilateral to the epileptogenic temporal lobe is the extra-temporal area, where reduced  $BP_{ND}$  was the most often visually detectable (47%) regardless of the

TLE subtype. Therefore, the similar finding previously reported at group level in MTLE patients (Merlet *et al.*, 2004a) seems to be applicable to all types of TLE. The insula is often involved in seizure spread in TLE patients who become seizure free after anterior temporal lobectomy (Silfvenius *et al.*, 1964; Isnard *et al.*, 2000), whereas patients with seizure onset in the insula are rare (Isnard *et al.*, 2004). Evidently reduced 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in the insula does not permit *per se* to discriminate between TLE and insular epilepsies. It is not known whether the MPPF BP<sub>ND</sub> decrease could be restricted to the insula in insular epilepsies, a finding that was never observed in our TLE patients.

The same conclusion applies to the extension of MPPF BP<sub>ND</sub> decrease to lateral temporal neocortex in MTLE. Of the eight patients with this PET abnormality, the five who underwent anterior temporal lobectomy are seizure free. Moreover, of the three patients with neocortical TLE who are seizure free after a tailored surgery involving the lateral temporal neocortex (Tables 2 and 3), one had no BP<sub>ND</sub> abnormality at all (Patient 33), another had no BP<sub>ND</sub> decrease in lateral cortex (Patient 37) and only the third one (Patient 36) had a latero-temporal BP decrease.

#### Specificity regarding surgical outcome

Sixteen of the eighteen operated patients (89%) whose MPPF PET showed a BP<sub>ND</sub> decrease restricted to the hippocampus, amygdala and temporal pole, with or without extension to the ipsilateral insula, are seizure free after anterior temporal lobectomy. The remaining two patients with a Class II outcome had a focal dysplasia in the epileptogenic temporal lobe (Patients 22 and 24). Thus, visual observation of this type of MPPF PET abnormalities in association with isolated hippocampal atrophy or normal MRI is highly predictive of a favourable surgical outcome. Conversely, extension of BP decrease to lateral temporal cortex entails no worse prognosis when the clinical presentation is that of a MTLE syndrome, and similarly, the absence of visually detectable PET abnormality does not preclude a seizure-free outcome (Patients 27 and 33).

#### Comparison between MPPF and FDG PET

Comparison between FDG and MPPF PET data shows a clear-cut superiority of the latter for localizing visually the epileptogenic area in MTLE patients. The rate of interobserver discrepancies was much higher for FDG (34%) than for MPPF (7%) PET. The specificity of FDG PET was also lower than that of MPPF PET with only 23% of patients showing hypometabolism restricted to hippocampus, amygdala and temporal pole, versus 38% demonstrating such abnormalities with MPPF PET. Furthermore, glucose hypometabolism spared the mesial temporal cortex and temporal pole in three MTLE patients, of whom two have been operated and are seizure free after anterior temporal lobectomy, a condition that never encountered with MPPF PET.

Lastly, a glucose hypometabolism extended outside the temporal lobe and insula in 21% of patients, whereas this was never observed with MPPF BP<sub>ND</sub> decrease.

#### Conclusion

Presurgical neuroimaging in TLE aims at assessing each individual patient's suitability for temporal lobectomy, if possible by producing images that can be visually interpreted at bedside. This study shows that visual analysis of MPPF BP<sub>ND</sub> images allows a correct identification and lateralization of the epileptogenic temporal lobe with 100% specificity (no false positives in control subjects), a false negative rate inferior to 10% and an interexaminer mismatch rate of 7%.

#### Acknowledgements

Authors wish to thank Dr Didier Le Bars for [<sup>18</sup>F]MPPF radiosynthesis, the CERMEP team for assistance and Drs Geneviève Demarquay, Catherine Fischer, Jean Isnard and Dominique Rosenberg for help in recruitment of patients. We also acknowledge Dr Julien Jung for help in statistical analysis.

#### References

- Andrade R, Nicoll RA. Pharmacologically distinct actions of serotonin on single pyramidal neurones of the rat hippocampus recorded in vitro. *J Physiol* 1987; 394: 99–124.
- Ashburner J, Friston K. Multimodal image coregistration and partitioning—a unified framework. *Neuroimage* 1997; 6: 209–17.
- Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999; 38: 1083–152.
- Beck SG, Choi KC. 5-Hydroxytryptamine hyperpolarizes CA3 hippocampal pyramidal cells through an increase in potassium conductance. *Neurosci Lett* 1991; 133: 93–6.
- Bouvard S, Costes N, Bonnefoi F, Lavenne F, Mauguière F, Delforge J, *et al.* Seizure-related short-term plasticity of benzodiazepine receptors in partial epilepsy: a [<sup>11</sup>C]flumazenil-PET study. *Brain* 2005; 128: 1330–43.
- Brix G, Zaers J, Adam LE, Bellemann ME, Ostertag H, Trojan H, *et al.* Performance evaluation of a whole-body PET scanner using the NEMA protocol. *J Nucl Med* 1997; 38: 1614–23.
- Cidici Meltzer C, Drevets WC, Price JC, Mathis CA, Lopresti B, Greer PJ, *et al.* Gender-specific aging effects on the serotonin 1A receptor. *Brain Res* 2001; 895: 9–17.
- Costes N, Merlet I, Ostrowsky K, Faillenot I, Lavenne F, Zimmer L, *et al.* A 18F-MPPF PET normative database of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in men and women over aging. *J Nucl Med* 2005; 46: 1980–9.
- Costes N, Merlet I, Zimmer L, Lavenne F, Cinotti L, Delforge J, *et al.* Modeling [<sup>18</sup>F]MPPF positron emission tomography kinetics for the determination of 5-hydroxytryptamine(1A) receptor concentration with multiinjection. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 753–65.
- Engel J Jr. Intracerebral recordings: organization of the human epileptogenic region. *J Clin Neurophysiol* 1993; 10: 90–8.
- French JA, Williamson PD, Thadani VM, Darcey TM, Mattson RH, Spencer SS, *et al.* Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol* 1993; 34: 774–80.
- Friston KJ. Commentary and opinion: II. Statistical parametric mapping: ontology and current issues. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 361–70.

- Gambhir SS, Czernin J, Schwimmer J, Silverman DH, Coleman RE, Phelps ME. A tabulated summary of the FDG PET literature. *J Nucl Med* 2001; 42: 1S–93S.
- Giovacchini G, Toczek MT, Bonwetsch R, Bagic A, Lang L, Fraser C, *et al.* 5-HT<sub>1A</sub> receptors are reduced in temporal lobe epilepsy after partial-volume correction. *J Nucl Med* 2005; 46: 1128–35.
- Gousias IS, Rueckert D, Heckemann RA, Dyet LE, Boardman JP, Edwards AD, *et al.* Automatic segmentation of brain MRIs of 2-year-olds into 83 regions of interest. *Neuroimage* 2008; 40: 672–84.
- Guenot M, Isnard J, Ryvlin P, Fischer C, Manguiere F, Sindou M. SEEG-guided RF thermocoagulation of epileptic foci: feasibility, safety, and preliminary results. *Epilepsia* 2004; 45: 1368–74.
- Guenot M, Isnard J, Ryvlin P, Fischer C, Ostrowsky K, Manguiere F, *et al.* Neurophysiological monitoring for epilepsy surgery: the Talairach SEEG method. Indications, results, complications and therapeutic applications in a series of 100 consecutive cases. *Stereotact Funct Neurosurg* 2001; 77: 29–32.
- Gunn RN, Sargent PA, Bench CJ, Rabiner EA, Osman S, Pike VW, *et al.* Tracer kinetic modeling of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligand [carbonyl-<sup>11</sup>C]WAY-100635 for PET. *Neuroimage* 1998; 8: 426–40.
- Hammers A, Allom R, Koeppe MJ, Free SL, Myers R, Lemieux L, *et al.* Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum Brain Mapp* 2003; 19: 224–47.
- Hammers A, Asselin MC, Turkheimer FE, Hinz R, Osman S, Hotton G, *et al.* Balancing bias, reliability, noise properties and the need for parametric maps in quantitative ligand PET: [(11)C]diprenorphine test-retest data. *Neuroimage* 2007; 38: 82–94.
- Hammers A, Koeppe MJ, Labbé C, Brooks DJ, Thom M, Cunningham VJ, *et al.* Neocortical abnormalities of [<sup>11</sup>C]-flumazenil PET in mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2001; 56: 897–906.
- Innis RB, Cunningham VJ, Delforge J, Fujita M, Gjedde A, Gunn RN, *et al.* Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27: 1533–9.
- Isnard J, Guenot M, Ostrowsky K, Sindou M, Manguiere F. The role of the insular cortex in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 2000; 48: 614–23.
- Isnard J, Guenot M, Sindou M, Manguiere F. Clinical manifestations of insular lobe seizures: a stereo-electroencephalographic study. *Epilepsia* 2004; 45: 1079–90.
- Kang KW, Lee DS, Cho JH, Lee JS, Yeo JS, Lee SK, *et al.* Quantification of F-18 FDG PET images in temporal lobe epilepsy patients using probabilistic brain atlas. *Neuroimage* 2001; 14: 1–6.
- Kung HF, Stevenson DA, Zhuang ZP, Kung MP, Frederick D, Hurt SD. New 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist: [<sup>3</sup>H]p-MPPF. *Synapse* 1996; 23: 344–6.
- Le Bars D, Lemaire C, Ginovart N, Plenevaux A, Aerts J, Brihaye C, *et al.* High-yield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of p-[<sup>18</sup>F]MPPF, a fluoro analog of WAY-100635. *Nucl Med Biol* 1998; 25: 343–50.
- Lopez-Meraz M-L, Gonzalez-Trujano M-E, Neri-Bazan L, Hong E, Rocha LL. 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists modify epileptic seizures in three experimental models in rats. *Neuropharmacology* 2005; 49: 367–75.
- Lothe A, Didelot A, Hammers A, Costes N, Saoud M, Gilliam F, *et al.* Comorbidity between epilepsy and depression: an <sup>18</sup>F MPPF PET study. *Brain* 2008 [Epub 2 September, 2008].
- Mauguière F. PET scan in the interictal period: its contribution to evaluation of the functional deficit and epileptogenic zones. In: Rosenow F and Lüders H, editors. *Presurgical assessment of the epilepsies with clinical neurophysiology and functional imaging*. In: Daube J and Mauguière F series editors. *Handbook of Clinical Neurophysiology*. Vol. 3. Amsterdam: Elsevier; 2004. p. 219–44.
- Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, Ryvlin P, Isnard J, Faillenot I, *et al.* 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [<sup>18</sup>F]MPPF-PET study. *Brain* 2004a; 127: 900–13.
- Merlet I, Ryvlin P, Costes N, Dufournel D, Isnard J, Faillenot I, *et al.* Statistical parametric mapping of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage* 2004b; 22: 886–96.
- Okuhara DY, Beck SG. 5-HT<sub>1A</sub> receptor linked to inward-rectifying potassium current in hippocampal CA3 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 1994; 71: 2161–7.
- Rosenow F, Lüders H. Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain* 2001; 124: 1683–700.
- Ryvlin P, Philippon B, Cinotti L, Froment JC, Le Bars D, Manguiere F. Functional neuroimaging strategy in temporal lobe epilepsy: a comparative study of 18FDG-PET and 99mTc-HMPAO-SPECT. *Ann Neurol* 1992; 31: 650–6.
- Savic I, Lindstrom P, Gulyas B, Halldin C, Andree B, Farde L. Limbic reductions of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in human temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2004; 62: 1343–51.
- Silfvenius H, Gloor P, Rasmussen T. Evaluation of insular ablation in surgical treatment of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 1964; 5: 307–20.
- Sindou M, Guenot M, Isnard J, Ryvlin P, Fischer C, Manguiere F. Temporo-mesial epilepsy surgery: outcome and complications in 100 consecutive adult patients. *Acta Neurochir (Wien)* 2006; 148: 39–45.
- Theodore WH, Hasler G, Giovacchini G, Kelley K, Reeves-Tyer P, Herscovitch P, *et al.* Reduced hippocampal 5HT<sub>1A</sub> PET receptor binding and depression in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48: 1526–30.
- Toczek MT, Carson RE, Lang L, Ma Y, Spanaki MV, Der MG, *et al.* PET imaging of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2003; 60: 749–56.
- Williamson PD, French JA, Thadani VM, Kim JH, Novelly RA, Spencer SS, *et al.* Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: II. Interictal and ictal scalp electroencephalography, neuropsychological testing, neuroimaging, surgical results, and pathology. *Ann Neurol* 1993; 34: 781–7.

**- Partie II -**

**ANALYSE STATISTIQUE DE CARTES D'INDEX D'ASYMETRIE  
DU [<sup>18</sup>F] MPPF DANS L'EPILEPSIE DU LOBE TEMPORAL**

L'étude précédemment conduite a révélé une faible puissance statistique de l'analyse SPM standard pour identifier la ZE et ce même dans le cas de diminution du BP<sub>ND</sub> visuellement évidentes. Conformément aux conclusions de notre étude comparant l'analyse visuelle et statistique standard, nous avons donc étudié une nouvelle approche d'analyse qui nous semblait plus adaptée au [<sup>18</sup>F]MPPF. Une technique d'analyse par index d'asymétrie voxel à voxel, précédemment développée dans le cadre d'une étude de TEP au [<sup>18</sup>F]FDG [Van Bogaert, et al., 2000], nous est apparue une technique intéressante à appliquer à nos patients. La première étape de ce travail a été de développer la méthode d'analyse et d'en déterminer les différents paramètres. Nous avons ensuite constitué une banque de témoins qui a servi de base de référence pour l'analyse statistique individuelle. La troisième étape de ce travail a consisté à l'automatisation de la procédure d'analyse statistique qui permet un gain de temps considérable dans le prétraitement des images et assure une stabilité et une reproductibilité de la méthode.

Nous détaillons tout d'abord dans ce chapitre le principe de construction des cartes d'index d'asymétrie, puis le script d'automatisation de la construction des cartes statistiques

(standard et AI) et une dernière partie est consacrée à l'application de cette technique à 24 patients guéris par chirurgie d'une épilepsie temporale pharmaco-résistante.

### *Construction des cartes d'index d'asymétrie*

#### **CONSTRUCTION D'UN MODELE SYMETRIQUE DE CARTE D'ASYMETRIE**

Afin de pouvoir comparer les valeurs de fixation du [<sup>18</sup>F]MPPF dans un hémisphère cérébral par rapport à l'autre, il convient de rendre ces deux hémisphères morphologiquement superposables. Le cerveau est en effet naturellement asymétrique et les deux hémisphères ne sont donc pas de forme et de volume identique. Afin de pouvoir fabriquer la carte d'index d'asymétrie, il est apparu nécessaire de déformer le cerveau de chaque sujet sur un volume symétrique dont la forme est la plus proche possible du cerveau étudié.

Nous avons donc construit un volume symétrique à partir des images « somme » des témoins de notre base de données [<sup>18</sup>F]MPPF en effectuant les étapes suivantes :

- Retournement du modèle asymétrique (T) par rapport à l'axe X pour créer son image retournée (fxT),
- Calcul de la somme des deux volumes T + fxT. Le volume symT résultant est symétrique mais non nécessairement centré sur l'axe X.
- Les volumes T et fxT sont indépendamment coregistrés sur symT. Cela permet d'obtenir une matrice de transformation spatiale de T vers symT et fxT vers symT.
- Calcul de l'image moyenne de T et fxT auxquelles sont appliquées les matrices de transformations déterminées précédemment. Cette opération génère un volume cT qui est centré mais non nécessairement symétrique.
- Le volume cT est retourné par rapport à l'axe X pour créer fxcT.

Calcul de l'image moyenne de cT et fxcT. Cette image est centrée, symétrique et correspond au modèle « symétrique » d'image TEP qui sera utilisé dans les analyses subséquentes.

#### **ANALYSE DE L'INDEX D'ASYMETRIE :**

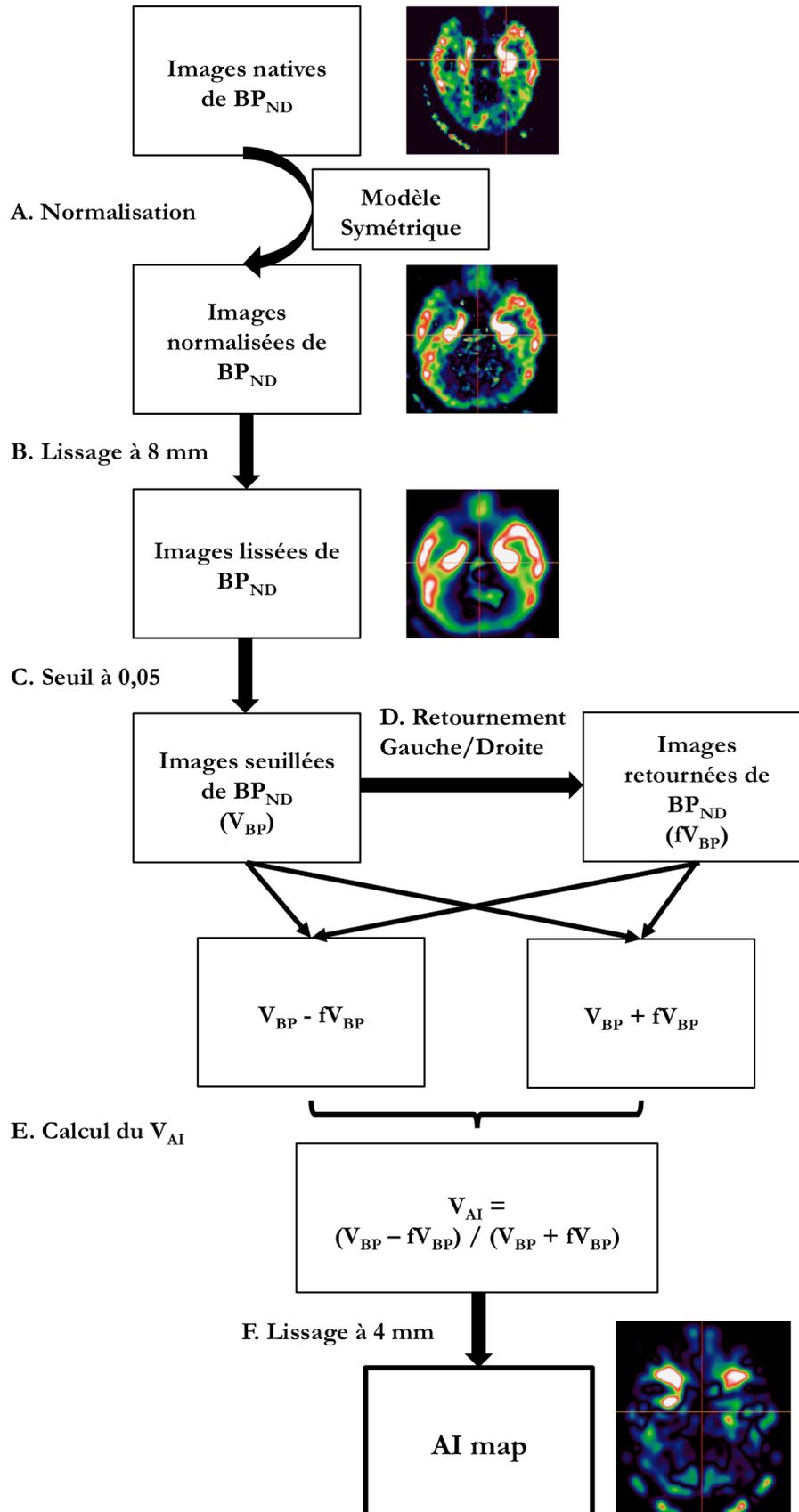
##### ***Prétraitement des images :***

Cet index a quantifié les différences de valeur du BP du [<sup>18</sup>F]MPPF entre chaque voxel et son symétrique pour chaque examen. Il a été calculé chez chaque patient et chaque témoin. A partir de l'image paramétrique de BP, six étapes de prétraitement des images ont été nécessaires (figure 7) :

- A : Normalisation des images brutes de BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF par rapport au modèle PET symétrique.
- B : Le volume obtenu est lissé à 8 mm.
- C : Un seuil est appliqué à chaque voxel et les valeurs de BP<sub>ND</sub> inférieures à 0,05 sont éliminées. Ces petites valeurs correspondent en effet à du bruit de fond. La conservation de ces petites valeurs non informatives pourrait créer artificiellement des zones de fortes asymétries qui fausseraient l'analyse. Le volume obtenu après cette opération est V<sub>BP</sub>.
- D : Le volume obtenu est retourné autour de l'axe antéro-postérieur. Un volume « flippé » (fV<sub>BP</sub>) dans le sens gauche/droite est ainsi obtenu.
- E : Les volumes obtenus en C et en D sont utilisés pour calculer leur différence (V<sub>BP</sub> - fV<sub>BP</sub>) et leur somme (V<sub>BP</sub> + fV<sub>BP</sub>). Une carte d'index d'asymétrie (V<sub>AI</sub>) est ensuite construite selon la formule :

$$V_{AI} = (V_{BP} - fV_{BP}) / (V_{BP} + fV_{BP})$$

- F : Le volume obtenu est enfin lissé à 4 mm.



**Figure 7 : Schéma de la construction de la carte d'index d'asymétrie.**

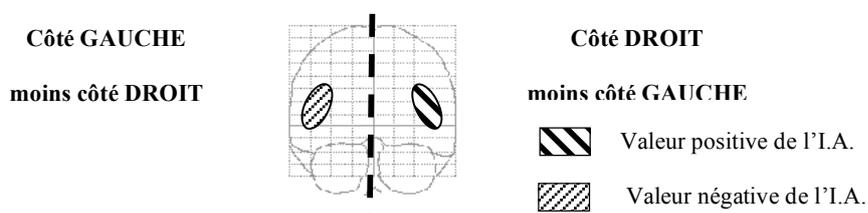
A l'issue de ces prétraitements, une image où chaque voxel représente l'index d'asymétrie des valeurs de  $BP_{ND}$  du MPPF a été obtenue.

Arbitrairement, la soustraction a été effectuée pour que la moitié gauche de l'image représente l'index d'asymétrie correspondant à Gauche – Droite et l'autre, la soustraction Droite – Gauche.

***Analyse statistique et interprétation de l'index d'asymétrie :***

Le prétraitement des images paramétriques de  $BP_{ND}$  a permis d'obtenir une image de soustraction où la partie gauche de cette image représentait l'hémisphère droit du patient soustrait du gauche et la moitié gauche de l'image de soustraction, l'hémisphère gauche soustrait du droit.

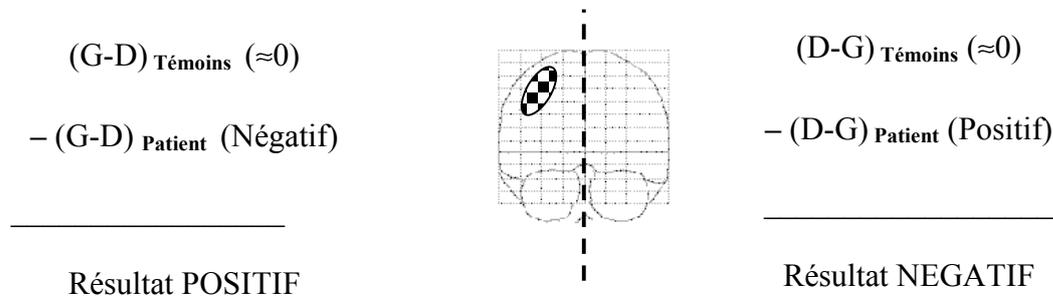
Dans le cas où le  $BP_{ND}$  du MPPF était plus faible dans une région gauche que dans son symétrique à droite, la cause pouvait en être une augmentation droite ou une diminution gauche. L'index d'asymétrie était donc négatif dans la partie gauche de l'image de soustraction et positif dans sa partie droite (figure 8).



**Figure 8 : Représentation schématique de l'index d'asymétrie (I.A.) chez un patient dont l'activité dans une région à droite est supérieure à son symétrique à gauche. Chaque moitié de l'image représente une différence entre chacun des hémisphères.**

Lors de la comparaison avec SPM, deux contrastes ont été successivement étudiés : les témoins moins le patient puis le patient moins les témoins. L'index d'asymétrie des témoins variait autour d'une valeur proche de zéro.

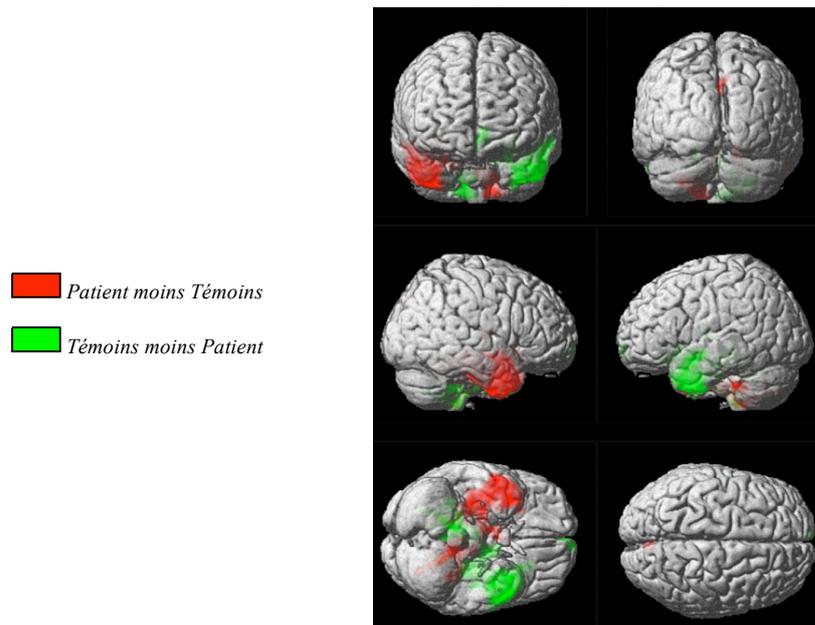
SPM ne met en évidence que les différences positives dans l'étude d'un contraste. Donc, dans le cas de l'étude [Témoins moins Patient], dans l'exemple où le BP serait plus important dans une région droite que gauche, l'analyse statistique révélerait une anomalie de l'index d'asymétrie dans la moitié gauche de l'image (Figure 9).



**Figure 9 : Analyse SPM du contraste Témoins moins Patient.**

*Exemple d'un patient présentant un  $BP_{ND}$  relativement plus important dans une région que dans la région homologue controlatérale.*

L'étude du second contraste [Patient moins Témoins] a donné une image symétrique de la précédente (Figure 10). Ces deux contrastes ont été systématiquement calculés et projetés sur une image de cerveau standard en trois dimensions. Le premier contraste [Témoins moins Patient] a été représenté en vert et le second en rouge.



*Figure 10 : Représentation des deux contrastes de la cartographie de l'index d'asymétrie.*

Sur l'exemple de la figure 10, il a été mis en évidence une anomalie statistiquement significative de l'AI au niveau des lobes temporaux. Dans ce cas, deux interprétations peuvent être faites : une diminution de  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$  au niveau du lobe temporal gauche ou une augmentation au niveau du lobe temporal droit.

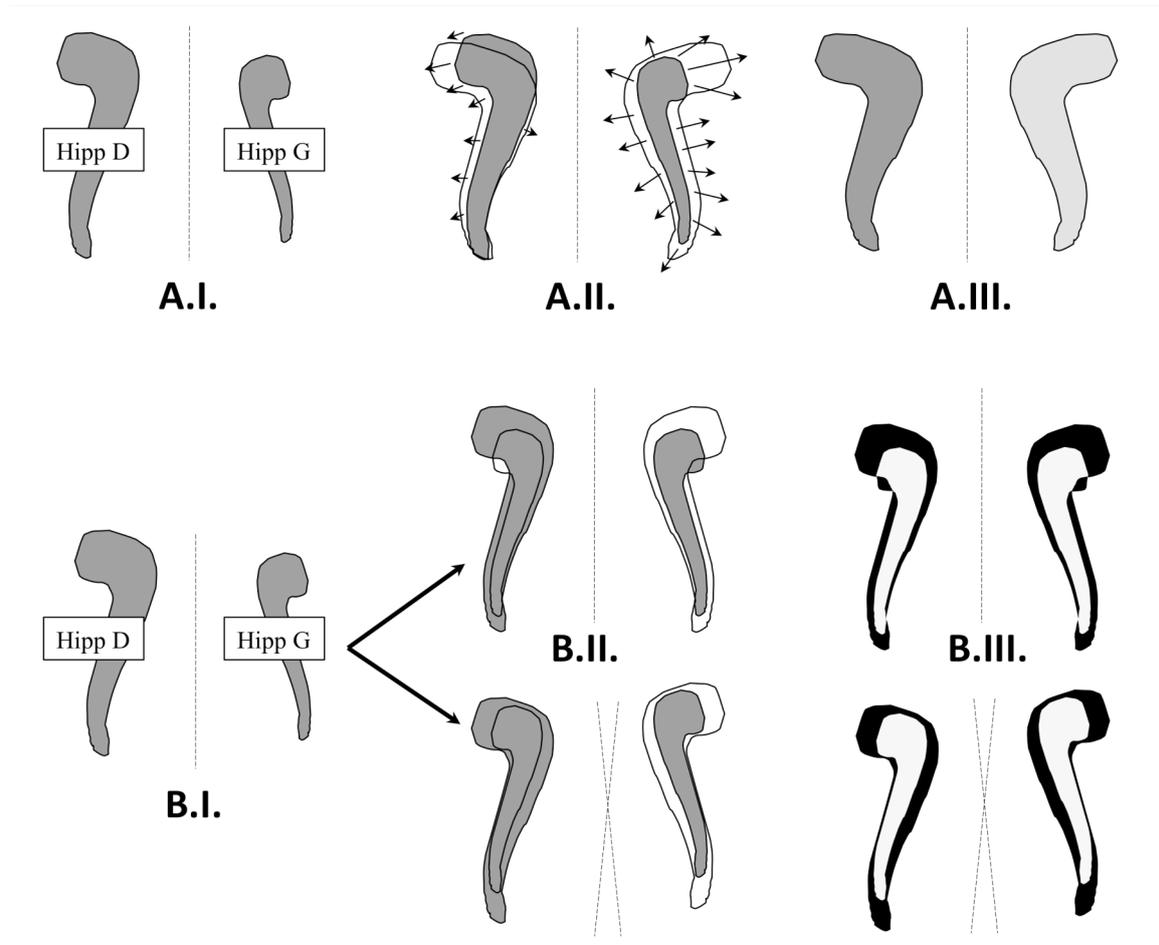
*Rôle de l'effet de volume partiel et de la normalisation dans la construction des cartes d'IA*

La construction de cartes d'IA implique de déformer le cerveau pour le rendre artificiellement symétrique. Cette transformation peut avoir des conséquences sur l'estimation du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF des structures les plus déformées par cette normalisation. C'est notamment le cas des hippocampes, fréquemment atrophiques dans notre population de patients souffrant d'une ELT. A l'effet de cette normalisation, s'ajoute celui de volume partiel présent pour les petites structures comme l'hippocampe.

De quelle façon peut-on dès lors minimiser les conséquences de cette opération de symétrie ? La figure 11 schématise (A.I à A.III.) la technique de recalage utilisée dans nos études. Chaque structure anatomique (dans cet exemple l'hippocampe) est déformée sur un patron commun et symétrique qui sert de modèle. Si l'on veut s'affranchir de la déformation sur un modèle, il est possible de recaler les structures comme cela est décrit dans la figure 11 en B. Il n'existe alors aucune déformation du volume anatomique et les deux hippocampes sont recalés soit par symétrie par rapport à la ligne médiane (ligne du haut dans la figure 11 B.) soit en recherchant le maximum de recouvrement entre les deux structures en modifiant l'axe de symétrie (Figure 11 B. ligne du bas). Ces deux techniques d'analyse, si elles n'induisent aucune déformation anatomique, comportent de nombreuses limites qui les rendent inapplicables en pratique clinique. Ainsi, la première méthode, par simple symétrie, provoque le recouvrement de structures anatomiques différentes qui sont symbolisées en noir dans l'exemple illustré. Dans ces zones sont calculées des IA qui n'ont aucune signification physiologique puisqu'ils correspondent à la comparaison de  $BP_{ND}$  dans des structures anatomiques différentes. Dans l'exemple pris des hippocampes, il existe, de façon

immédiatement adjacente à ces derniers, la corne temporale du ventricule latéral. Dans cette structure ne contenant que du LCR, la seule activité radioactive mesurée est la conséquence du *spill over* du parenchyme adjacent. Les IA dans ces structures vont donc être très élevés. Lors de la recherche de clusters significatifs, ces régions vont donc ressortir de façon très importante rendant toute détection des asymétries pertinentes impossibles.

La deuxième technique proposée ne présente pas plus d'avantage. Le réajustement réalisé permettra une meilleure correspondance des structures réalignées. Il s'en suivra cependant un décalage de toutes les autres structures anatomiques. La correction qui vaut pour réaligner les hippocampes est en effet différente de celle nécessaire au réalignement du gyrus para-hippocampique, des insulas, du cortex orbito-frontal, etc ... De plus, à chaque recalage, se produit une zone de superposition entre des régions non homologues (symbolisées en noir sur la figure 11) où se reproduisent les mêmes phénomènes de disproportion statistiques. Une solution pour faire disparaître ces régions de discordance est d'appliquer un masque dessiné sur l'IRM du patient et ce pour chaque structure anatomique étudiée. Toute utilisation en pratique clinique est alors illusoire.



**Figure 11 : Schéma des résultats obtenus pour les hippocampes en fonction des méthodes de calcul de l'asymétrie**

*L'exemple pris pour illustrer ces différentes méthodes de calcul sont les deux hippocampes d'un patient (Hipp D : hippocampe droit, Hipp G : hippocampe gauche). Dans le cas choisi, l'hippocampe gauche est atrophique.*

- A. *Calcul d'un index d'asymétrie à partir de deux hippocampes normalisés sur un modèle symétrique. La dilatation relativement plus importante de l'hippocampe gauche sur le modèle symétrique provoque une diminution artificielle du  $BP_{ND}$  dans cette structure par « dilution » dans un plus grand volume.*

*B. Calcul d'un index d'asymétrie en superposant les deux hippocampes, sans les normaliser. Deux recalages différents sont représentés : le premier recalage est effectué par simple symétrie tandis que le second s'attache à faire correspondre au mieux les deux structures anatomiques (recalage manuel). Dans les deux cas, on observe la génération de zones de très fortes asymétries (en noir) qui correspondent à la soustraction de valeurs de  $BP_{ND}$  entre des structures anatomiques différentes.*

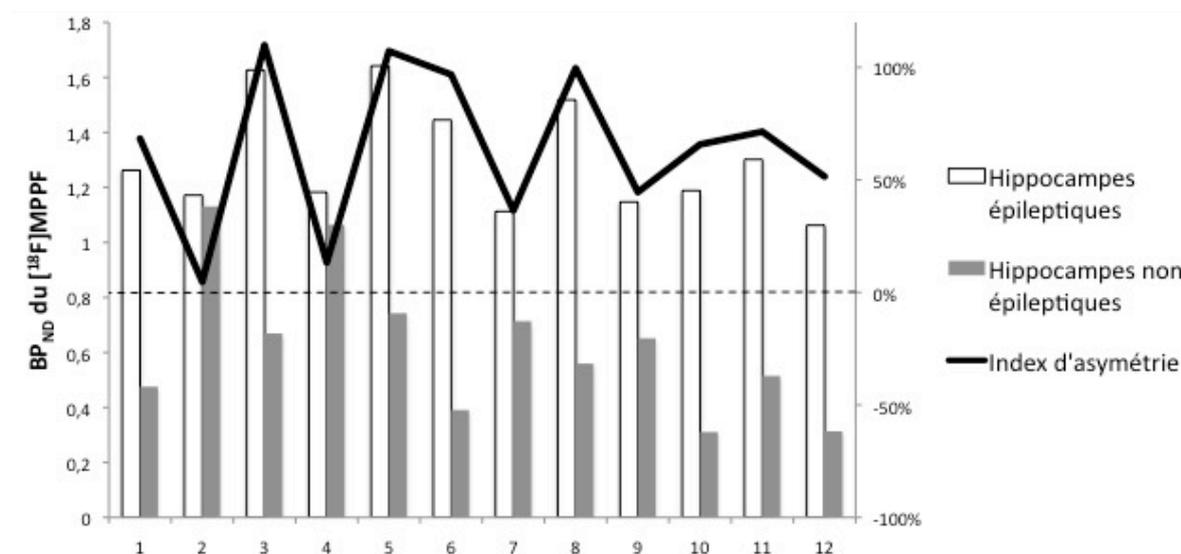
Si l'effet de normalisation est non négligeable lors de la fabrication des cartes d'IA selon notre méthode, les structures concernées par cette distortion ont très probablement une diminution déjà significative du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF. Pour le vérifier, nous avons donc mesuré la valeur du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF chez 12 patients en cours de bilan préchirurgical d'une ETM. Ces patients sont différents de ceux étudiés dans les études précédentes. Parmi ces 12 patients, huit ont une atrophie hippocampique unilatérale mise en évidence sur l'IRM et 4 ont des hippocampes de volume normal.

Afin de s'affranchir de tout effet dépendant d'une quelconque normalisation, c'est un atlas probabiliste qui vient se déformer sur l'image TEP du patient et permet la mesure des valeurs du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF dans chacune des 166 régions d'intérêt prédéfinies [Hammers, et al., 2003]. Nous ne rapportons ici que les données mesurées dans les hippocampes, aux fins d'illustrer notre propos.

La figure 12 reporte les mesures de  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF dans les hippocampes des douze patients étudiés. L'index d'asymétrie est exprimé en pourcentage et calculé de la façon

suivante :  $\frac{2((BP_{ND})_{noE} - (BP_{ND})_E)}{((BP_{ND})_{noE} + (BP_{ND})_E)}$ , où  $(BP_{ND})_{noE}$  correspond au  $BP_{ND}$  mesuré dans

l'hippocampe non épileptique et  $(BP_{ND})_E$  correspond au  $BP_{ND}$  mesuré dans l'hippocampe épileptique.

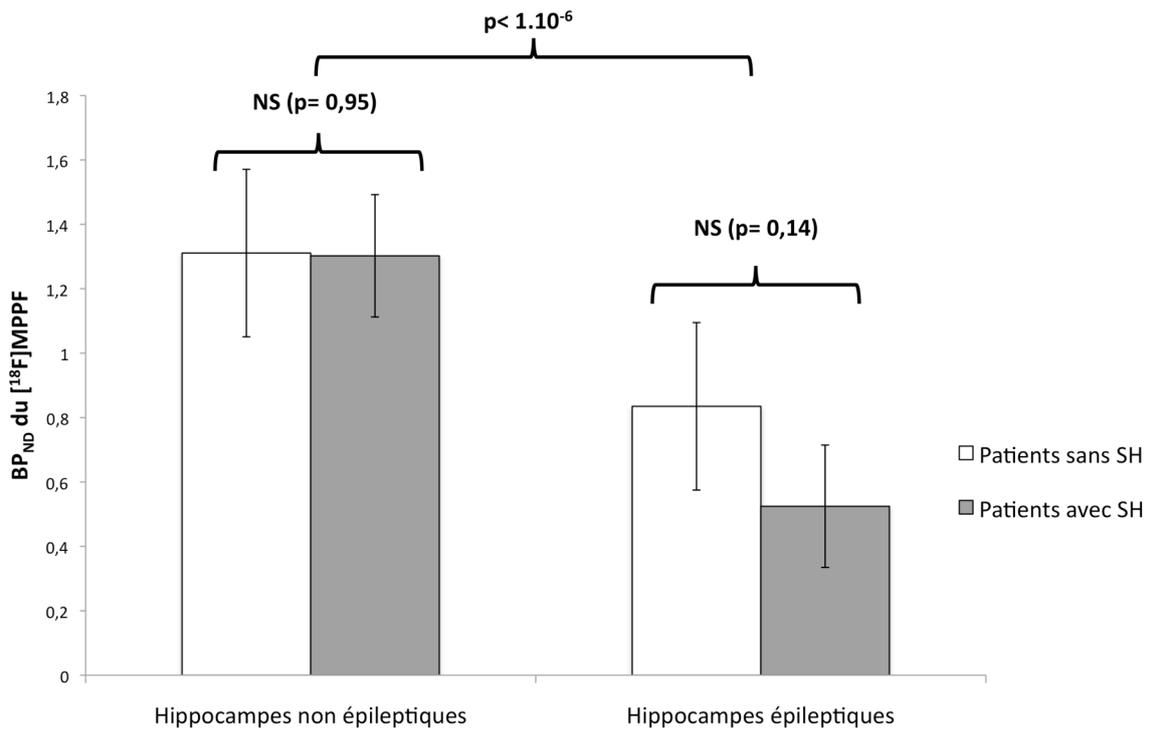


**Figure 12 : Mesures du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF hippocampique et index d'asymétrie chez 12 patients avec une épilepsie temporo-mésiale.**

Les quatre premiers patients ont une IRM normale et les huit suivants présentent une sclérose hippocampique unilatérale, dans le lobe temporel épileptogène. Un index d'asymétrie positif correspond à un  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF plus élevé dans l'hippocampe non épileptique.

Il existe ainsi une différence de valeur du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF qui est systématiquement inférieure dans l'hippocampe épileptique que celui-ci soit normal (patients 1 à 4) ou atrophique (patients 5 à 12) sur l'IRM. La diminution du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF mise en évidence parmi les 42 patients précédemment étudiés n'est donc pas le seul fait de la normalisation de structures atrophiques mais reflète bien une modification du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]$ MPPF.

Les conséquences d'une telle déformation seront d'autant plus importantes que la structure est atrophiée. S'il a été mis en évidence une perte de volume global dans le lobe temporal pour les patients souffrant d'ELT [Luby, et al., 1995], cette dernière prédomine nettement sur l'hippocampe qui est la structure que nous avons prise pour illustrer ce propos.



**Figure 13 : Valeurs moyennes des  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$  des hippocampes non épileptiques et épileptiques dans les sous-groupes de patients avec et sans sclérose hippocampique.**

*NS : non significatifs, SH : sclérose hippocampique. p calculés avec un test de Student.*

Enfin, sur les analyses de groupes illustrées par la figure 13, il n'existe pas de différences significatives entre les sous groupes de patients présentant une EMT avec ou sans SH et ce que ce soit pour l'hippocampe épileptique ou non épileptique. Il existe en revanche une diminution significative du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$  dans les hippocampes épileptiques par

rapport à ceux qu'il ne le sont pas, qu'il existe ou non une sclérose hippocampique. Il existe même une tendance à une diminution plus importante du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF dans les hippocampes épileptiques atrophiques que dans les hippocampes épileptiques non atrophiques. Cette différence cependant n'atteint pas le seuil de significativité.

Il pourrait dès lors sembler intéressant d'utiliser cette méthode qui vient d'être brièvement détaillée à l'échelle clinique individuelle pour effectuer les analyses individuelles dans le cadre du bilan préopératoire des ELT. L'utilisation d'un atlas probabiliste qui se déforme sur l'examen du patient permet ainsi de s'affranchir du problème de dilution ou de concentration, par la déformation anatomique, de l'activité mesurée. La compensation de cet effet que nous démontrons comme modéré serait cependant au détriment de la résolution qu'offre l'analyse voxel à voxel qui permet d'analyser l'ensemble du parenchyme sans *a priori* anatomique. L'utilisation d'un atlas probabiliste conduit en effet à une segmentation qui ramène aux techniques déjà évoquées d'analyse par régions d'intérêt.

### *Automatisation de la procédure d'analyse*

La technique d'analyse par IA repose sur un prétraitement des images de BP<sub>ND</sub> qui se révèle long si les étapes sont réalisées manuellement. Une procédure d'analyse trop longue rend inenvisageable son application en routine clinique.

À la différence des autres techniques d'analyses d'AI déjà décrites, celle que nous proposons ici repose sur un prétraitement des images qui ne justifie pas de traçage de régions d'intérêt [Lin, et al., 2007, Toczek, et al., 2003], ni de segmentation du cortex [Muzik, et al., 1998]. Aucune des étapes de prétraitement ne justifie donc d'intervention humaine. Dès lors, il est apparu possible d'automatiser ces différentes séquences.

De plus, il semblait souhaitable que les prétraitements des images pour l'analyse d'IA et standard soient réalisés simultanément afin de s'assurer de la bonne reproductibilité méthodologique.

Nous avons donc développé un script qui réalise les différentes étapes du prétraitement. Deux options de normalisation sont disponibles en fonctions des examens disponibles le jour de l'analyse. La carte de BP<sub>ND</sub> peut ainsi être normalisée sur l'image SUM ou à partir de l'IRM du sujet. Il a été noté que la normalisation apparaissait de meilleure qualité avec l'IRM du sujet. Cependant, cet examen n'est pas toujours disponible au moment de l'analyse et il est apparu utile de pouvoir disposer d'une technique d'analyse qui soit autonome lorsque le PET seul est disponible.

Dans la version actuelle de ce script, il est nécessaire de désigner le fichier correspondant à la carte de BP<sub>ND</sub>, le fichier .dyn ou l'IRM (.img ou .hdr) selon la modalité de normalisation voulue ainsi que le sexe et l'âge de chaque patient à analyser. L'ensemble du

prétraitement est ensuite réalisé pour l'analyse standard et l'analyse d'IA avec l'estimation du modèle et la construction des contrastes statistiques. Chaque prétraitement et analyse est ensuite rangé dans deux fichiers distincts, propres à chaque type d'analyse.

### *Automatisation du prétraitement des images*

L'exemple pris ici est celui du script utilisant le fichier dynamique du PET comme référence pour déterminer les paramètres de normalisation de l'image de BP<sub>ND</sub>. Les différentes étapes suivies par le script sont présentées ici. Pour chaque étape, les lignes de commande correspondantes sont reproduites puis explicitées.

Ce programme comporte différentes parties que nous détaillerons successivement. La première permet la définition des différents paramètres permettant la sélection des témoins et les variables prises en compte (âge et sexe). La seconde permet à l'utilisateur de renseigner les paramètres spécifiques à l'analyse qu'il souhaite réaliser. Les troisième et quatrième étapes réalisent successivement la construction des cartes d'asymétrie et leur analyse statistique. Les cinquième et sixième étapes sont dévolues à la construction des cartes de BP<sub>ND</sub> et leur analyse statistique. Une septième étape permet l'élimination des fichiers intermédiaires.

### *Détermination des paramètres spécifiques à l'étude*

#### *Détermination des fichiers sources :*

Cette commande permet l'ouverture du logiciel SPM5 et précise la localisation des dossiers dans lesquels se trouvent les fichiers sources des examens des patients (basecwd), des

PET des témoins selon qu'ils ont été normalisés sur un modèle symétrique (controlmdir) ou non (controldirBP).

### *Intégration de l'âge et du sexe des témoins comme covariables :*

Sont précisées ici les valeurs correspondant aux âges et au sexe (1= homme, 2= femme) des 41 témoins. Ces données seront appelées plus loin dans l'exécution du programme pour être intégrées comme covariables dans l'analyse statistique.

### *Détermination des filtres d'ouverture des fichiers :*

La première ligne (datafold) correspond au nom du dossier qui sera ouvert par défaut pour que l'utilisateur y sélectionne les fichiers du patient qui doit être analysé. Vient ensuite la racine commune aux noms des fichiers à analyser (BProotfilename) qui sont toujours, dans le cas présent des fichiers de BP<sub>ND</sub>. Enfin, il est déterminé la racine du nom du fichier utilisé (dynrootfilename) pour déterminer les paramètres de normalisation du fichier analysé. Dans l'exemple présenté ici, la normalisation est réalisée sur le PET à partir du fichier dynamique.

### *Choix des modèles :*

Sont désignés ici la localisation respective des modèles symétrique (templ\_norm\_sym) et asymétrique (templ\_norm) utilisés pour les opérations de normalisation.

### *Paramètres de lissage et de seuillage :*

Sont précisées dans les deux premières lignes les valeurs de pré- (prefwhm) et post-lissages (postfwhm) appliquées dans les trois dimensions x, y et z de l'espace. La dernière ligne donne la valeur du seuil chois pour l'élimination des valeurs aberrantes.

### *Détermination des informations nécessaires à chaque analyse et nombre de patients à étudier :*

Cette étape détermine les informations nécessaires pour l'analyse : le nom donné à l'analyse (subname), le fichier de référence pour la normalisation (dynfilepath), le sexe (SexPatient) et l'âge (AgePatient) du patient à étudier.

Les lignes suivantes permettent à l'utilisateur de préciser le nombre de patients (Nsubj) qu'il souhaite analyser au cours de cette étude. Les prétraitements des images et les analyses statistiques correspondant à chaque patient seront ainsi réalisés successivement.

### *Sélection des informations nécessaires à l'analyse :*

Les lignes de commande ci-dessus invitent l'utilisateur à renseigner successivement l'adresse du fichier dynamique (dynfilepath{i,1}) et du fichier de BP<sub>ND</sub> (BPfilepath{i,1}). Il est ensuite demandé de renseigner l'âge du patient étudié puis l'utilisateur clique sur la case à cocher correspondant au sexe du patient étudié. La récupération de ces 4 informations est répétée automatiquement pour chaque patient de l'étude. Le nombre de patient a été renseigné à l'étape précédente.

Il s'agit de la dernière étape où l'utilisateur est appelé à intervenir.

### *Fabrication du nom des fichiers calculés lors de l'étude :*

Cette étape permet de retrouver dans le nom des fichiers sélectionnés la racine qui correspond au nom du ou des patient(s) étudié(s). Cette racine sera ensuite utilisée pour créer le nom de tous les fichiers créés pour ce patient dans cette étude.

### *Détrompeur :*

Cette étape permet de vérifier que les fichiers dynamiques et de BP<sub>ND</sub> sélectionnés proviennent bien du même patient. Si les racines de ces fichiers sont discordantes, un message d'erreur (vous n'avez pas sélectionné des images du même sujet) apparaît et l'utilisateur est appelé à renouveler sa sélection. Ce message d'erreur ne bloque pas l'exécution du programme et permet la correction de l'erreur de sélection sans avoir à rentrer à nouveau toutes les sélections précédemment effectuées.

### ***Construction des cartes d'asymétrie***

#### *Création des dossiers et copie des fichiers utiles*

Cette étape permet de désigner la localisation où doivent être dirigés les fichiers qui vont être créés pour permettre la construction de la carte d'IA. Il est aussi créer un fichier temporaire pour accueillir les fichiers propres au patient.

#### *Importation des fichiers avec conversion au format .nii :*

Les fichiers dynamiques et de BP<sub>ND</sub> sont écrits pour chaque patient au format ECAT ces derniers sont donc importés et convertis au format .nii reconnu par SPM5.

*Calcul de l'image somme à partir de l'image dynamique :*

Le premier paragraphe permet la sélection du fichier dynamique adéquat, le second définit l'expression pour le calcul de la moyenne et le troisième paragraphe permet le calcul de l'image somme proprement dite.

*Normalisation de l'image de  $BP_{ND}$  :*

Les deux premiers paragraphes permettent de déterminer les paramètres de normalisation. Ces paramètres sont estimés à partir de l'image somme, calculée précédemment, rapportée au modèle symétrique. Les paramètres obtenus sont ensuite appliqués à l'image de  $BP_{ND}$ .

*Pré-lissage des images*

Cette étape permet la réécriture du fichier de  $BP_{ND}$  normalisé en y appliquant un lissage défini au début du programme à 8 mm par défaut.

*Application du seuil à l'image pré-lissée*

Cette étape permet d'appliquer à l'image pré-lissée le seuillage défini par défaut (threshold = 0.05). Les faibles valeurs correspondant à une fixation aspécifique de  $BP_{ND}$  sont ainsi éliminées.

### *Fabrication de la carte d'index d'asymétrie*

Le premier paragraphe permet de déterminer le nom du fichier. Le deuxième paragraphe permet le calcul de la carte d'index d'asymétrie à l'aide de la « toolbox volumes » de SPM5. Le dernier paragraphe détermine les paramètres de calcul de la carte d'index d'asymétrie.

### *Application d'un seuillage aux valeurs d'index d'asymétrie*

Cette étape applique un masque aux valeurs d'index d'asymétrie en excluant les valeurs strictement inférieures à -1 ou strictement supérieures à 1.

### *Lissage de la carte d'asymétrie seuillée*

Cette étape permet le lissage de la carte d'asymétrie à 4 mm dans toutes les directions de l'espace (selon les axes x, y et z) et clos l'étape de construction de la carte des index d'asymétrie.

### *Classement des fichiers créés*

Les fichiers créés sont déplacés dans un répertoire aux fins d'être utilisés lors de l'analyse statistique.

### *Analyse statistique des cartes d'asymétrie*

#### *Spécification du type de modèle utilisé*

Cette commande permet l'ouverture de la partie PET du logiciel SPM5.

### *Création du dossier statistique et récupération des fichiers utiles à l'analyse*

Cette étape permet la création d'un dossier dans lequel sera regroupé l'ensemble des fichiers créés au cours de l'analyse statistique. De plus, les fichiers correspondant au masque explicite, à la carte d'IA du patient et aux cartes d'IA des témoins sont copiés dans ce dossier.

### *Définition des covariables*

Cette étape récupère les valeurs des deux covariables (âges et sexe) pour le patient étudié et l'ensemble des témoins.

### *Définition du plan de l'analyse statistique*

Les différents paramètres de l'analyse statistique sont rapportés ici. Les différentes lignes de commande renseignent successivement les informations requises par SPM5 pour effectuer l'analyse. Le premier paragraphe désigne les fichiers du patient et des témoins qui seront utilisés pour l'analyse. Il est ensuite précisé que la variance est considérée égale dans le groupe des témoins et celle du patient. Il n'est pas réalisé de *grand mean scalling* et le test statistique employé est une ANCOVA par sujet.

Les deux paragraphes suivants définissent successivement l'âge et le sexe comme deux covariables indépendantes sans ajustement des valeurs à la moyenne (*no centering*). Le dernier paragraphe permet l'application d'un masque explicite sur les valeurs à analyser, la désactivation de l'option '*grand mean scalling*' et sans normalisation globale.

### *Estimation du modèle statistique*

Cette étape permet l'estimation du modèle statistique défini à l'étape précédente et la création d'un fichier « SPM.mat ».

### *Définition des contrastes statistiques*

Le premier paragraphe définit le contraste « Patient – Témoins » qui va permettre de comparer la carte d'IA du patient à celles des témoins. Cette comparaison permet de mettre en évidence tous les voxels et clusters où l'IA sont significativement supérieurs à celui des témoins dans des régions homologues.

Le deuxième contraste, « Témoins – Patient », est défini dans le paragraphe suivant mais n'est pas utilisé dans l'analyse que nous effectuons dans les études présentées ici.

Le dernier paragraphe permet la sauvegarde des paramètres définis.

### ***Fabrication de la carte de $BP_{ND}$ du patient pour l'analyse standard avec SPM5***

#### *Création d'un dossier dédié*

Cette commande crée dans le dossier du patient étudié un dossier intitulé « statsBP » dans lequel sera regroupé l'ensemble des fichiers permettant l'analyse SPM standard.

#### *Normalisation de l'image de $BP_{ND}$*

Cette étape détermine les paramètres de normalisation à partir du modèle de carte de  $BP_{ND}$  non symétrique.

### *Lissage de l'image de $BP_{ND}$ normalisée*

L'image de  $BP_{ND}$  normalisée est lissée à 8 mm dans les trois dimensions (x, y et z).

### *Analyse statistique standard de la carte de $BP_{ND}$*

#### *Définition des fichiers utilisés*

Cette étape sélectionne automatiquement la carte de  $BP_{ND}$  normalisée et lissée du patient étudié ainsi que celles des témoins.

#### *Estimation de la valeur globale de la carte de $BP_{ND}$*

Cette commande conduit au calcul de la valeur moyenne du  $BP_{ND}$  pour les cartes normalisées et lissées du patient étudié et de tous les témoins.

#### *Paramètres de l'analyse statistique*

Les différents paramètres de l'analyse statistique sont rapportés ici. Les différentes lignes de commande renseignent successivement les informations requises par SPM5 pour effectuer l'analyse. Le premier paragraphe désigne les fichiers du patient et des témoins qui seront utilisés pour l'analyse. Il est ensuite précisé que la variance est considérée égale dans le groupe des témoins et celle du patient. Il n'est pas réalisé de *grand mean scalling* et le test statistique employé est une ANCOVA par sujet.

Les trois paragraphes suivants définissent successivement la valeur globale moyenne de  $BP_{ND}$ , l'âge et le sexe comme trois covariables indépendantes sans ajustement des valeurs

à la moyenne (*no centering*). Le dernier paragraphe permet l'application d'un masque explicite asymétrique sur les valeurs à analyser, la désactivation de l'option '*grand mean scaling*' et l'absence de normalisation globale.

#### *Estimation du modèle statistique*

Les différents paramètres sélectionnés à l'étape précédente sont appliqués pour estimer le modèle statistique.

#### *Définition des contrastes statistiques*

Le premier paragraphe définit le contraste « Patient – Témoins » qui va permettre de comparer la carte de  $BP_{ND}$  du patient à celles des témoins. Cette comparaison permet de mettre en évidence tous les voxels et clusters où les valeurs de  $BP_{ND}$  sont significativement supérieures à celle chez les témoins dans des régions homologues.

Le deuxième contraste, « Témoins – Patient », est défini dans le paragraphe suivant. Il permet de mettre en évidence tous les voxels et clusters où les valeurs de  $BP_{ND}$  sont significativement inférieures à celle chez les témoins dans des régions homologues.

Le dernier paragraphe permet la sauvegarde des paramètres définis.

#### *Effacement des fichiers intermédiaires et fin du programme*

Cette dernière étape efface tous les fichiers intermédiaires placés dans le dossier «fichiers temporaires » et ferme le programme.

**- Partie III -**

**APPLICATION DE L'ANALYSE DE L'INDEX D'ASYMETRIE  
A L'EPILEPSIE DU LOBE TEMPORAL**

L'utilisation de l'analyse de l'IA du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dans le cadre du bilan préchirurgical des épilepsies du lobe temporal doit permettre de recueillir des indications sur les limites de la ZE. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons appliqué cette technique d'analyse à 24 patients souffrant d'une épilepsie temporale rigoureusement bilantée. Le volume cérébral dans lequel se situe la ZE était connu puisque tous les patients sélectionnés ont été opérés et guéris de leur épilepsie.

Cette étude fait l'objet d'une soumission pour publication dans la revue *Journal of Nuclear Medicine* sous la référence :

*Voxel based analysis of asymmetry index maps increases the specificity of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET abnormalities for localizing the epileptogenic zone in Temporal Lobe Epilepsies. A DIDELOT, F MAUGUIÈRE, J REDOUTÉ, S BOUVARD, A LOTHE, A REILHAC, A HAMMERS, N COSTES, P RYVLIN.*

Nous détaillons cette étude dans les paragraphes suivants.

## *Methodes*

### **PATIENTS**

Vingt-quatre patients ont été inclus. Ils satisfaisaient tous aux critères suivants : 1) évaluation pré-chirurgicale incluant un enregistrement vidéo-EEG prolongé avec des crises, une IRM cérébrale et une TEP interictale au [<sup>18</sup>F]FDG conduisant au diagnostic d'épilepsie temporale unilatérale, 2) une TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF et 3) l'absence de crise au décours de la chirurgie du lobe temporal, définissant une classe I de Engel avec un recul post-opératoire d'au moins six mois (moyenne +/- DS = 34 +/- 12 mois, avec un recul de 8 à 53 mois). Ce dernier critère d'inclusion confirme que la ZE a correctement été identifiée au cours du bilan préopératoire. Les résultats des TEP au [<sup>18</sup>F] MPPF n'étaient pas disponibles au moment de la décision chirurgicale. Tous ces patients sont extraits de la série de patients étudiés précédemment.

La ZE a été définie comme mésiale chez 20 des patients qui furent opérés par lobectomie temporale antérieure emportant les structures temporo-mésiales et le pôle temporal [Spencer et Spencer, 1985, Williamson, et al., 1993]. Parmi ces 20 patients, 13 avaient une présentation électro-clinique et IRM caractéristiques d'une ETM avec sclérose de l'hippocampe [French, et al., 1993, Williamson, et al., 1993], deux patients avaient une atrophie hippocampique à l'IRM mais une présentation électro-clinique atypique et l'IRM des cinq derniers patients était normale. Ces sept derniers patients furent explorés en SEEG [Guenot, et al., 2001], confirmant l'origine temporo-mésiale des crises. Ces vingt patients ont été classés dans deux sous-groupes : MT<sub>HS</sub> ou MT<sub>noHS</sub> selon la présence (HS pour « hippocampal sclerosis ») ou non (noHS) d'une atrophie et d'un hypersignal T2 FLAIR à l'IRM. La résection chirurgicale fut étendue à la partie latérale du pôle temporal chez tous les

patients présentant une ETM afin de permettre une résection complète des structures temporo-mésiales.

Pour quatre patients, la zone de départ des crises a été localisée au niveau du néocortex temporal latéral par l'enregistrement SEEG (NC pour épilepsie temporale NéoCorticale). La résection chirurgicale fut limitée au néocortex temporal latéral pour deux patients mais étendue aux structures temporo-mésiales pour les deux autres car la décharge épileptique chez ces patients se propageait très rapidement au gyrus para-hippocampique et à l'hippocampe [Kahane, et al., 2006]. Ces patients furent classés en NC<sub>MT</sub> ou NC<sub>noMT</sub> selon l'existence ou non d'une implication précoce des structures temporo-mésiales par la décharge critique. Trois de ces patients avaient une IRM normale et un, une petite lésion située au sein du gyrus temporal moyen. L'analyse anatomopathologique conclut à la nature dysplasique de cette lésion.

### **TEMOINS**

Afin de réaliser une comparaison statistique de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF de chaque patient avec une population de témoins, nous avons utilisé les examens TEP de 41 témoins (âge moyen : 42,8 ans [20 à 70 ans], 23 femmes) sans antécédent psychiatrique ou maladie neurologique et dont l'IRM cérébrale était normale [Costes, et al., 2005].

### **ANALYSE STATISTIQUE DES IMAGES DE BP<sub>ND</sub> ET D'INDEX D'ASYMETRIE**

#### ***Design de l'analyse statistique***

Les images de BP<sub>ND</sub> et d'index d'asymétrie des patients sont comparées respectivement aux images de BP<sub>ND</sub> et d'index d'asymétrie des témoins. Cette comparaison

statistique individuelle est réalisée avec SPM5 et repose sur un test t avec deux échantillons, une ANCOVA par sujet, la variance est considérée identique dans les deux échantillons et il n'est pas effectué d'étalonnage par rapport à la moyenne globale des images (overall grand mean scaling). L'application d'un masque (obtenu par seuillage ne retenant que les valeurs  $x > 0,3$ ) restreint l'analyse statistique aux voxels situés dans la substance grise du cerveau. L'âge et le sexe sont pris en compte dans l'analyse comme variables de non intérêt. Deux seuils statistiques différents sont appliqués successivement à chaque analyse statistique : (i)  $p < 0,05$  FWE (family-wise error) corrigé au niveau du voxel qui constitue un haut seuil statistique pour ce type d'analyse et (ii)  $p < 0,05$  corrigé au niveau du cluster (les clusters étant définis par les groupes de voxels demeurant significatifs à  $p < 0,001$  non corrigé).

### ***Détermination du sens de l'anomalie de $BP_{ND}$ sous-tendant l'augmentation de l'IA***

Le contraste "Témoins – Patient" a été étudié : chaque moitié de l'image correspond donc à l'étude d'un contraste différent (voir l'exemple Figures 8 et 9 dans le chapitre « Construction des cartes d'IA »). Dans tous les cas, l'anomalie d'IA mise en évidence a été corrélée aux résultats de l'analyse standard afin de déterminer le sens (augmentation ou diminution du  $BP_{ND}$ ) et le côté (hémisphère droit ou gauche) de l'anomalie constatée. Cependant, dans notre expérience, la grande majorité des anomalies du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF correspond à des diminutions.

## INTERPRETATIONS DES IMAGES PARAMETRIQUES DE $BP_{ND}$ ET DES CARTES D'IA

Au regard des résultats des études précédentes [Didelot, et al., 2008, Lothe, et al., 2008, Merlet, et al., 2004a], seules les diminutions du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ] MPPF sont pertinentes en pratique clinique pour identifier la ZE. Nous n'avons donc considéré ici que les anomalies de l'IA correspondant à des diminutions du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ] MPPF. La localisation de clusters significatifs et la localisation du voxel avec la significativité maximale (plus haut Z-score) sont les deux paramètres qui ont été étudiés. Cette localisation se fait par rapport à trois régions d'intérêt : les régions méso-temporales (amygdale, hippocampe, gyrus parahippocampique et la partie la plus mésiale du pôle temporal), les régions temporales néocorticales (gyrus temporal supérieur, moyen et inférieur, gyrus fusiforme ainsi que la partie latérale du pôle temporal). La troisième région d'intérêt regroupe toutes les régions corticales extra-temporales.

### SENSIBILITE ET SPECIFICITE

La sensibilité a été définie comme la proportion d'examens où les clusters d'anomalies significatives incluent la ZE. La spécificité repose quant à elle sur la proportion d'examens où le maximum statistique (voxel avec le Z-score maximal) est situé dans la ZE. Cette définition de la spécificité a été choisie pour tenter de répondre à la question clinique la plus fréquente dans cette situation : l'anomalie la plus nette correspond-elle à la ZE ? Nous posons ici l'hypothèse que cette information pourrait être plus pertinente que l'étendue propre de la diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF ou que l'existence de plusieurs clusters dans des régions différentes.

Les résultats de chaque analyse ont été comparés en termes de sensibilité et spécificité par un test de Mc Nemar.

### *Résultats*

#### **ANALYSE STANDARD**

##### ***Seuil à $p < 0,05$ , corrigé au niveau du voxel (FWE)***

Une diminution significative du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F] MPPF est observée dans 58% (14/24 patients) dont 60% des patients souffrant d'une épilepsie temporo-mésiale avec sclérose hippocampique ou non et la moitié des patients avec une épilepsie temporale néocorticale. Toutes les anomalies constatées sont ipsilatérales à la ZE et impliquent le lobe temporal épileptogène dans la moitié des cas (12/24 patients) ce qui représente une sensibilité globale de 50%.

Le voxel associé au Z-score le plus élevé est localisé dans les régions mésio-temporales pour huit des patients avec une ETM et dans le néocortex temporal pour les deux patients NC<sub>HS</sub> et l'un des deux patients NC<sub>noHS</sub>. La spécificité résultante est de 64% (9 des 14 patients présentant des anomalies significatives du BP<sub>ND</sub>).

##### ***Seuil à $p < 0,001$ , corrigé au niveau du cluster***

Ce seuil, moins statistiquement exigeant que le précédent, permet la mise en évidence de clusters significatifs chez cinq nouveaux patients. Pour quatre d'entre eux, ces clusters sont situés dans le lobe temporal épileptogène. Cet abaissement du seuil statistique permet un gain de sensibilité qui passe de 50% à 67% mais cela au détriment de la spécificité qui chute à

47%. En effet, seuls neuf des 19 patients avec un cluster significatif ont le voxel associé au Z-score maximal situé dans la ZE.

#### **ANALYSE DE L'INDEX D'ASYMETRIE**

##### ***Seuil à $p < 0,05$ , corrigé au niveau du voxel (FWE)***

Une anomalie significative de l'IA est constatée chez tous les patients pour ce seuil statistique. En comparant ces clusters aux résultats de l'analyse standard, toutes ces anomalies correspondent à des diminutions du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F] MPPF. A deux exceptions près (patients 20 et 24), ces anomalies impliquent le lobe temporal épileptogène. Il en résulte une sensibilité de 92%. Cette sensibilité est de 100% dans le sous-groupe MT et de 75% dans le groupe NC. Selon la définition préétablie, la spécificité est de 88%.

##### ***Seuil à $p < 0,001$ , corrigé au niveau du cluster***

Ce seuil statistique, moins exigeant que le précédent, permet d'identifier un cluster significatif chez un patient supplémentaire ce qui permet d'augmenter la sensibilité à 96%. La spécificité demeure inchangée.

#### **COMPARAISON DES ANALYSES VISUELLES, SPM STANDARD ET IA**

L'analyse de l'IA se révèle clairement supérieure aux autres, sur le plan individuel, pour mettre en évidence des anomalies pertinentes. Ainsi, pour les quatre patients présentant un examen considéré normal à l'analyse visuelle (et qui avaient tous une IRM normale), l'analyse SPM standard montre des anomalies chez deux d'entre eux mais toutes sont extra-

temporales tandis que l'analyse de l'IA révèle des clusters significatifs chez ces quatre patients. Dans 3 cas sur 4, ces anomalies impliquent le lobe épileptogène.

Quel que soit le seuil statistique utilisé, l'analyse d'IA se révèle significativement supérieure à l'analyse standard en terme de sensibilité et spécificité (tests de Mc Nemar :  $p < 0,05$  dans tous les cas).

### *DISCUSSION*

Cette étude a permis la validation d'une technique d'analyse voxel à voxel automatisée de l'IA des TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF. Cette analyse se révèle sensible et spécifique pour déterminer la ZE chez les patients souffrant d'une ELT. Cette méthode d'analyse se révèle fiable au niveau lobaire et infra-lobaire pour la majorité des patients. L'analyse d'IA se révèle significativement supérieure à l'analyse SPM standard en terme de sensibilité et spécificité.

#### **AVANTAGES DE LA METHODE D'ANALYSE DE L'IA**

Dans le contexte de l'évaluation préchirurgicale des ELT, le but des examens de neuroimagerie est d'identifier le lobe épileptogène [Mauguiere et Ryvlin, 2004] et de délimiter le plus exactement possible la ZE. Les résultats de ces investigations permettent en effet, couplé aux résultats de la vidéo-EEG, de déterminer la zone de cortectomie.

Ainsi, l'analyse de l'IA a permis un gain dans l'identification de la ZE pour 3 des 4 patients où l'IRM cérébrale était normale, la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF visuellement considérée normale et où les seules anomalies mises en évidence par l'analyse SPM standard n'étaient pas pertinentes.

La meilleure spécificité de l'analyse de l'IA est démontrée par la localisation du Z-score maximal. Le voxel associé au Z-score maximal est situé dans les structures mésiotemporales chez tous les patients MT alors que cela n'est le cas que pour 8 sur les 15 patients MT en analyse SPM standard. De plus, lorsqu'il existe une diminution significative du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF extérieur à la ZE chez les patients MT, le Z-score mesuré à ce niveau est toujours inférieur à celui situé dans la ZE (exception faite du patient 20).

D'autres techniques d'analyses de l'IA ont été précédemment développées et appliquées à de nombreux traceurs [Lin, et al., 2007, Muzik, et al., 1998, Toczek, et al., 2003]. Cependant, la grande majorité des méthodes d'analyse proposées repose sur le traçage de régions d'intérêt ou la réalisation d'une segmentation de l'examen du patient. La méthode que nous rapportons ici présente l'avantage d'être automatisée et facilement utilisable en routine clinique.

Le petit nombre de patients rapportés dans cette étude (notamment dans le sousgroupe d'épilepsie néocorticale) limite la portée des conclusions faites dans cette étude. Le choix d'étudier des patients opérés et guéris permet de confirmer que la ZE était incluse dans le parenchyme réséqué mais ne permet pas de vérifier si les patients non-guéris après chirurgie ont un pattern différent de diminution du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF. Ce point doit faire l'objet d'une étude dédiée pour confirmer la spécificité de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF.

Au total, la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF apparaît être un examen utile dans le cadre du bilan préopératoire des ELT, notamment lorsque l'IRM et/ou le PET [<sup>18</sup>F]FDG est normal. Dans le cas où l'IRM est normale, cette exploration peut aider à prendre la décision d'une exploration invasive par SEEG et donnent des renseignements utiles à la réalisation du schéma d'implantation des électrodes.

**Voxel based analysis of asymmetry index maps increases the specificity of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET abnormalities for localizing the epileptogenic zone in Temporal Lobe Epilepsies**

Authors: Adrien DIDELOT (1,2,3,4), François MAUGUIÈRE (1,2,3,4,5), Jérôme REDOUTÉ (6), Sandrine BOUVARD (2,6,7), Amélie LOTHE (6,7), Anthonin REILHAC (6), Alexander HAMMERS (5), Nicolas COSTES (6), Philippe RYVLIN (2,3,4,7,8)

1. INSERM, U879, Hôpital Pierre Wertheimer, 59, boulevard Pinel, 69003 Lyon, France.
2. Université Lyon 1, 69003 Lyon, France.
3. Hospices Civils de Lyon, Service de Neurologie Fonctionnelle et d'Epileptologie, 69003 Lyon, France.
4. Institut Fédératif des Neurosciences de Lyon, 69003 Lyon, France.
5. Neurodis Foundation, 69003 Lyon, France
6. CERMEP – Imagerie du vivant, 69003 Lyon, France
7. CTRS-INSERM IDEE, 69003 Lyon, France.
8. INSERM, U821, 69003 Lyon, France.

Corresponding author: Philippe RYVLIN, ryvlin@cermep.fr

Financial support: This study is supported by a PHRC of the Hospices Civils de Lyon

Total number of words:

**ABSTRACT:**

**Purpose:** [<sup>18</sup>F]MPPF-PET has proved to be a very sensitive technique in the pre-surgical evaluation of patients with drug resistant temporal lobe epilepsy (TLE), but a significant proportion of visually detected abnormalities failed to be detected by standard SPM analysis (Didelot et al. Brain 2008). This study aimed at 1) describing a voxel-based method for computing inter-hemispheric asymmetry indices (AIs) using SPM5 software; 2) validating the clinical relevance of this method for analysing asymmetries of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET images in patients with drug resistant temporal lobe epilepsy (TLE).

**Methods:** [<sup>18</sup>F]MPPF-PET scans of 24 TLE patients who achieved an Engel class I outcome following epilepsy surgery, and of 41 controls, were analyzed visually, with standard SPM, and by computing voxel based AIs. Both SPM methods were assessed using two different statistical thresholds ( $p < 0.05$ , corrected at the cluster level, and  $p < 0.05$ , family-wise error (FWE) corrected at the voxel level). Sensitivity and specificity of each method were estimated and compared using McNemar tests.

**Results:** The sensitivity of AI analysis to detect decreases of [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> ipsilateral to the epileptogenic lobe was 92% ( $p < 0.05$ , corrected at the cluster level ) and 96% ( $p < 0.05$ , FWE corrected at the voxel level), while specificity (defined as the congruence between the localisation of the voxel associated with the greatest Z-score and that of the epileptogenic zone) was 88% at both thresholds. AI analysis was significantly more sensitive ( $p < 0.05$ ) and specific ( $p < 0.005$ ) than standard SPM analysis regardless of the applied threshold. AI analysis also proved to be more sensitive than visual analysis.

**Discussion:** AI analysis of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET was more sensitive and specific than previous methods of analysis. This non-invasive imaging procedure was especially informative for presurgical assessment of patients presenting with clinical histories atypical of mesial TLE or with normal brain MRI.

**Key words:** [<sup>18</sup>F]MPPF-PET, epilepsy surgery, serotonin, 5-HT<sub>1A</sub> receptor, voxel based analysis, asymmetry index.

## INTRODUCTION:

Surgical treatment of patients suffering from pharmaco-resistant focal epilepsy leads to seizure freedom when the epileptogenic zone (EZ) has been removed. The EZ is thus defined empirically as the brain region the resection of which is both necessary and sufficient to result in seizure freedom [Luders, et al., 2006]. This favourable outcome is currently obtained in about 2/3 of patients with TLE [Wiebe et Jette, 2006], the most common form of surgically treated refractory epilepsy, with some degree of variation between the different epilepsy surgery centres [Schramm, 2008, Sindou, et al., 2006, Tellez-Zenteno, et al., 2007]. As 1/3 of patients do not become seizure free, there is a need to develop new preoperative investigations in order to better delineate the EZ. Investigations routinely used in the majority of epilepsy surgery centres include interictal scalp electroencephalography (EEG), video-EEG recording of seizures, magnetic resonance imaging (MRI), and [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose (FDG) PET [Rosenow et Luders, 2001, Ryvlin et Rheims, 2008]. Few other PET ligands have been evaluated in TLE but did not show a clear cut benefit over [<sup>18</sup>F]FDG-PET and have not found their way into clinical routine [Ryvlin, et al., 1998]. However, recent studies suggest that PET tracers targeting the 5-HT<sub>1A</sub> receptor, such as [<sup>11</sup>C]WAY-100635, [<sup>18</sup>F]FC-WAY, and [<sup>18</sup>F]MPPF [4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(N-2-pyridinyl)-p-fluorobenzamido]-ethyl-piperazine], might offer greater sensitivity and specificity than [<sup>18</sup>F]FDG-PET in the delineation of the EZ in TLE [Didelot, et al., 2008, Merlet, et al., 2004a, Savic, et al., 2004, Toczek, et al., 2003].

In a previous study comparing [<sup>18</sup>F]FDG-PET and [<sup>18</sup>F]MPPF-PET in a series of 42 TLE patients, we found that visual analysis detected significantly more [<sup>18</sup>F]MPPF than [<sup>18</sup>F]FDG PET abnormalities within the epileptogenic temporal lobe structures [Didelot, et al., 2008]. Standard voxel-based statistical parametric mapping (SPM) was also used in this previous

study in an attempt to detect more objectively the area of maximal [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF binding potential (BP) abnormality, but statistical analysis proved less sensitive than visual detection [Didelot, et al., 2008]. We hypothesized that the lack of sensitivity of standard SPM analysis resulted from the wide range of normal BP values measured within each voxel across healthy subjects [Costes, et al., 2005]. In order to address this issue, we have developed an SPM-based voxel-by-voxel procedure, to calculate and analyse maps of asymmetry index (AI) rather than maps of BP values directly. Previous PET studies in epilepsy, using various types of regions of interest (ROIs), have suggested a better sensitivity of AI analysis [Juhasz, et al., 2003, Juhasz, et al., 2000, Kim, et al., 2003, Lee, et al., 2001, Lin, et al., 2007, Muzik, et al., 1998, Toczek, et al., 2003]. Only one previous study has implemented an approach using voxel-based and AI analysis applied to [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET which achieved a sensitivity of 71% and a specificity of 100% in identifying the side of resection [Van Bogaert, et al., 2000]. We implemented SPM AI analysis in the present study using MPPF PET and SPM5 and evaluated its clinical relevance in 24 patients with drug resistant TLE, whose EZ localization was validated by a seizure-free outcome following temporal lobectomy.

## **METHODS:**

### **PATIENTS AND CONTROLS**

The 24 patients included in this study fulfilled the following criteria: 1) Pre-surgical evaluation including video-EEG recording of seizures, brain MRI, and interictal [<sup>18</sup>F]FDG-PET leading to the diagnosis of unilateral TLE, 2) Interictal [<sup>18</sup>F]MPPF-PET, and 3) Seizure free outcome following temporal lobe epilepsy surgery, defined as an Engel Class I (free of disabling seizures) with a post-operative follow-up of at least 6 months (mean  $\pm$  SD = 34  $\pm$  12 months, range 8 to 53). This latter criterion ensured that the EZ had been correctly identified pre-operatively. Results of individual [<sup>18</sup>F]MPPF-PET data were not available at the time of surgical decision. All these patients belonged to the series of TLE patients previously reported [Lothe, et al., 2008].

The EZ was considered mesial temporal in 20 patients who benefited from a standard anterior temporal resection [Spencer et Spencer, 1985, Williamson, et al., 1993] involving the mesial temporal structures as well as the temporal pole. Of these 20 patients, 13 patients had the typical electro-clinical and MRI features of the mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) syndrome including hippocampal atrophy [French, et al., 1993, Williamson, et al., 1993], while two patients showed MRI signs of hippocampal atrophy with atypical electro-clinical findings, and five had a normal MRI. These seven latter patients underwent invasive depth stereotactic EEG (SEEG) recordings, according to the Bancaud and Talairach approach [Guenot, et al., 2001], which demonstrated a mesial temporal ictal onset in all cases. These 20 patients were classified into MT<sub>HS</sub> or MT<sub>noHS</sub> subgroups depending on the presence or not of atrophy and T2/FLAIR hypersignal on MRI suggesting hippocampal sclerosis. The surgical resection was extended to the lateral aspect of the temporal pole in all MTLE patients to facilitate a complete removal of the mesial temporal structures. In the four patients not included in the MTLE group, ictal onset was localized by SEEG in the lateral temporal

neocortex (NC). The surgical resection was limited to NC in two but also involved the mesial temporal structures in the two others where the ictal discharge very rapidly invaded the parahippocampal gyrus and hippocampus [Kahane, et al., 2006]. These patients were subsequently classified as NC<sub>MT</sub> or NC<sub>noMT</sub> according to the early involvement or not of the mesial temporal structures by the ictal discharge. Three of them had normal MRI and one had a small lesion located in the middle temporal gyrus that proved to be a focal dysplasia on histopathological examination.

In order to perform SPM analysis of individual patients as compared to a normal database, we used the [<sup>18</sup>F]MPPF-PET data previously obtained in 41 healthy drug free volunteers without any past history of psychiatric or neurological illness (mean age = 42.8 [20-70], 23 women) [Costes, et al., 2005], whose brain MRI was normal.

## **MRI**

Structural brain MRI was performed using a 1.5 T Siemens Magnetom scanner (Siemens AG, Erlangen, Germany), and included the following sequences in all patients and controls: 3D anatomical T1-weighted sequence (TR: 9.7ms, TE: 4ms) covering the whole brain volume with 1 mm<sup>3</sup> cubic voxels, turbo-spin echo T2-weighted sequence (TR: 2260ms, TE: 45 and 90ms) with 6 mm thick slices acquired parallel to the long axis of the hippocampi, and turbo-spin echo T2 sequence (TR: 3000ms, TE: 16 and 98ms) yielding 3 mm thick slices perpendicular to the former.

## **MPPF PET**

### ***Data Acquisition***

[<sup>18</sup>F]MPPF-PET was obtained by nucleophilic fluorination of a nitro-precursor with a

radiochemical yield of 20–25% at the end of the synthesis and a specific activity of 32–76 GBq/mmol [Le Bars, et al., 1998]. PET scans were performed on a CTI-Siemens HR+ scanner (Knoxville, TN, USA) during the afternoon after a standard meal. For tracer injections, an intravenous catheter was placed in a vein of the left forearm.

Before emission acquisition, a 10-min transmission scan was performed using three  $^{68}\text{Ge}$  rod sources for the measurement of tissue and head support attenuation. After i.v. injection of a bolus of [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF at 2.7 MBq/kg, a dynamic emission scan consisting of 35 frames of increasing duration (20s to 5min) was acquired over 60 mins post-injection. The PET scanner was operating in 3D mode. Images were corrected for scatter and attenuation, and reconstructed using a filtered back projection (Hanning filter, cut-off 0.5 cycles/pixels) to provide a 3D volume of 63 slices (2.42 mm thickness) with 128x128 voxels in plane (2.06 mm<sup>2</sup>). In the centre of the field of view, the NEMA (National Electrical Manufacturers Association) protocol measured a nominal axial resolution of 4.1 mm and a nominal transverse resolution of 4.4 mm for an  $^{18}\text{F}$  point source reconstructed with a ramp filter [Brix, et al., 1997].

### ***Modeling of [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF and creation of parametric images of binding potential***

For each subject, the MRI was coregistered with mutual information criteria to the static, weighted and summed PET image to obtain a complete data set (anatomic MRI, static and dynamic PET) with common orientation and size. Parametric images of binding potential ( $\text{BP}_{\text{ND}}$  with the ND suffix indicating ‘non-displaceable tissue uptake’ in accordance with the consensus nomenclature [Innis, et al., 2007]) were obtained using an analytical solution for the compartment model with a simplified reference tissue model developed for [ $^{11}\text{C}$ ] WAY-100635-PET [Gunn, et al., 1998] and validated for [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF-PET studies [Costes, et al., 2002]. In this model, the assessment of free and non-specific ligand kinetics is based on the

time–activity curve of a reference region (i.e. cerebellar white matter that is devoid of specific 5-HT<sub>1A</sub> binding). Using this model, a previous study confirmed that BP<sub>ND</sub> was a reliable index of local receptor concentration [Costes, et al., Kung, et al., 1996].

### ***Data Preprocessing***

All preprocessing steps were performed using SPM5 software. As detailed below, a different spatial normalization was performed for each method of analysis (standard and AI), using dedicated templates.

#### *Preprocessing for SPM standard analysis*

Raw BP<sub>ND</sub> images were spatially normalized to a BP<sub>ND</sub> template in standard MNI/ICBM152 stereotactic space that had been constructed using SPM5. Normalization parameters were determined from the mean image of the [<sup>18</sup>F]MPPF dynamic acquisition and then applied to the raw (non-normalized) BP<sub>ND</sub> images. Normalized images were then smoothed using an isotropic 8mm FWHM Gaussian kernel that accommodates intersubject anatomy variability and improves the sensitivity of the statistical analysis [Ashburner et Friston, 1997].

#### *Preprocessing for SPM Asymmetry Index analysis*

##### Symmetric [<sup>18</sup>F]-MPPF PET template

We first constructed a symmetric [<sup>18</sup>F]-MPPF PET template in approximate standard MNI/ICBM152 stereotactic space using the following procedure, starting from our in-house MPPF template (T), which, as it was constructed in MNI/ICBM152 space, was naturally non-symmetric.

- (1) Flip the initial template (T) around the X-axis to create fxT.
- (2) Add T and fxT to create symT (symmetric, but not necessarily centred on the X=0 axis).

- (3) Coregister T and fxT on symT independently.
- (4) Compute the mean of T and fxT applying the coregistration matrix found in step (3), creating cT (centred, but not necessary symmetric).
- (5) Flip cT creating fxcT.
- (6) Compute the mean of cT and fxcT. This image is centred, symmetric and corresponds to our 'symmetric MPPF template' in the subsequent procedure.

#### AI map construction (detailed in figure 1)

Raw (unnormalized)  $BP_{ND}$  images of patients and controls were spatially normalized to this symmetric template using SPM5. Normalized  $BP_{ND}$  images were spatially smoothed using a 8mm isotropic Gaussian kernel. Areas with low  $BP_{ND}$  were excluded by thresholding at 0.05 to remove spurious values in low signal areas. The resulting thresholded and smoothed normalized image ( $V_{BP}$ ) was right-left reversed, providing its flipped  $BP_{ND}$  counterpart ( $fV_{BP}$ ). An asymmetry index volume ( $V_{AI}$ ) was then computed using SPM's Volumes Toolbox (<http://sourceforge.net/projects/spmtools>) according to the following formula:

$$V_{AI} = (V_{BP} - fV_{BP}) / (V_{BP} + fV_{BP}),$$

so that at each and every voxel, the resulting value represented the asymmetry index calculated at that position. Finally, we applied a second spatial smoothing using an isotropic 4mm Gaussian kernel. These resulted in a final smoothness of the SPM AI analysis of about ten to fifteen millimetres, similar to that of standard analysis.

## STATISTICAL ANALYSIS OF $BP_{ND}$ AND AI IMAGES

### *Statistical design for $BP_{ND}$ and AI analysis*

$BP_{ND}$  and AI images from patients were individually compared to control subjects'  $BP_{ND}$  and

AI images respectively, using SPM5's two-sample t-test, with an ANCOVA by subject, equal variance and without overall grand mean scaling. Analysis was restricted to voxels belonging to grey matter by applying a mask obtained by thresholding at  $x > 0.3$  the probabilistic map of grey matter within the SPM distribution (/spm5/apriori/grey.nii). Age and sex were modelled as covariates of no interest [Costes, et al., 2005]. Two different thresholds were applied for each analysis: (i)  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level, which represents a stringent statistical criterion for this type of analysis, and (ii)  $p < 0.05$  corrected at the cluster level (clusters are defined by voxels surviving a threshold of  $p < 0.001$  uncorrected).

***Direction of  $BP_{ND}$  abnormalities underlying AI increases***

As in our experience, the vast majority of [ $^{18}F$ ]MPPF-PET abnormalities observed in patients with TLE corresponds to decreases of  $BP_{ND}$ , we selected primarily the contrast 'Controls – Patients', which displayed significant AI resulting from decreased  $BP_{ND}$  on the same side as the underlying "standard"  $BP_{ND}$  abnormality. As shown in figure 2, the left half of the map corresponds to the following algebraic calculation:  $(\text{right hemisphere} - \text{left hemisphere})_{\text{patient}} - (\text{right hemisphere} - \text{left hemisphere})_{\text{controls}}$  so that any significant cluster reflects either a left sided  $BP_{ND}$  decrease or a right sided  $BP_{ND}$  increase in the patient as compared to controls. Conversely, the right half of the map corresponds to the following algebraic calculation:  $(\text{left hemisphere} - \text{right hemisphere})_{\text{patient}} - (\text{left hemisphere} - \text{right hemisphere})_{\text{controls}}$  so that any significant cluster reflects either a right sided  $BP_{ND}$  decrease or a left sided  $BP_{ND}$  increase in the patient as compared to controls.

To further ensure the direction of  $BP_{ND}$  changes underlying AI abnormalities, we used the results provided in the same brain regions by standard SPM analysis. When the latter were negative at the threshold considered for statistical significance (see above), we searched for clusters at  $p_{\text{uncorrected}} < 0.005$ , and if still negative at  $p_{\text{uncorrected}} < 0.01$ . This procedure allowed

in all cases to determine the type of abnormality underlying significant AIs.

### **INTERPRETATION OF $BP_{ND}$ PARAMETRIC IMAGES AND SPM MAPS**

According to previous findings [Didelot, et al., 2008,Lothe, et al., 2008,Merlet, et al.], the only clinically relevant abnormalities of [ $^{18}F$ ]MPPF scans to identify the EZ in TLE patients are decreases of  $BP_{ND}$ . We have thus limited our clinical analysis to data showing a  $BP_{ND}$  decrease either after standard SPM or AI analysis. Two criteria were considered, firstly the presence and location of clusters showing significant abnormalities, secondly the location of the maximal abnormality defined as the voxel from any significantly abnormal cluster that showed the highest Z score. We chose to consider three anatomical regions based on the EZ location to compare our different methods of analysis (visual, standard SPM and AI). The mesial temporal (MT) region included the amygdala, hippocampus, parahippocampal gyrus and the mesial aspect of the temporal pole. The lateral temporal (LT) region included the superior, middle, inferior temporal gyri and lateral occipitotemporal (fusiform) gyrus as well as the lateral aspect of the temporal pole. The third region (ET) included all extra-temporal cortical regions.

The visual analysis of  $BP_{ND}$  parametric images has been described in our previous study [Didelot, et al., 2008]. Briefly, all TLE scans intermixed with control scans from normal subjects matched for age and gender were visually and separately analyzed by three experts (AH, FM and PR) blind to clinical history and other presurgical data. Experts were asked to report on the presence and location of visible areas of BP decrease, but not on the location of the site with maximal abnormality since the latter could not be assessed visually in a reliable manner.

SPM maps were superimposed on MRI to precisely assess the anatomical location of all significant clusters and that of the voxel with the highest  $Z$  score, and to ascribe these abnormalities to one of the three anatomical regions described above (MT, LT or ET).

### **SENSITIVITY AND SPECIFICITY**

Sensitivity and specificity of each method of analysis were defined as follows: Sensitivity was defined as the proportion of [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF-PET showing a decrease of  $\text{BP}_{\text{ND}}$  located within the EZ out of all patients [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF-PET. Specificity corresponded to the proportion of [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF-PET showing the maximum of  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease located within the EZ. This latter definition of specificity was adapted to address the most frequent question raised in the clinical interpretation of PET findings in patients with epilepsy, which is that of the diagnostic value of either multiple or large abnormal areas of  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decrease encompassing both the EZ and other brain regions. Sensitivity and specificity of the two statistical analyses were compared one with the others using Mc Nemar test.

## RESULTS:

### Visual analysis

As described in details in our previous study [Didelot, et al., 2008], investigators agreed on the presence of a focal decreased  $BP_{ND}$  in 20 out of 24 patients (83%), including 100% of the 15 patients with  $MT_{HS}$ , but only three (60%) of the five  $MT_{noHS}$ , and 50% of the other patients (one  $NC_{MT}$  and one  $NC_{noMT}$  patient). These abnormalities primarily involved the epileptogenic temporal lobe in all cases, but extended to the temporal neocortex and/or extra-temporal regions in 14 (70%) of the 20 MT patients and to the extra-temporal region in one of the two  $NC_{MT}$  patients and to the mesial temporal region in one of the two  $NC_{noMT}$  patients.

### Standard SPM analysis

*Threshold:  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level (Figure 3)*

At least one significant cluster of decreased  $BP_{ND}$  was observed in 14 patients (58%) overall, 9/15 (60%) of  $MT_{HS}$  patients, 3/5 (60%) of  $MT_{noHS}$  patients, 1/2 (50%) of  $NC_{noMT}$  patients and none of the two  $NC_{MT}$  patients. These abnormalities were ipsilateral to the EZ in all cases, and involved the epileptogenic temporal lobe in 12/24 patients, i.e. the overall sensitivity was 50%. In one  $MT_{HS}$  and one NC patient, the only significant cluster was extra-temporal. The voxel with the highest Z-score was located in the mesio-temporal structures and hence correctly identified the EZ in seven  $MT_{HS}$  patients and one  $MT_{noHS}$  patient, whereas it was located in the lateral temporal cortex in two  $MT_{noHS}$  patients and one  $MT_{HS}$  patient, and in extra-temporal regions in one  $MT_{HS}$  patient. In the two NC patients with significant cluster(s) of decreased  $BP_{ND}$ , the voxel with the highest Z-score was located in the lateral temporal cortex in one patient, and in an extra-temporal region in the other. According to our definition, the specificity of this standard SPM analysis was 64% (representing 9/14 patients

in whom significant MPPF PET abnormalities were found and where the voxel with the highest Z-score was located in the EZ.

***Threshold:  $p < 0.05$ , corrected at the cluster level (Figure 4)***

At this more liberal threshold, five additional patients had significant clusters of decreased BP<sub>ND</sub>. These were located in the epileptogenic temporal lobe in four, and in ipsilateral extra-temporal regions in one. Overall, sensitivity increased from 50% to 67% (i.e. 16 out of 24 patients had a cluster of significantly decreased BP<sub>ND</sub> in the epileptogenic temporal lobe). Conversely, specificity decreased from 64% to 47%, with the voxel associated with highest Z-score being located within the EZ in only nine of the 19 patients with significant cluster(s) of decreased BP<sub>ND</sub> (seven MT<sub>HS</sub> patients and one NC patient). Six MT<sub>HS</sub> and three MT<sub>noHS</sub> patients had the highest Z-score voxel located either in the lateral temporal cortex (N=7) or in extra-temporal regions (N=2). Furthermore, one NC<sub>MT</sub> and one NC<sub>noMT</sub> patients had their maximum abnormality located in extra-temporal regions.

**Asymmetry index analysis**

***Threshold:  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level (Figure 3)***

A significant abnormality was observed in all patients at this threshold. In each patient, the comparison of the result with the standard SPM analysis demonstrated that the main AI cluster(s) always corresponded to a decreased BP<sub>ND</sub> ipsilateral to the epileptogenic temporal lobe. In all but two patients (#20 and #24), the significant AI cluster(s) involved the temporal lobe, yielding a sensitivity of 22/24 (92%; 15/15 (100%) for MT<sub>HS</sub>, 4/5 (80%) for MT<sub>noHS</sub>, 2/2 for NC<sub>MT</sub> and 1/2 for NC<sub>noMT</sub>). The voxel with the highest Z-score was located within the EZ in 21/24 patients, including all 15 MT<sub>HS</sub> patients, 4/5 (80%) MT<sub>noHS</sub> patients, and 2/4 (50%) for NC patients. The specificity was hence 21/24 (88%) according to our definition.

***Threshold:  $p < 0.05$  corrected at the cluster level (Figure 4)***

At this more liberal threshold, one additional NC patient had a significant cluster in the epileptogenic temporal lobe, increasing sensitivity from 92% to 96%, while specificity remained at 88%.

**Comparing visual, standard and AI SPM analyses**

Among the four patients where visual analysis did not detect any [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF-PET abnormality, all of whom had a normal MRI, standard SPM analysis detected significant cluster(s) in two but these were always restricted to extra-temporal regions. In contrast, AI SPM analysis detected at least one significant cluster in all four patients with a normal MRI, which included the epileptogenic temporal lobe in three.

AI analysis was more sensitive than standard analysis for both statistical SPM thresholds (Mc Nemar test  $p < 0.001$  for SPM threshold of  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level; Mc Nemar test  $p < 0.05$  for SPM threshold of  $p < 0.05$  corrected at the cluster level). Similarly, AI analysis was more specific than standard analysis (Mc Nemar test  $p < 0.005$  for both statistical thresholds). Figures 5 and 6 illustrate examples of improved gain in defining the EZ in two patients with similar  $\text{BP}_{\text{ND}}$  decreases on visual analysis.

## DISCUSSION

In this study we have developed a voxel based statistical analysis of the inter-hemispheric asymmetry index (AI) of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET images and validated this method in the context of pre-surgical evaluation of TLE patients. This approach proved highly sensitive for identifying focal BP<sub>ND</sub> decreases that correctly identified side, lobar and sub-lobar localization of the EZ in the majority of patients.

### Advantages of voxel based AI analysis

In the context of pre-surgical assessment of TLE functional neuroimaging is used in order to: *i*) identify the epileptogenic lobe, which represents a crucial prerequisite before performing a standardized temporal lobectomy [Mauguiere et Ryvlin, 2004], and: *ii*) more precisely delineate the EZ location within this epileptogenic temporal lobe, allowing individually tailored cortectomy when judged necessary. For instance, temporal lobe surgery sparing the hippocampus might offer improved memory outcome in patients where the hippocampus is neither atrophic nor involved at ictal onset [Mintzer et Sperling, 2008].

#### *i) Epileptogenic lobe identification*

Regarding the lateralization of the epileptogenic temporal lobe, voxel based AI analysis proved significantly more sensitive than standard SPM comparison of individual patient's data with those of a control group of healthy subjects, with a detection rate of 100% versus 58% at a statistical threshold of  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level. The reason for this difference is likely to primarily reflect the larger variation of BP<sub>ND</sub> values as compared to BP<sub>ND</sub> ratio at the voxel level across controls. Indeed, AIs allow within-subject normalization that has been found to be beneficial in other contexts, too [Hammers, et al., 2007].

The threshold of statistical significance had only a marginal impact on the sensitivity of voxel based AI analyses, changing from 96% for a frequently used thresholding in clinically oriented analysis of individual patients' data ( $p < 0.05$  corrected at the cluster level) to 92% using a more stringent threshold ( $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level). Furthermore, AI analysis detected a significant abnormality in all 4 patients where visual analysis was negative, half of which were co-localized with the EZ.

Several other computerised techniques based on ROI measurements have consistently demonstrated the effectiveness of AI analysis for lateralizing the EZ, using either [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET, alpha-methyl tryptophan or radio labelled ligands of benzodiazepine ([ $^{11}\text{C}$ ]flumazenil-PET) or 5HT $_{1A}$  receptors ([ $^{18}\text{F}$ ]FCWAY-PET) [Lin, et al., 2007, Muzik, et al., 1998, Toczek, et al., 2003]. The advantage of voxel based AI analysis is that, unlike methods based on ROIs, it does not require any *a priori* hypothesis on the location or extent of the suspected abnormalities. Van Bogaert et al [Van Bogaert, et al., 2000] proposed a similar approach for analysing AI of glucose metabolism using [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET in 12 TLE patients. As in our [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF PET study, this approach proved more reliable than standard SPM analysis in lateralizing the epileptogenic temporal lobe.

### *ii) Delineation of the EZ*

Specificity, defined here as the proportion of patients in whom the voxel showing the highest Z-score correctly identified the sub-lobar localization of the EZ, was also greater for AI than for standard SPM analysis, at both thresholds (88% versus 64% at  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level; 88% versus 50% at  $p < 0.05$  corrected at the cluster level).

Previous studies of AI have not addressed this issue, which in our view represents one of the major benefits of AI analysis as compared to visual analysis. Indeed, defining the area of maximal abnormality using visual analysis was extremely difficult and poorly reliable. The

great intra-hemispheric variability of MPPF binding between limbic, paralimbic and neocortical regions hampers any robust visual comparison of the degree of asymmetry across these various brain structures. Interestingly, the only two MT patients who were not completely seizure free (Engel class Ib / Ic) either had an extra-temporal maximal AI Z-score (#20) or a very large cluster extending to a large portion of the ipsilateral extra-temporal region (#13).

### **Limitations of voxel based AI analysis**

Several technical limitations of our procedure need to be discussed:

- i)* The generation of artefacts within a limited volume of several tens of voxels centered over the inter-hemispheric midline, which may hamper the interpretation of decreased  $BP_{ND}$  in mesial frontal, parietal and occipital cortical areas. These midline artefacts, which were observed in 21% of patients, have no major impact in TLE but limit the application of our method in patients with partial epilepsies suspected to involve mesial extra-temporal regions. This issue is also depending on the accuracy of the registration and normalization methods, which may potentially induce midline artefacts due to the flip of normalized images. Further refinements of image co-registration and normalization methods may help to address this issue.
- ii)* Another limitation of our method is the symmetrization of the physiologically asymmetrical brain. The deformation of the brain resulting from the normalization step to the symmetrical template is different for left and right hemispheres. This could potentially influence the yield of AI analysis as a function of the lateralization of the epileptogenic temporal lobe. Our findings did not suggest any such influence, since the same proportion of patients with

right or left TLE demonstrated significant AI abnormalities, regardless of their hemispheric dominance.

*iii)* Our method cannot directly provide information as to whether an abnormal AI primarily reflects increased binding on one side, or decreased binding on the other. However post-hoc analysis of standard SPM maps at various statistical thresholds easily allows determining which of the two above hypotheses is correct. In our populations of TLE patients, abnormal AIs within temporal lobes always reflected  $BP_{ND}$  decreases ipsilateral to the EZ. AI increases reflecting increased  $BP_{ND}$  were uncommon, only observed in extra-temporal regions, and always smaller and less significant than  $BP_{ND}$  decreases. From a practical point of view, our SPM script automatically generates AI and standard SPM maps allowing an unambiguous and time efficient detection and interpretation of significant AI abnormality in clinical practice. This SPM script is available from <http://www.cermep.fr>, allowing its rapid implementation in other centres.

### **Limitations of the study design**

The relatively limited number of patients, especially those with the EZ located in the lateral temporal neocortex (NC group), and the selection of seizure free post-surgical outcomes (Engel class I patients) that was needed to evaluate the sensitivity and specificity of our procedure is a limitation of our study. Thus this selection did not allow to address the issue whether patients with poor surgery outcome would present with AI patterns similar to, or different from, those observed in Engel class I patients. Similarly we did not explore the value of [ $^{18}F$ ]MPPF-PET and AI analysis in extra-temporal lobes epilepsy or temporal plus epilepsy [Ryvlin et Kahane, 2005]. As previously mentioned, MPPF binding shows large variations

across brain regions, being maximal in temporo-limbic brain structures, mid-level in para-limbic extra-temporal regions such as the insular, orbito-frontal and cingulate cortices, and low in other neocortical structures. One might anticipate that the sensitivity of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET will decrease as a function of 5-HT<sub>1A</sub> receptor density, and will therefore prove less effective in extratemporal lobe epilepsy. This, and the performance of combined standard and AI SPM analysis in truly bitemporal epilepsies, remains to be fully investigated.

### **Clinical relevance of AI analysis**

From a clinical point of view, [<sup>18</sup>F]MPPF-PET appears useful for TLE patients with normal MRI and/or normal [<sup>18</sup>F]FDG-PET, where it provides reliable information regarding the lateralization and localization of the EZ. In particular when MRI is normal, [<sup>18</sup>F]MPPF-PET findings might help deciding to perform and tailor an invasive intra-cranial EEG investigation.

Finally, one should keep in mind that, despite the concordance observed between the localization of the EZ and that of the maximal MPPF AI abnormality, the latter does not precisely map the extent of the EZ. Thus the area delineated by reduced tracer binding can be larger than the EZ. Intracerebral recordings of seizures have shown some correlation between cortical epileptogenicity and the degree of MPPF binding reduction in TLE. [Merlet, et al., 2004a], the BP<sub>ND</sub> decrease being significantly greater in regions involved in seizure onset than in those where only interictal or no epileptic activity was recorded. The good specificity (88%) shown in this study is in accordance with our previous finding obtained at the group level in patients whose EZ was defined by seizures onset in mesio-temporal structures using deep brain ictal recordings [Merlet, et al., 2004a].

We could not formally compare the specificity of visual and voxel-based AI analysis in this study, firstly because of our empirical definition of specificity, but also because the three experts involved in the visual inspection of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET images felt unable to reliably delineate the area of maximal BP<sub>ND</sub> decrease. Based on this latter consideration, and the finding that visual analysis identified abnormalities extending beyond the EZ in 70% of patients, we believe that voxel-based AI analysis provides clinically useful information in addition to those derived from visual analysis for detecting the most likely sub-lobar localisation of the epileptogenic zone.

Overall, the combined use of visual and voxel-based AI and standard SPM analysis improves the diagnostic yield of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET in patients with TLE candidates to epilepsy surgery. This approach deserves to be further developed with other PET tracers, including [<sup>18</sup>F]FDG-PET, as well as in extra-temporal lobe epilepsies. It should also facilitate a more objective comparison of the various imaging techniques used in the presurgical evaluation of refractory partial epilepsies.

**Acknowledgements:**

The authors thank Drs G Demarquay, C Fischer, J Isnard and D Rosenberg for their help in recruitment of patients. We are grateful to the CERMEP paramedical team for taking care of patients and control subjects and we are in debt to Dr D Le Bars and his collaborators for [<sup>18</sup>F]MPPF radiosynthesis. We also thank F Lavenne and C Pierre for their precious technical assistance.

**Table 1: Patients' clinical features.**

EZ: epileptogenic zone, \*: post-surgical follow up, MT<sub>HS</sub>: mesio-temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis, MT<sub>noHS</sub>: mesio-temporal lobe epilepsy without hippocampal sclerosis, NC<sub>MT</sub>: neocortical epilepsy with rapid invasion of the mesial temporal structures by the ictal discharge, NC<sub>noMT</sub>: neocortical epilepsy without rapid invasion of the mesial temporal structures by the ictal discharge, F: female, M: male, R: right, L: left, B: bilateral, ATL: anterior temporal lobectomy, TLNC: temporal lobectomy with extensive neocortical resection, Le: lesionectomy sparing mesiotemporal structures.

**Figure 1: Construction of Asymmetry Index maps**

Each step of the AI map construction is shown in A. to F. “Raw” BP<sub>ND</sub> images correspond to unnormalized BP<sub>ND</sub> images that have not been spatially normalized.

**Figure 2: Asymmetry Index analysis.**

A. Maps of the asymmetry indices obtained from control BP<sub>ND</sub> datasets.

B. Map of the asymmetry indices obtained from the BP<sub>ND</sub> images of the patient under study.

A maximum intensity projection viewed from above represents the AI map. The orange area corresponds to the contrast 'left hemisphere minus right hemisphere' and the green area to 'right hemisphere minus left hemisphere'. Resulting voxel based statistical analysis using SPM5 at  $p < 0.05$  corrected at the cluster level.

In this example, two clusters were identified by AI analysis:

- **1** (in the orange part of the maximum intensity projection):  $(\mathbf{R-L})_{\text{Patient}} > (\mathbf{R-L})_{\text{Controls}}$ , consistent with a left decrease or a right increase of MPPF BP<sub>ND</sub> in the patient,

- **2** (in the green part of the maximum intensity projection):  $(\mathbf{L-R})_{\text{Patient}} > (\mathbf{L-R})_{\text{Controls}}$ , consistent with a right decrease or a left increase of MPPF BP<sub>ND</sub> in the patient.

**Figure 3: Results of visual, standard and asymmetry index analysis.**

Statistical threshold:  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level.

MT<sub>HS</sub>: mesio-temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis on MRI, MT<sub>no HS</sub>: mesio-temporal lobe epilepsy with visually normal hippocampus on MRI, NC: neocortical epilepsy.

Regions of interest: MT: mesial temporal structures, LT: lateral temporal neocortex, ET: extra-temporal structures. The dot line delineates the suspected epileptogenic zone for each TLE subgroup: MT and LT for MT and NC patients respectively. Significant BP<sub>ND</sub> decreases are reported for each region of interest in grey. Black boxes represent the region where the voxel associated with the maximal Z-score is located.

**Figure 4: Results of visual, standard and asymmetry index analysis.**

Statistical threshold:  $p < 0.05$  corrected at the cluster level

For explanations, see legend for Figure 3.

**Figure 5: Results of visual, standard and asymmetry index analysis of a patient with mesio-temporal lobe epilepsy (MT<sub>noHS</sub>, patient #16).**

- A. Axial slice of the BP<sub>ND</sub> map in a plane along the long axis of the hippocampi showing visually detectable left-sided decreased MPPF binding involving the entire temporal lobe and extending to ipsilateral extra-temporal regions.
- B. Standard analysis: Projection of significant clusters obtained by SPM5 analysis at a statistical level of  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level onto patient's normalized MRI. The blue cross indicates the voxel with the highest Z-score located in the anterior part of the inferior temporal gyrus.
- C. Asymmetry index analysis: Projection of significant clusters obtained with SPM5 analysis at a statistical threshold of  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level onto patient's normalized MRI. The blue cross indicates the voxel with the highest Z-score, located within the epileptogenic hippocampus.

**Figure 6: Results of visual, standard and asymmetry index analysis of a patient with neocortical temporal lobe epilepsy (NC, patient #22).**

- A. Axial slide of the  $BP_{ND}$  map in a plane along the long axis of the hippocampi showing visually detectable left-sided decreased MPPF binding within the mesio-temporal structures (except for the head of the hippocampus), the lateral temporal neocortex, and ipsilateral extra-temporal regions.
- B. Standard analysis: Projection of significant clusters obtained by SPM5 analysis at a statistical level of  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level onto patient's normalized MRI. No significant cluster is found at this threshold.
- C. Asymmetry index analysis: Projection of significant clusters obtained with SPM5 analysis at a statistical threshold of  $p < 0.05$  FWE corrected at the voxel level onto patient's normalized MRI. The blue cross indicates the voxel with the highest Z-score, located in the inferior temporal gyrus about midway along its anterior-posterior extent.

**Table 1:**

Patient	Epilepsy	Age (years)	Gender	Handed- ness	Epilepsy duration (years)	Side of the EZ	Hippocampal sclerosis	Surgery	Engel class	Follow up* (months)
1	MT <sub>HS</sub>	24	F	R	18	R	R	ATL	1a	35
2	MT <sub>HS</sub>	50	F	R	49	R	R	ATL	1a	50
3	MT <sub>HS</sub>	55	M	R	46	L	L	ATL	1a	35
4	MT <sub>HS</sub>	50	F	L	10	L	L	ATL	1a	50
5	MT <sub>HS</sub>	32	F	B	17	R	R	ATL	1a	49
6	MT <sub>HS</sub>	44	F	R	11	R	R	ATL	1a	23
7	MT <sub>HS</sub>	29	M	R	26	R	R	ATL	1a	30
8	MT <sub>HS</sub>	61	F	R	55	R	R	ATL	1a	48
9	MT <sub>HS</sub>	35	M	R	34	R	R	ATL	1a	46
10	MT <sub>HS</sub>	23	M	B	22	R	R	ATL	1a	26
11	MT <sub>HS</sub>	46	M	R	18	L	L	ATL	1a	41
12	MT <sub>HS</sub>	40	M	R	30	R	R	ATL	1a	32
13	MT <sub>HS</sub>	31	M	R	26	R	R	ATL	1c	19
14	MT <sub>HS</sub>	35	M	R	29	R	B	ATL	1a	37
15	MT <sub>HS</sub>	36	M	R	31	R	R	ATL	1a	30

## Analyse de l'index d'asymétrie du MPPF dans l'épilepsie temporelle

16	MT <sub>noHS</sub>	39	F	B	39	L	No	ATL	1a	51
17	MT <sub>noHS</sub>	18	M	L	16	R	No	ATL	1a	22
18	MT <sub>noHS</sub>	41	F	R	37	L	No	ATL	1a	12
19	MT <sub>noHS</sub>	42	M	R	38	R	No	ATL	1a	53
20	MT <sub>noHS</sub>	60	M	R	40	L	No	ATL	1b	47
21	NC <sub>MT</sub>	51	F	R	36	R	No	TLNC	1a	8
22	NC <sub>MT</sub>	18	F	R	5	L	No	TLNC	1a	34
23	NC <sub>noMT</sub>	34	F	R	7	R	No	Le	1a	29
24	NC <sub>noMT</sub>	42	M	R	11	L	No	Le	1a	12

Figure 1:

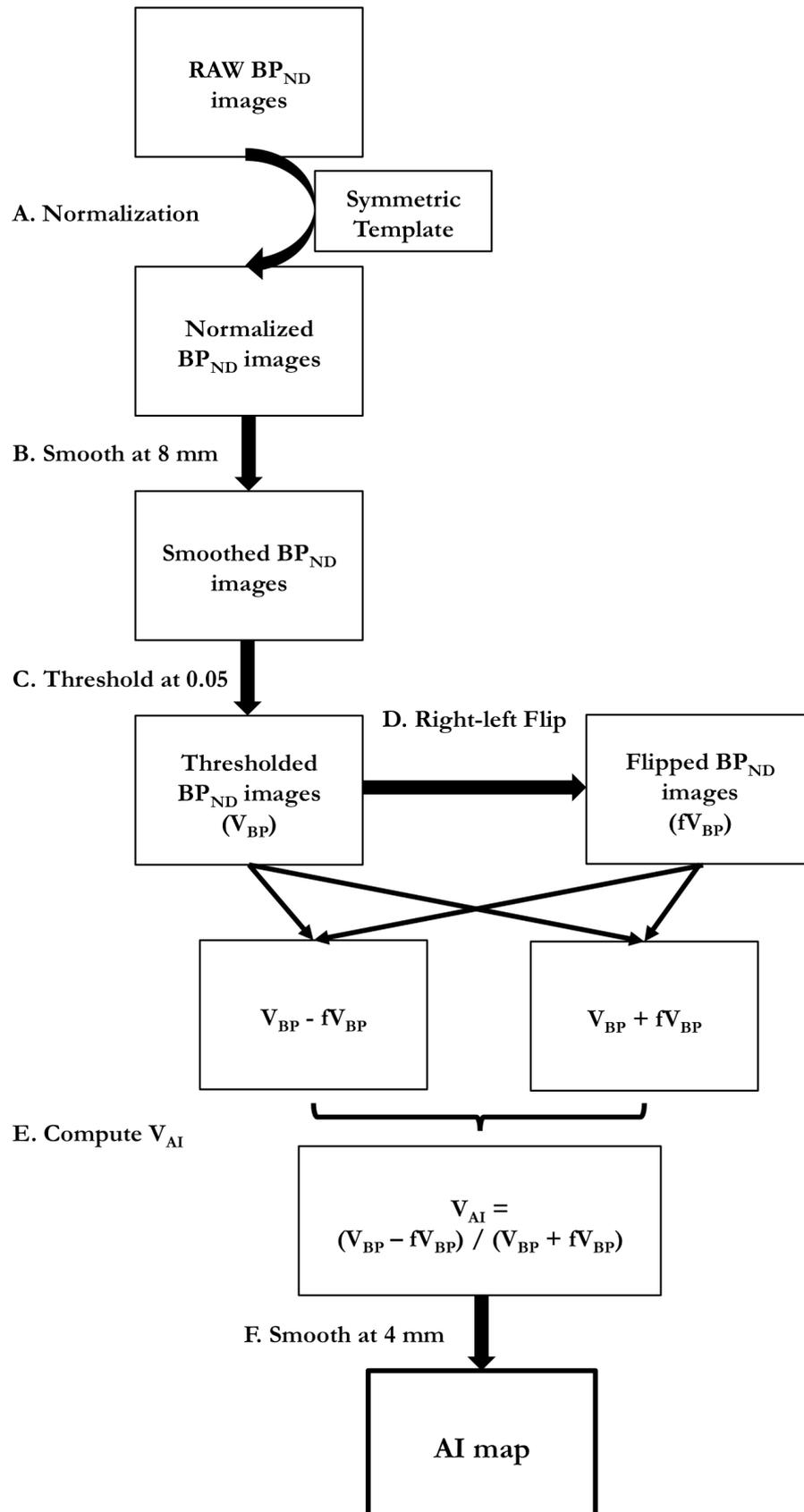


Figure 2:

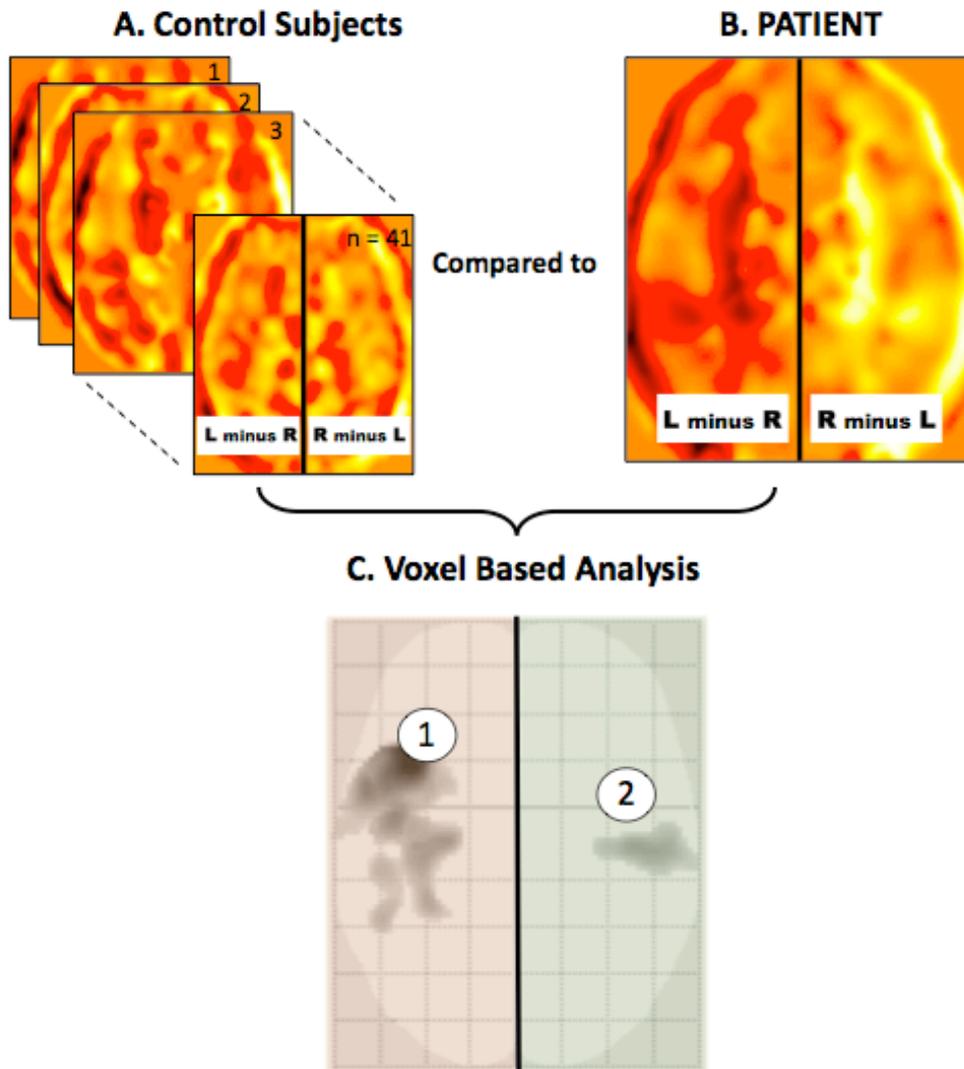


Figure 3:

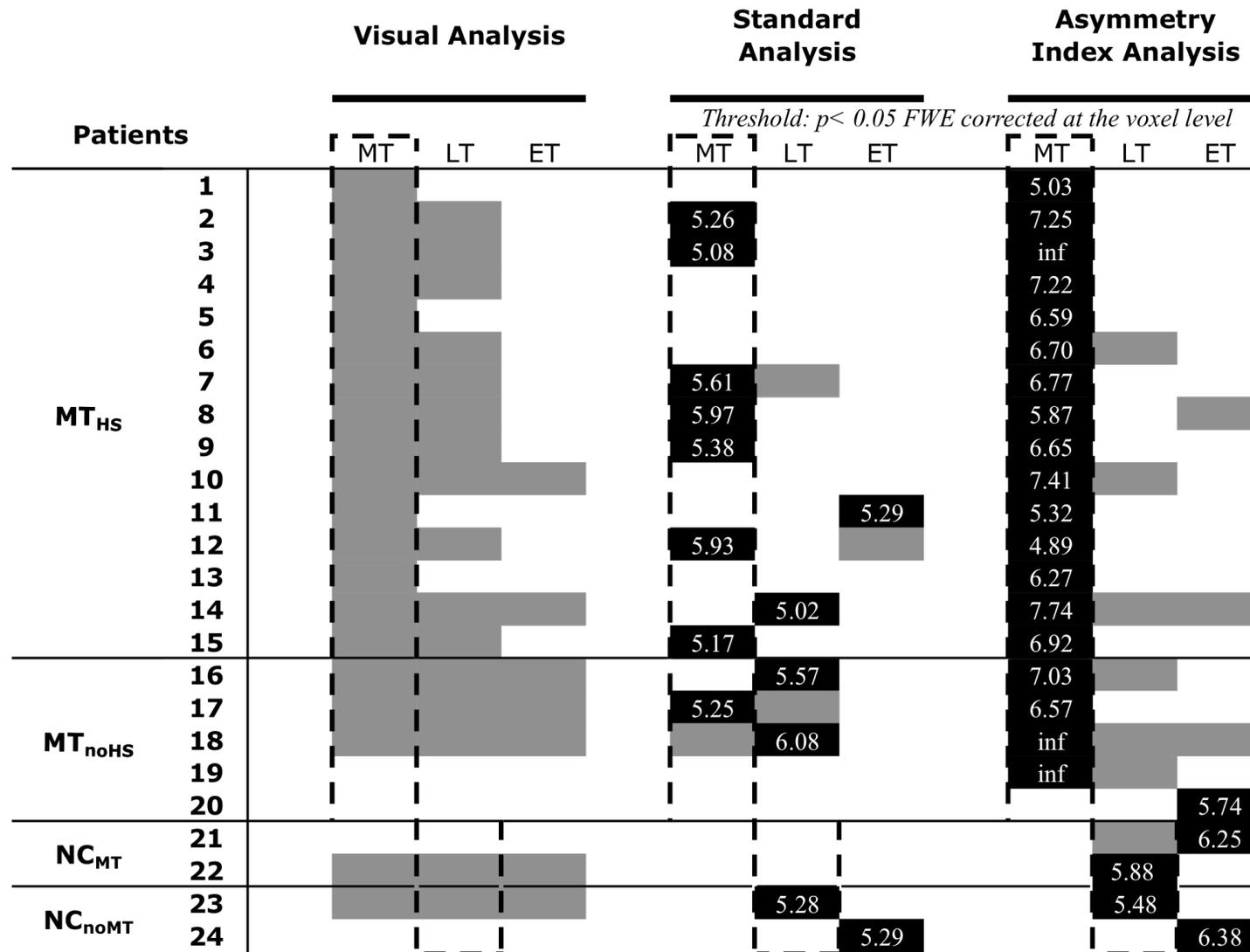


Figure 4:

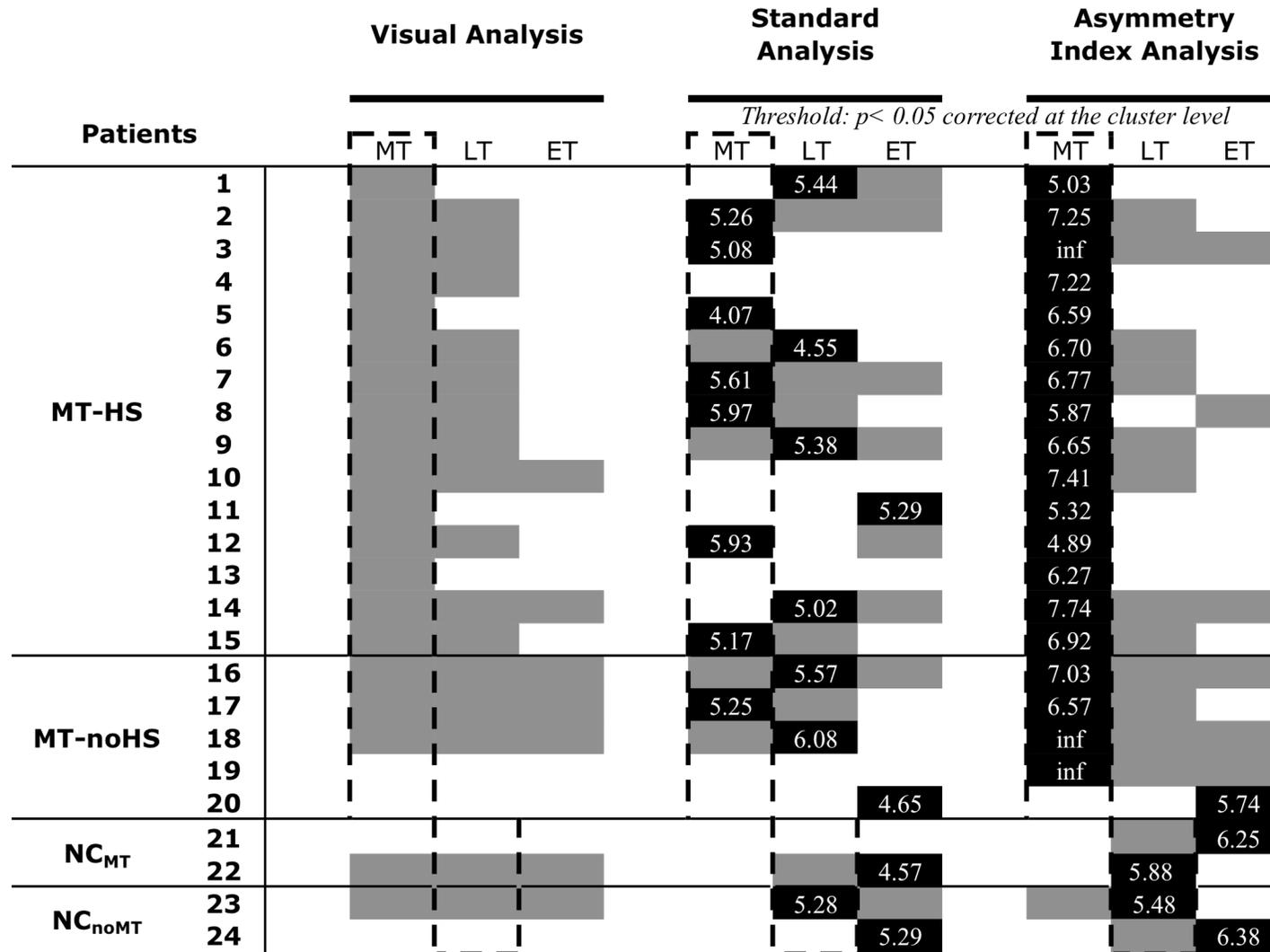


Figure 5:

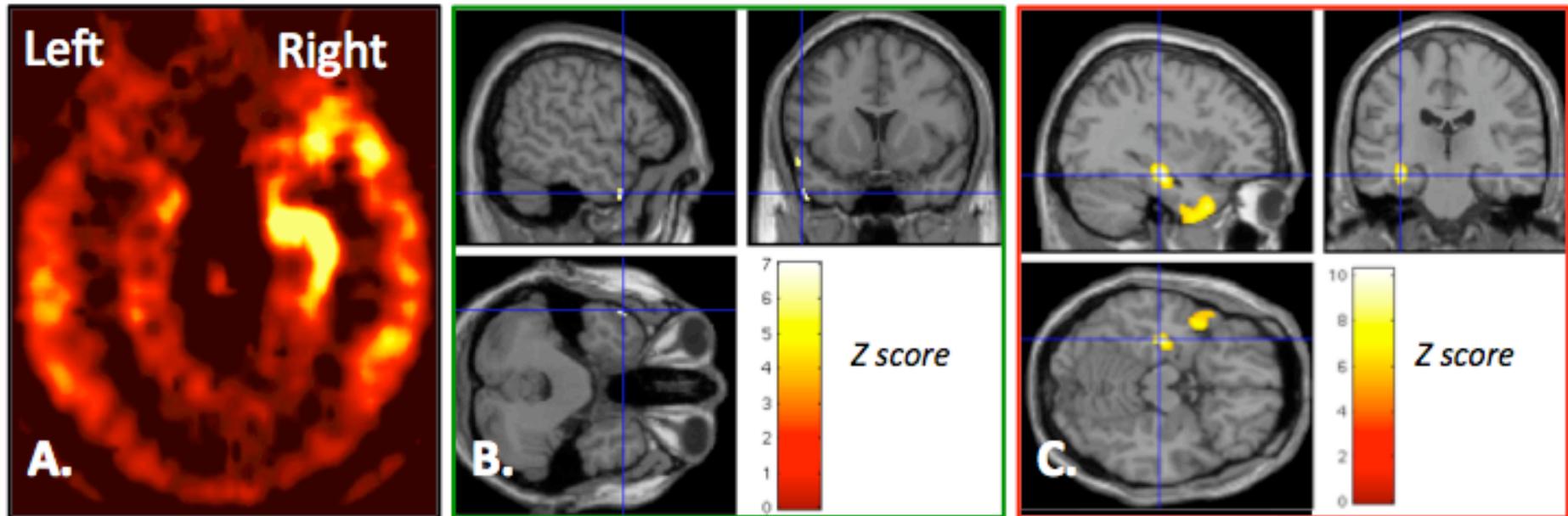
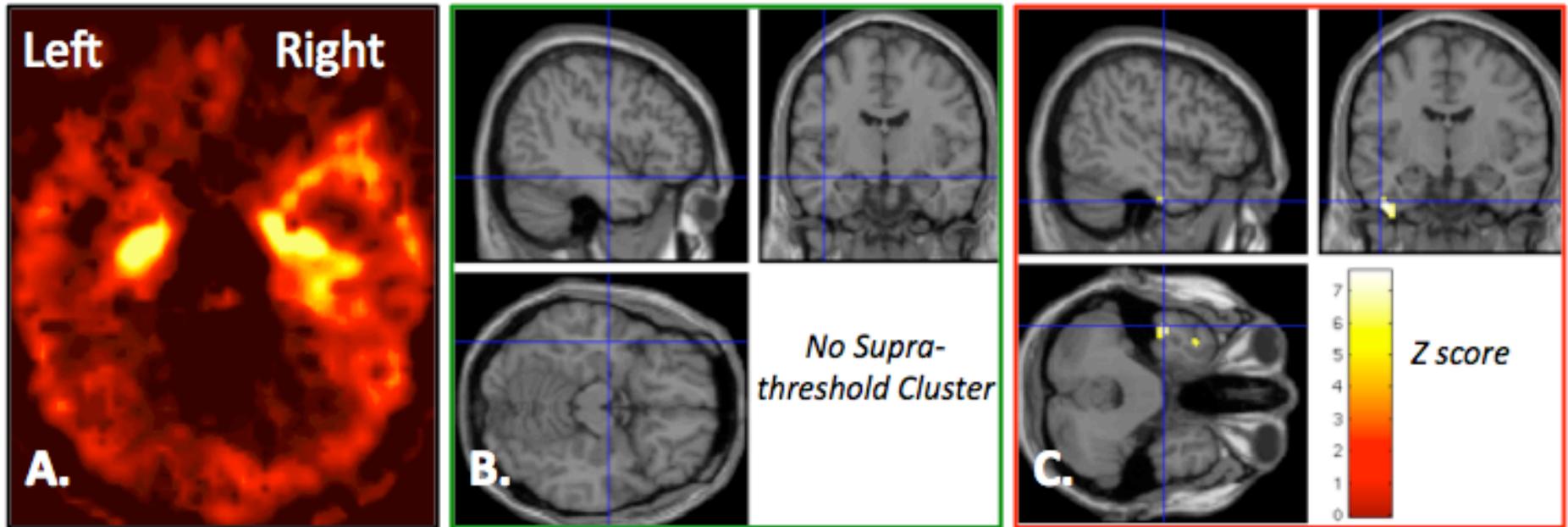


Figure 6:



**- Partie IV -**

**INFLUENCE DE LA DEPRESSION SUR LA FIXATION DU  
[<sup>18</sup>F]MPPF CHEZ LES PATIENTS SOUFFRANT D'ÉPILEPSIE  
DU LOBE TEMPORAL**

La première comorbidité des patients souffrant d'une épilepsie est les troubles de l'humeur. La dépression, dont la prévalence est de 11% à 60% selon les séries dans la population d'épileptiques [Kanner, 2003], est d'autant plus fréquente chez les patients souffrant d'une épilepsie temporale [Jones, et al., 2005].

La sérotonine joue un rôle physiopathologique important dans les épisodes dépressifs majeurs [Dhaenen, 2001, Drevets, et al.]. Il est ainsi observé dans ces situations pathologiques une diminution de la sérotonine plasmatique [Asberg, et al., 1976, Meltzer, 1990] associée à une réduction de la neurotransmission sérotoninergique [Lopez, et al., 1998].

Plusieurs études précédentes en TEP ont mis en évidence des modifications des récepteurs sérotoninergiques chez des patients dépressifs. Le radioligand utilisé était un antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, le [<sup>11</sup>C]WAY-100635, et les résultats obtenus discordants : les premières études montraient une réduction du potentiel de fixation du traceur dans différentes régions du cerveau [Bhagwagar, et al., 2004, Drevets, et al., 2000, Drevets, et al., 1999, Drevets, et al., 2007, Sargent, et al.] tandis qu'une étude récente, avec le même

radioligand montrait plutôt une tendance à l'augmentation du potentiel de fixation dans ces mêmes régions [Parsey, et al., 2006].

Il est dès lors apparu important de vérifier au sein de notre population de patients présentant une ELT quelles modifications des résultats de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF pouvaient être induites par un syndrome dépressif.

Cette hypothèse a fait l'objet d'une étude publiée dans la revue *Brain* :

*A. Lothe, A. Didelot, A. Hammers, N. Costes, M. Saoud, F. Gilliam and P. Ryvlin. Comorbidity between temporal lobe epilepsy and depression: a [<sup>18</sup>F]MPPF PET study. Brain, 2008.*

Cette publication a été intégrée dans un travail de thèse étudiant plus largement les différents facteurs pouvant rendre compte des modifications du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F] MPPF [Lothe, 2009].

## *Méthodes*

Vingt-quatre patients souffrant d'une ELT pharmacorésistante avec une SH unilatérale ont été recrutés. Les patients sous traitement antidépresseur tricyclique, IMAO ou inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine ont été exclus. Pour chaque patient, une TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF et une évaluation des symptômes dépressifs par un auto-questionnaire BDI-2 ont été réalisés.

Dans le cadre du bilan pré-chirurgical de l'ELT, chaque patient a aussi bénéficié d'une TEP au [<sup>18</sup>F]FDG et d'une IRM en séquence 3D pondérée en T1.

Les items de la BDI-2 peuvent être classés selon les types de symptômes évalués [Dunn, et al., 2002] : cognitifs, psychomoteurs, somatiques et végétatifs. Une relation entre les valeurs du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF et les scores obtenus (score principale et à chaque classe

de symptômes) à la BDI-2 a été recherchée. Pour se faire, une analyse par ANCOVA voxel à voxel a été effectuée avec le logiciel SPM2. Une analyse par ROI a été effectuée pour confirmer les résultats obtenus au niveau des noyaux du raphé.

Huit des 24 patients retenus souffraient d'une épilepsie temporale gauche. Les examens de ces patients ont été retournés par rapport au plan sagittal médian de façon à ce que le foyer épileptogène soit à droite chez tous les patients.

### *Résultats*

Parmi les 24 patients (12 hommes et 12 femmes) inclus dans cette étude, huit d'entre eux souffrent d'une ELT gauche et 16 d'une ELT droite. Neuf de ces 24 patients, dont huit souffrant d'une ELT droite, ont un score de BDI-2 supérieur à 11.

L'analyse visuelle des données TEP [<sup>18</sup>F]MPPF de ces patients montre une asymétrie marquée mésio-temporale du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF du côté du foyer épileptogène.

L'analyse SPM des données non flippées nous a permis de mettre en évidence une corrélation positive entre le BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF et le score total de BDI-2, le score reflétant les symptômes cognitifs et psychomoteurs/anhédoniques dans l'insula gauche. Les symptômes somatiques sont corrélés positivement au BP<sub>ND</sub> dans les gyri cingulaires moyens gauche et droit et les gyri frontaux inférieurs et moyens gauches. En revanche, aucune corrélation positive ou négative n'a été observée entre le BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF et les symptômes végétatifs.

L'analyse SPM des données flippées montre des résultats similaires, à savoir une corrélation positive entre le score de BDI-2 total, le score reflétant les symptômes cognitifs et psychomoteurs/anhédoniques et le BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF au niveau de l'insula controlatérale au foyer épileptogène. En revanche, les symptômes somatiques sont corrélés positivement au

BP<sub>ND</sub> dans l'hippocampe ipsilatéral au foyer épileptogène, le gyrus cingulaire moyen controlatéral et les gyri frontaux inférieur et moyen des deux côtés. En accord avec les résultats précédemment obtenus, aucune corrélation entre le BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF et les symptômes végétatifs n'a été mise en évidence.

L'analyse par ROI a confirmé ces résultats et démontré une corrélation positive entre le BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF des noyaux du raphé et le score total de BDI-2, ainsi que les scores des sous-classes de symptômes cognitifs et psychomoteurs/anhédoniques.

### *Discussion*

Cette étude a permis de mettre en évidence l'existence d'altérations complexes du système sérotoninergique chez des patients souffrant d'une ELT et de symptômes dépressifs.

L'affinité du [<sup>18</sup>F]MPPF pour les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> étant proche de celle de la 5-HT, l'interprétation de ces résultats nous a conduit à la formulation de plusieurs hypothèses (soit une diminution de la concentration extracellulaire de 5-HT, soit une augmentation du nombre de récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, soit une combinaison des deux phénomènes). Au vu des nombreux arguments de la littérature d'une neurotransmission sérotoninergique réduite dans la dépression, cette corrélation positive serait plus probablement le reflet de la diminution de la concentration extracellulaire de sérotonine plus importante chez les patients les plus déprimés.

Se pose dès lors la question de l'interférence de ces modifications avec l'épilepsie : les modifications observées du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF liées à la dépression peuvent-elles fausser l'interprétation épileptologique de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF ? Un argument plaide pour une relation forte entre épilepsie et dépression : la latéralisation des anomalies du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dues à la dépression sont dépendantes de la localisation de la ZE. Cependant, les anomalies significatives constatées dans cette étude sont des augmentations et concerne des

structures extra-hippocampiques. L'existence d'augmentations anormales ipsilatérales pourraient tendre à « gommer » une asymétrie pathologique plutôt que la faire apparaître artificiellement. Enfin, les augmentations controlatérales ne concernent pas les régions retrouvées asymétriques dans l'étude précédente.

Au total, les résultats de cette étude ne retrouvent aucun argument permettant de craindre que l'existence d'un syndrome dépressif chez un patient puissent obérer l'interprétation de la TEP au [<sup>18</sup>F]MPPF à visée épileptologique.

# Comorbidity between temporal lobe epilepsy and depression: a [<sup>18</sup>F]MPPF PET study

A. Lothe,<sup>1,2</sup> A. Didelot,<sup>3,4</sup> A. Hammers,<sup>5</sup> N. Costes,<sup>2,6</sup> M. Saoud,<sup>7</sup> F. Gilliam<sup>8</sup> and P. Ryvlin<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>CTRS-IDEE, Hospices Civils de Lyon, <sup>2</sup>INSERM U82I, University Claude Bernard Lyon I and Neuroscience Federative Institute of Lyon, Lyon, <sup>3</sup>Department of Functional Neurology and Epileptology, Hospices Civils de Lyon, <sup>4</sup>INSERM U879, University Claude Bernard Lyon I and Neuroscience Federative Institute of Lyon, Lyon, France, <sup>5</sup>Department of Clinical Neuroscience, Division of Neuroscience and Mental Health, Imperial College, London, UK, <sup>6</sup>CERMEP-imagerie du vivant, <sup>7</sup>EA4166 and CH le Vinatier, University Claude Bernard Lyon I and Neuroscience Federative Institute of Lyon, Lyon, France and <sup>8</sup>Department of Neurology, Columbia University, New York, NY, USA

Correspondence to: P. Ryvlin, Unité 30I, Hôpital Neurologique, 59 bd Pinel, 69003, Lyon, France  
E-mail: ryvlin@cermep.fr

**Brain and brainstem changes of serotonergic 5-hydroxytryptophan (5-HT)<sub>1A</sub> receptor density have been reported in patients with major depressive disorder as well as in patients with temporal lobe epilepsy (TLE), using PET and the selective antagonist radiotracers [<sup>11</sup>C]WAY-100635 or [<sup>18</sup>F]FC-WAY. We used a distinct 5-HT<sub>1A</sub> antagonist, [<sup>18</sup>F]MPPF, whose binding potential depends on both receptor density and extracellular serotonin concentration, in 24 patients with drug-resistant TLE and MRI evidence of hippocampal sclerosis but without prior antidepressant exposure. Their Beck Depression Inventory (BDI-2) score ranged from 0 to 34, with nine patients having a score >11. We used a simplified reference tissue model, statistical parametric mapping and anatomical regions of interest (ROIs) to correlate parametric images of [<sup>18</sup>F]MPPF BP with the total BDI score and its four subclasses. The total BDI score, as well as symptoms of psychomotor anhedonia and negative cognition, correlated positively with [<sup>18</sup>F]MPPF BP in the raphe nuclei and in the insula contralateral to seizure onset, whereas somatic symptoms correlated positively with [<sup>18</sup>F]MPPF binding potential in the hippocampal/parahippocampal region ipsilateral to seizure onset, the left mid-cingulate gyrus and the inferior dorsolateral frontal cortex, bilaterally. We confirm an association of depressive symptoms in TLE patients with changes of the central serotonergic pathways, in particular within the raphe nuclei, insula, cingulate gyrus and epileptogenic hippocampus. These changes are likely to reflect lower extracellular serotonin concentration in more depressed patients, with an upregulation of receptors a less likely alternative.**

**Keywords:** depressive symptoms; TLE; [<sup>18</sup>F]MPPF

**Abbreviations:** 5-HT = 5-hydroxytryptophan; BDI = Beck Depression Inventory; BP = binding potential; MDD = major depressive disorder; TLE = temporal lobe epilepsy

Received September 11, 2007. Revised July 26, 2008. Accepted July 31, 2008

## Introduction

Mood disorders are the most frequent psychiatric comorbidity in patients with epilepsy (Mendez *et al.*, 1986; Robertson, 1987), with a prevalence of depression estimated between 11% and 60% in patients with recurrent seizures (Kanner, 2003). Depression is reported most frequently in patients with temporal lobe epilepsy (TLE) (Jones *et al.*, 2005a), particularly in those with left TLE (Robertson, 1987; Altshuler *et al.*, 1990) and possibly hippocampal sclerosis (Quiske *et al.*, 2000).

Serotonin (5-hydroxytryptophan, 5-HT) is known to be involved in the pathophysiology of major depressive disorder (MDD) (Dhaenen, 2001; Drevets, 2002), with numerous studies showing a reduction of serotonin plasma concentration in patients with MDD (Asberg *et al.*, 1976; Meltzer, 1990) while pharmacological and post-mortem investigations suggest a reduction of serotonergic neurotransmission in this condition (Lopez *et al.*, 1998).

PET studies of 5-HT<sub>1A</sub> serotonergic receptors in depressed patients, using the antagonist [<sup>11</sup>C]WAY-100635,

have reported partly discordant results (Drevets *et al.*, 1999, 2000, 2007; Sargent *et al.*, 2000; Parsey *et al.*, 2006). While the original investigations showed a reduction of binding potential (BP) in various limbic and neocortical brain regions, as well as in the raphe nuclei, of untreated and treated MDD patients (Drevets *et al.*, 1999, 2000, 2007; Sargent *et al.*, 2000; Bhagwagar *et al.*, 2004), a recent study reported an increased BP in the same regions in MDD patients never exposed to antidepressants and no significant abnormality in those with previous exposure to these drugs (Parsey *et al.*, 2006). Another [<sup>11</sup>C]WAY-100635 study using an intrasubject design to compare patients before and after antidepressant exposure showed no difference between the two conditions. However, at baseline, future non-responders demonstrated higher bilateral orbitofrontal BP than future responders (Moses-Kolko *et al.*, 2007). These controversial findings might partly reflect a difference in the methods used to calculate BP (Innis *et al.*, 2007), as well as in the selected patient samples.

Abnormalities of the 5-HT<sub>1A</sub> receptors in similar regions have also been reported in TLE using various antagonists, including [<sup>11</sup>C]WAY-100635, [<sup>18</sup>F]FCWAY and [<sup>18</sup>F]MPPF (4-(2'-methoxyphenyl)-1-[2'-(*N*-2-pyridinyl)-*p*-fluorobenzamido]-ethyl-piperazine). All showed a BP reduction that predominated over the epileptogenic temporo-limbic structures (Toczek *et al.*, 2003; Merlet *et al.*, 2004a, b; Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Ito *et al.*, 2007). Some of these studies also found a negative correlation between various depression scales and 5-HT<sub>1A</sub> BP, suggesting lower BP in more depressed patients (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005). This correlation was observed ipsilateral to the epileptogenic temporal lobe, either in the anterior cingulate gyrus (Savic *et al.*, 2004) or in the hippocampus (Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). Accordingly, it was recently reported that TLE patients with a current or past history of MDD showed lower [<sup>18</sup>F]FCWAY binding than did TLE patients with no such history in hippocampus, temporal neocortex, anterior insula, anterior cingulate and raphe nuclei (Hasler *et al.*, 2007). All patients included in these studies were free from antidepressants but no information was provided regarding previous exposure to these drugs.

In the present study, we used another specific antagonist of 5-HT<sub>1A</sub> receptors, [<sup>18</sup>F]MPPF, in TLE patients with hippocampal sclerosis and no previous antidepressant exposure to investigate the correlation between 5-HT<sub>1A</sub> BP and various components of depressive symptoms, as measured with the Beck Depression Inventory (BDI-2) scale (Cathébras *et al.*, 1994). [<sup>18</sup>F]MPPF has a lower affinity for 5-HT<sub>1A</sub> receptors than WAY-100635, close to that of 5-HT [*K*<sub>i</sub> = 3.3 nM (Zhuang *et al.*, 1994)], allowing its displacement by endogenous serotonin (Zimmer *et al.*, 2002; Rbah *et al.*, 2003). It thus offers the possibility to further investigate changes of the serotonergic system that would not solely reflect 5-HT<sub>1A</sub> receptor density but also the extracellular concentration of endogenous 5-HT.

## Material and Methods

### Patients

We prospectively included 24 consecutive patients who fulfilled the following criteria: (i) drug-resistant focal epilepsy, (ii) ongoing pre-surgical evaluation, (iii) temporal lobe origin of seizures highly suggested by all available electroclinical data (Wieser *et al.*, 2004), (iv) MRI signs of hippocampal sclerosis with or without loss of grey-white matter demarcation in the anterior temporal lobe and no other significant MRI finding and (v) no previous or current exposure to antidepressants. All the selected patients also gave their informed consent to participate in this study, which was approved by the local Ethics committee (CCPPRB, Centre Léon Bérard, Lyon) in accordance with the Declaration of Helsinki. This series was independent from our previously published studies of [<sup>18</sup>F]MPPF-PET in seven patients with mesial temporal epilepsy, none of whom had benefited from a BDI assessment (Merlet *et al.*, 2004a, b).

All patients gave a detailed description of their past history and ictal symptoms and underwent long-term video-scalp-EEG monitoring that provided informative ictal electroclinical data. They all benefited from an optimal MRI, as well as an FDG-PET. In addition, four patients underwent an intracerebral EEG investigation, primarily prompted by the presence of ictal signs or symptoms, suggesting the possibility of 'temporal plus' epilepsy (Barba *et al.*, 2007). In these patients, the invasive investigation eventually demonstrated a temporo-limbic epileptogenic zone.

### Evaluation of depressive symptoms

At the time of referral to our epilepsy centre, none of the selected patients was diagnosed as suffering from any psychiatric disorder, including MDD, but this partly reflects the fact that patients with previous exposure to antidepressants were excluded from the study as well as the current state of underassessment of psychiatric comorbidity in patients with epilepsy in France.

On the day of the PET scanning, depressive symptoms were evaluated using the BDI-2 scale (Kazmark *et al.*, 2001). The BDI-2 is a validated self-rating questionnaire that consists of a 21-item scale, with four severity ratings for each item. Factor analysis has suggested that BDI-2 reflected one underlying second-order dimension of self-reported depression composed of two first-order factors representing cognitive and non-cognitive (somatic-affective) symptoms (Steer *et al.*, 1999). The cognitive dimension includes the following eight items: #2 (pessimism), #3 (past failure), #5 (guilty feelings), #6 (punishment feelings), #7 (self-dislike), #8 (self-criticalness), #9 (suicidal thoughts) and #14 (worthlessness), whereas the somatic-affective dimension is represented by all remaining 13 items. More recently, the dimensions of the BDI-2 were further divided into four symptom classes (Dunn *et al.*, 2002). One of these four dimensions, called negative cognition, includes six of the eight cognitive symptoms previously identified by Steer *et al.* (1999) (#3, #5, #6, #7, #8 and #14; see above). The other three components represent subscales of the somatic-affective dimension, as detailed below:

- psychomotor anhedonia includes items #4 (anhedonia), #11 (irritation), #12 (social anhedonia), #13 (difficulty making decisions) and #15 (ability to work);
- vegetative symptoms includes items #16 (late insomnia) and #18 (loss of appetite) and

- somatic symptoms includes items #19 (loss of weight) and #20 (health worries).

In this exploratory study, we hypothesized that regional brain changes in 5-HT<sub>1A</sub> receptor BP underlying the cognitive, psychomotor anhedonic, vegetative and somatic symptoms of depression might differ from one another and chose to look at the four dimensions proposed by Dunn *et al.* (2002).

The ability of the BDI-2 to identify major depression in patients with epilepsy has also been validated in a series of 174 subjects, using the Mini International Neuropsychiatric Interview and Mood Disorders module of the Structured Clinical Interview for Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Axis I Disorders-Research Version (Jones *et al.*, 2005b). ROC analysis showed that using a cutoff score of 11, the BDI-2 had a sensitivity of 0.962, a specificity of 0.8 and a negative predictive value above 0.99, indicating that any patients with a score  $\leq 11$  are very unlikely to suffer from MDD (Jones *et al.*, 2005b).

Our patients did not benefit from a standardized psychiatric interview technique as part of this study. The primary aim of our study was to correlate [<sup>18</sup>F]MPPF PET data with various symptoms of depression and not with the presence or absence of MDD. However, the mental health of our patients was systematically assessed during their pre-surgical evaluation through a multi-level and individualized procedure. The latter always included a clinical assessment performed by the senior epileptologist in charge of the pre-surgical evaluation, in order to determine whether or not the patient was psychologically amenable to surgery and the risk of postoperative psychiatric complications. A second level of assessment, performed in the majority of patients, consisted of a global cognitive and psychological evaluation by a clinical neuropsychologist. A third step was performed by a psychiatrist in patients selected through the two former evaluations and consisted of a standardized psychiatric interview. The majority of our patients who showed a BDI-2 score  $>11$  (7 out of 9) underwent this third assessment. The delay between this psychiatric evaluation and the BDI-2 assessment varied from 1 week to 6 months. In contrast, the majority of those with a BDI-2 score  $<11$  only benefited from the two first steps. As noted above, the chance that any of these latter patients suffered from MDD is  $<1\%$ .

### PET acquisition

The methodology of tracer production, scan acquisition and data pre-processing has been previously described (Merlet *et al.*, 2004a; Costes *et al.*, 2005). Briefly, [<sup>18</sup>F]MPPF PET studies were performed using a CTI-SIEMENS HR+ camera (Knoxville, TN, USA) in the afternoon. Prior to the emission acquisition, a 10 min transmission scan was performed. After intravenous injection of a bolus of  $181.4 \pm 32.1$  MBq (mean  $\pm$  SD) of [<sup>18</sup>F]MPPF into a radial vein of the left arm, the dynamic PET emission scan, consisting of 35 frames of increasing duration, was acquired to evaluate the local radioactivity concentration during 60 min post-injection. Patients were closely supervised throughout the whole PET acquisition and kept awake by talking to them when their level of vigilance dropped. Images were corrected for scatter and attenuation and reconstructed by 3D filtered back projection (Hanning filter) to provide a volume of 63 slices (2.42 mm thickness) with  $128 \times 128$  voxels in plane ( $2.06 \times 2.06$  mm).

### Pre-processing and visual analysis of PET data

A frame-to-frame realignment was systematically performed in Activis 2.8 (<http://www.isc.cnrs.fr/the/activis.html>). A previously validated simplified reference tissue model (Gunn *et al.*, 1998) was then used to generate parametric images of BP values [BP<sub>ND</sub> (non-displaceable) in consensus nomenclature (Innis *et al.*, 2007)]. Cerebellar white matter, which is assumed to be devoid of 5-HT<sub>1A</sub>-specific binding, was used as a reference region (Costes *et al.*, 2002).

Two of the investigators (A.D. and P.R.) independently reviewed the parametric images of BP<sub>ND</sub> of all patients and reported all visually detectable asymmetries thought to be clinically significant.

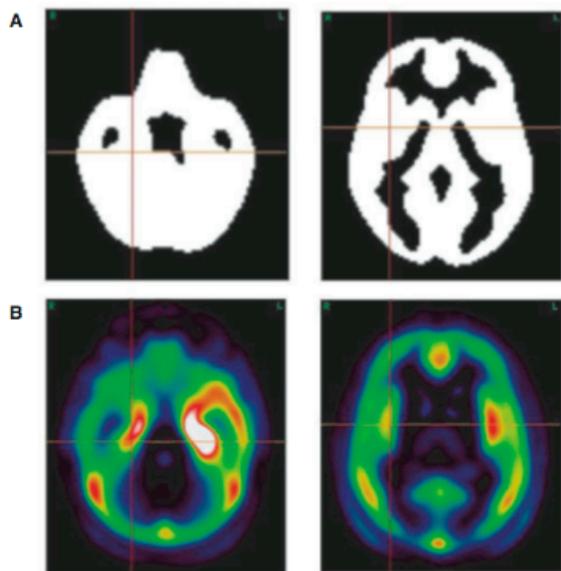
Using Statistical Parametrical Mapping (SPM2, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, London, UK; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>), parametric images of BP<sub>ND</sub> were transformed into a standard stereotaxic space (MNI/ICBM152) using a ligand-specific template produced in-house and resliced to voxels of dimensions  $2 \times 2 \times 2$  mm. Normalized BP<sub>ND</sub> images were then smoothed using an  $8 \times 8 \times 8$  mm FWHM isotropic Gaussian kernel to take into account interindividual anatomical variability and to improve the sensitivity of the statistical analysis (Friston *et al.*, 1991).

### Voxel-based analysis of PET data

All analyses were performed using SPM2 and an explicit mask that includes the entire brain and brainstem. In order to restrict our analysis to grey matter areas that contain a significant amount of 5-HT<sub>1A</sub> receptors, we further used an implicit mask that excluded all voxels in which BP<sub>ND</sub> was  $<20\%$  of the mean brain and brainstem activity. The resulting mask adequately delineated the cortex but failed to sample the raphe nuclei within the brainstem due to the important partial volume effect affecting this region. The latter was thus only evaluated using a region of interest [see Regions of interest analyses]. The threshold of 20% used for constructing the above mask adequately sampled the grey matter but might have excluded some voxels in epileptogenic brain regions showing a dramatic decrease in BP<sub>ND</sub>. To ensure that this did not affect our main findings, we reprocessed our analyses using an explicit mask of the grey matter without any additional implicit mask. This explicit mask was constructed from a segmented normal MRI template that included all voxels having a probability of 40% or more to belong to grey matter (Fig. 1).

We first extracted the global average BP<sub>ND</sub> values of each individual and looked for correlations between this value and the total BDI score as well as the scores for each of the four symptom classes (negative cognition, psychomotor-anhedonia, vegetative symptoms and somatic symptoms), using the bivariate correlation and Pearson coefficient function of SPSS (version 12.0 for Windows), with a bilateral level of significance at  $P < 0.05$ .

We then searched for correlations between BP<sub>ND</sub> values and depressive symptoms using the analysis of covariance function of SPM, with a linear model at each and every voxel (Friston *et al.*, 1995). This analysis was performed for the total BDI and the four symptom class scores. For each analysis, two contrasts were tested that looked for positive correlations (increasing BP<sub>ND</sub> values with increasing BDI score) and negative correlations (decreasing BP<sub>ND</sub> values with increasing BDI score). The global BP<sub>ND</sub> was designated as a covariable of no interest. We processed all analyses using a visualization threshold of  $P < 0.01$  at the voxel level but only retained clusters that were significant at the conventional  $P < 0.05$  threshold at the cluster level after SPM standard correction for



**Fig. 1** (A) Illustration of the explicit mask of the grey matter used in this study (axial slices at the level of the hippocampus and the insula). R = right; L = left. (B) Average [<sup>18</sup>F]MPPF-BP<sub>ND</sub> PET volumes of our 24 patients, with the volume of the 8 patients with a left TLE being flipped so that all epileptogenic temporal lobes are right sided. A clear cut asymmetry is observed over the temporolimbic regions and the insula, ipsilateral to epileptogenic temporal lobe. R = right; L = left.

multiple comparisons. These results will be presented as  $P_{corrected}$  values according to SPM nomenclature.

The above analyses were performed in a mixed population of patients with right and left TLE and thus searched for correlation between depressive symptoms and BP<sub>ND</sub> values in brain regions regardless of their lateralization with respect to the epileptogenic temporal lobe. To further investigate this issue, we reprocessed the same analyses after flipping the PET volume of the eight patients with left TLE in order to get all epileptogenic temporal lobes lateralized to the right. Thus, left-sided correlations corresponded to brain regions contralateral to the epileptic temporal lobe and vice versa. Previous studies of [<sup>11</sup>C]flumazenil PET, [<sup>11</sup>C]diprenorphine PET and [<sup>18</sup>F]MPPF PET have used the same methodology in populations of patients with right- and left-sided epileptogenic zones (Hammers *et al.*, 2002, 2003, 2007; Merlet *et al.*, 2004a). We will further refer to this analysis as the 'flipped PET data' analysis to facilitate its presentation in the following sections, although only one-third of all PET volumes (corresponding to the eight patients with left TLE) were actually flipped.

### Regions of interest analyses

The major role played by the raphe nuclei in the regulation of the central serotonergic system and in the pathophysiology of MDD provided a strong rationale for specifically looking at this structure in our study. Since the raphe nuclei cannot be delineated on MRI but are the only detectable brainstem structure on [<sup>18</sup>F]MPPF PET images, we traced a region of interest (ROI) encompassing this structure on an average [<sup>18</sup>F]MPPF-PET image obtained from the

24 patients' normalized datasets by thresholding the activity at 90% of the local maximum in the brainstem. This ROI extended on the 13 consecutive slices displaying the raphe, with a total volume of 400 mm<sup>3</sup>.

We also used anatomical ROIs extracted from a brain atlas (Kabani *et al.*, 1998) to measure the BP<sub>ND</sub> in cortical regions where voxel-based analysis disclosed significant correlations with BDI, in order to confirm this finding at the level of pre-defined anatomical regions. As for SPM analyses, we evaluated left- and right-sided ROI values, regardless of the lateralization of the epileptic temporal lobe, as well as ROI data contralateral and ipsilateral to the side of seizure onset.

We searched for correlations between BP<sub>ND</sub> values and depressive symptoms using the partial correlation and Pearson coefficient function of SPSS (version 12.0 for Windows), with the global BP<sub>ND</sub> as a control variable. For the raphe nuclei, we used a bilateral level of significance at  $P < 0.05$ , whereas we used a unilateral level of significance at  $P < 0.05$  for the other ROIs, since these analyses aimed at confirming correlations previously shown by SPM analysis, the sign of which was thus specified. For the same reason, we did not further correct these analyses for multiple comparisons.

### Post hoc ROI analyses

The conventional and flipped PET data analyses disclosed ambiguous results by showing very comparable lateralized findings pointing to the left hemisphere and that contralateral to seizure onset, respectively. In order to further investigate this issue, we performed additional ROI analyses in the subgroups of right and left TLE patients, separately, using the same methodology as above. Again, because these *post hoc* analyses aimed at exploring the most likely interpretation of our previous findings, and did not intend to disclose new correlations, we did not apply further corrections for multiple comparisons.

## Results

### Clinical data

There were 12 males and 12 females with a mean age of 37.6 years (SD = 11.2 years; Table 1). Eight had left TLE and 16 had right TLE. The median duration of their epilepsy was 30.5 years (range, 10–55 years).

BDI scores ranged from 0 to 34 (median = 7), with nine patients reporting a score >11, eight of whom suffered from right TLE. Among these nine patients, seven had a psychiatric evaluation, including all six who were operated on. Among the seven evaluated patients, five fulfilled the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders criteria of MDD, whereas the two remaining patients were considered to suffer a milder form of depressive disorder. Among the two patients with BDI-2 score above 11 who were not evaluated by a psychiatrist, one was considered to suffer depression by the epileptologist in charge of the pre-surgical evaluation, but the patient declined to be referred to a psychiatrist for further evaluation, whereas the other was not diagnosed as being depressed during his pre-surgical evaluation. No other major psychiatric illness, including bipolar disease and schizophrenia, was noted in these 9 patients or in the 15 subjects with a BDI-2 score <11.

**Table 1** Patients' clinical data

Patient	Gender	Age (years)	BDI score	Pre-surgical Mental Health assessment	MRI findings (visual analysis)	Age at first seizure	Duration of epilepsy (years)	Antiepileptic drugs
1	M	28	20	Mild depression disorder <sup>a</sup>	L HS + ISWM	7 years	21	CBZ; TPM; LTG; VGB
2	M	46	1	—	LHS	28 years	18	CBZ; LEV
3	F	35	10	—	LHS	16 years	19	CBZ; LEV
4	M	48	3	—	LHS	30 years	18	CBZ; LEV
5	M	55	2	—	LHS	9 years	46	PHT; LEV
6	F	50	7	—	LHS	40 years	10	OXC; LEV
7	F	41	7	—	LHS	6 years	35	CBZ; LEV; GBP
8	F	39	5	—	L HS + ISWM	6 months	39	OXC; VPA; LEV
9	M	29	2	—	RHS	3 years	26	CBZ; LTG
10	M	20	24	Major depression disorder <sup>a</sup>	R HS	3 years	17	CBZ; TPM
11	F	36	0	—	RHS	6 years	30	CBZ; LTG
12	F	24	24	Major depression disorder <sup>a</sup>	R HS	6 years	18	GBP
13	M	36	23	Major depression disorder <sup>a</sup>	R HS	8 months	36	CBZ; PHB; LEV
14	M	18	4	—	R HS + ISWM	6 years	12	TPM
15	F	50	20	Mild depression disorder	R HS	9 months	49	PHT; LEV; GBP
16	F	61	4	—	RHS	6.5 years	55	CBZ; TPM
17	F	34	2	—	RHS	2.5 years	32	PHB; TPM
18	M	31	34	Major depression disorder <sup>a</sup>	R HS	at birth	31	CBZ; PHB; GBP
19	M	35	18	—	RHS	15 months	34	VPA; LTG; LEV
20	F	48	30	Major depression disorder <sup>a</sup>	R HS	9 months	47	CBZ; PHB; LTG; LEV
21	M	23	13	Mild depression disorder <sup>a</sup>	R HS + ISWM	9 months	22	CBZ; LEV
22	F	32	4	—	RHS	15 years	17	CBZ; LEV
23	F	44	7	—	RHS	33 years	11	PHB; PHT; LEV
24	M	40	6	—	RHS	10 years	30	OXC

M = male; F = female; L = left; R = right; HS = hippocampal sclerosis; ISWM = increased T<sub>2</sub>-weighted signal in anterior temporal white matter; CBZ = carbamazepine; TPM = topiramate; LTG = lamotrigine; VGB = vigabatrin; CBZ = carbamazepine; LEV = levetiracetam; OXC = oxcarbazepine; GBP = gabapentin; PHB = phenobarbital; PHT = phenytoin; VPA = valproic acid; N/A = not applicable.

<sup>a</sup>Diagnosis based on a standardized psychiatric interview.

There was no difference in the proportion of patients with a BDI lower or greater than 11 receiving AEDs known to promote the release of serotonin. Indeed, 78% of patients with a BDI >11 were treated with carbamazepine, oxcarbazepine or lamotrigine at the time of the PET study, as compared with 73% of those with a BDI <11. Two patients in each group received a combination of carbamazepine and lamotrigine.

### Visual analysis of PET data

The two investigators detected an asymmetry of regional BP<sub>ND</sub> in all 24 patients. This abnormality always predominated over the mesial and polar aspects of the temporal lobes and pointed to lower BP on the side of the atrophic hippocampus and TLE.

### Analysis of global BP<sub>ND</sub> values

There was no correlation between the global BP<sub>ND</sub> and either the total BDI score or that of the four symptom classes (Table 2).

### Voxel-based analysis of PET-data

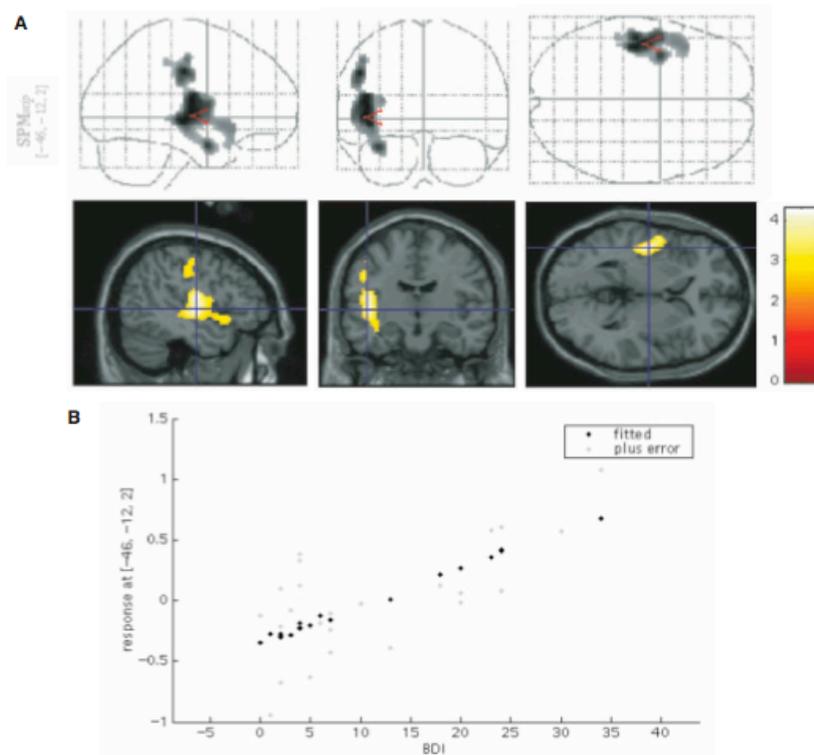
We found a positive correlation between the total BDI score and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> within a single cluster that primarily included the left insula and extended towards the adjacent

left parietal operculum and inferior post-central cortex ( $P_{\text{corrected}} = 0.006$ ; Fig. 2). There was no negative correlation between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> and BDI score. Similarly, positive but no negative correlations were demonstrated between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> and three of the four symptom classes of the BDI (Table 3). These correlations were observed within the same cluster as above for symptoms of negative cognition ( $P_{\text{corrected}} < 0.001$ ; Fig. 3) and psychomotor-anhedonia ( $P_{\text{corrected}} < 0.001$ ). In contrast, somatic symptoms correlated positively with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in three other clusters corresponding to the left mid-cingulate gyrus ( $P_{\text{corrected}} = 0.001$ ), and the right ( $P_{\text{corrected}} < 0.001$ ) and left ( $P_{\text{corrected}} < 0.001$ ) middle and inferior frontal gyri (Fig. 4). Vegetative symptoms did not correlate with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in any region.

These results were partly modified by flipping the PET volume of the 8 patients with a left TLE, resulting in the epileptogenic temporal lobe of all 24 patients being lateralized to the right (Table 3). Symptoms of negative cognition and psychomotor anhedonia still positively correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the insula and adjacent parietal operculum and post-central region contralateral to the epileptogenic temporal lobe (negative cognition:  $P_{\text{corrected}} = 0.009$ ; psychomotor-anhedonia:  $P_{\text{corrected}} = 0.005$ ; Fig. 5), but the total BDI score only showed a non-significant trend towards the same correlation with an

**Table 2** [<sup>18</sup>F]MPPF-PET BP<sub>ND</sub> values in regions showing correlations with depressive symptoms

Patient #	Side of TLE	Global BP <sub>ND</sub>	Raphe Nuclei	Insula		Post-central		Cingulate		Middle Frontal		Inferior Frontal		Hippocampus		Para-hippocampal	
				Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left	Right	Left
1	Left	0.471	0.284	0.911	0.581	0.479	0.428	0.536	0.511	0.490	0.391	0.545	0.368	1.235	0.588	0.715	0.480
2	Left	0.435	0.098	0.642	0.436	0.273	0.243	0.422	0.441	0.341	0.316	0.599	0.458	0.068	0.658	0.773	0.618
3	Left	0.580	0.295	0.820	0.718	0.526	0.519	0.792	0.772	0.657	0.589	0.687	0.597	1.155	0.683	0.764	0.576
4	Left	0.415	0.148	0.764	0.711	0.228	0.257	0.518	0.487	0.366	0.382	0.487	0.441	1.219	0.830	0.767	0.580
5	Left	0.395	0.083	0.752	0.483	0.285	0.316	0.515	0.454	0.318	0.301	0.417	0.370	0.942	0.339	0.704	0.423
6	Left	0.383	0.087	0.684	0.565	0.313	0.254	0.419	1.409	0.361	0.315	0.485	0.346	1.089	0.621	0.671	0.498
7	Left	0.434	0.243	0.815	0.562	0.373	0.405	0.492	0.513	0.414	0.401	0.478	0.399	1.406	0.555	0.805	0.469
8	Left	0.487	0.220	0.793	0.613	0.418	0.458	0.500	0.497	0.495	0.407	0.506	0.389	1.125	0.572	0.632	0.432
9	Right	0.500	0.088	0.693	0.738	0.458	0.454	0.575	0.561	0.534	0.521	0.571	0.510	0.539	0.965	0.508	0.646
10	Right	0.410	0.178	0.489	0.731	0.284	0.353	0.591	0.543	0.452	0.411	0.407	0.451	0.647	1.033	0.602	0.723
11	Right	0.480	0.223	0.721	0.814	0.373	0.427	0.546	0.522	0.453	0.472	0.515	0.477	0.528	1.155	0.597	0.682
12	Right	0.610	0.318	0.937	0.969	0.579	0.642	0.714	0.724	0.658	0.606	0.695	0.604	1.157	1.658	0.880	0.857
13	Right	0.519	0.273	0.878	0.874	0.439	0.471	0.599	0.582	0.543	0.485	0.516	0.454	0.904	1.136	0.773	0.670
14	Right	0.532	0.168	0.653	0.813	0.510	0.576	0.616	0.569	0.657	0.626	0.651	0.586	0.570	1.192	0.563	0.862
15	Right	0.446	0.231	0.613	0.714	0.356	0.392	0.570	0.561	0.387	0.388	0.541	0.454	0.664	1.183	0.687	0.830
16	Right	0.500	0.209	0.793	0.831	0.286	0.327	0.674	0.617	0.511	0.444	0.602	0.538	0.829	1.414	0.735	0.952
17	Right	0.400	0.006	0.468	0.627	0.387	0.345	0.529	0.499	0.533	0.452	0.390	0.334	0.613	0.881	0.497	0.496
18	Right	0.424	0.259	0.619	0.795	0.330	0.388	0.517	0.535	0.421	0.402	0.537	0.458	0.733	1.319	0.705	0.683
19	Right	0.460	0.133	0.642	0.758	0.376	0.525	0.645	0.592	0.457	0.469	0.436	0.508	0.325	0.780	0.453	0.560
20	Right	0.492	0.194	0.608	0.855	0.420	0.463	0.512	0.494	0.475	0.410	0.443	0.416	0.804	1.303	0.638	0.762
21	Right	0.295	0.036	0.441	0.643	0.157	0.262	0.385	0.231	0.344	0.299	0.297	0.292	0.261	0.956	0.390	0.332
22	Right	0.512	0.160	0.704	0.764	0.504	0.525	0.640	0.590	0.535	0.529	0.619	0.487	0.853	1.390	0.763	0.822
23	Right	0.420	0.215	0.554	0.677	0.403	0.368	0.448	0.381	0.268	0.249	0.358	0.247	0.755	1.336	0.675	0.824
24	Right	0.498	0.172	0.585	0.747	0.460	0.428	0.558	0.520	0.476	0.412	0.579	0.427	0.835	1.151	0.726	0.801



**Fig. 2** (A) Positive correlation between total BDI score and MPPF BP<sub>ND</sub> values of unflipped PET data. Height threshold  $P$  uncorrected at the voxel level  $P < 0.01$ ,  $P$  corrected at the cluster level after correction for multiple comparisons  $P = 0.006$ . Only clusters showing significant correlation after correction for multiple comparisons are displayed. The blue cross shows the significant cluster localized in the left insula. Colour bar,  $t$ -scores. (B) Regression plot of the MPPF BP<sub>ND</sub> values in the peak voxel of the significant cluster in the left insula plotted against the BDI scores.

uncorrected  $P$ -value of 0.007 at the cluster level. [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> also displayed positive correlation with somatic symptoms, comparable to those observed with non-flipped PET images, including the mid-cingulate gyrus contralateral to seizure onset ( $P_{\text{corrected}} = 0.001$ ) and the middle and inferior frontal gyri bilaterally (ipsilateral:  $P_{\text{corrected}} < 0.001$ ; contralateral:  $P_{\text{corrected}} = 0.001$ ; Fig. 4). In addition, somatic symptoms positively correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the mesial temporal region ipsilateral to seizure onset, within a cluster encompassing the parahippocampal gyrus and atrophic hippocampus ( $P_{\text{corrected}} = 0.002$ ). This was the only significant finding not previously disclosed in the SPM analyses of non-flipped PET volumes.

The above results were obtained using a 20% threshold implicit mask but were all confirmed when replacing the latter mask by an explicit mask of the grey matter.

### ROI analyses

ROI analysis of the raphe nucleus showed a positive correlation between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> and total BDI score ( $r = 0.55$ ;  $P = 0.006$ ), as well as with symptoms of

psychomotor-anhedonia ( $r = 0.56$ ;  $P = 0.006$ ) and negative cognition ( $r = 0.44$ ;  $P = 0.032$ ) but not with somatic or vegetative symptoms (Table 3).

ROI analysis of the left insula confirmed the positive correlation between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> and total BDI score ( $r = 0.49$ ;  $P = 0.009$ ), symptoms of psychomotor-anhedonia ( $r = 0.49$ ;  $P = 0.009$ ) and negative cognition ( $r = 0.48$ ;  $P = 0.011$ ), previously disclosed by SPM analyses. Similarly, we confirmed a positive correlation between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the post-central region and negative symptoms ( $r = 0.36$ ,  $P = 0.047$ ) and a positive correlation between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the left cingulate gyrus and somatic symptoms ( $r = 0.46$ ;  $P = 0.013$ ), whereas the frontal regions did not show the correlation observed with voxel-based analysis.

ROIs analysis of flipped PET data confirmed positive correlations between symptoms of negative cognition and psychomotor anhedonia and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the insula contralateral to seizure onset ( $r = 0.46$ ;  $P = 0.014$  and  $r = 0.49$ ;  $P = 0.009$ , respectively), as well as between somatic symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the ipsilateral hippocampus ( $r = 0.44$ ;  $P = 0.018$ ), parahippocampal gyrus

**Table 3** Positive correlations between depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> using SPM and ROI analyses

Brain Region	BDI total		Negative Cognition		Psychomotor anhedonia		Somatic		Vegetative	
	SPM	ROI	SPM	ROI	SPM	ROI	SPM	ROI	SPM	ROI
Raphe nuclei	NA	$r=0.55$ ; $P=0.006$	NA	$r=0.44$ ; $P=0.034$	NA	$r=0.56$ ; $P=0.006$	NA	NS	NA	NS
Insula L	$Z_{max}=3.6$ ; $k=1991$ ; $P=0.006$	$r=0.49$ ; $P=0.009$	$Z_{max}=4.49$ ; $k=3676$ ; $P<0.0001$	$r=0.48$ ; $P=0.011$	$Z_{max}=4.43$ ; $k=3839$ ; $P<0.0001$	$r=0.49$ ; $P=0.009$	-	NA	-	NA
Postcentral L	-	NS	-	$r=0.36$ ; $P=0.047$	-	NS	-	NA	-	NA
Cingulate L	-	NA	-	NA	-	NA	$Z_{max}=3.52$ ; $k=2551$ ; $P=0.001$	$r=0.46$ ; $P=0.013$	-	NA
Frontal inf L	-	NA	-	NA	-	NA	$Z_{max}=3.99$ ; $k=4319$ ; $P<0.001$	NS	-	NA
Frontal mid L	-	NA	-	NA	-	NA	$Z_{max}=4.63$ ; $k=2906$ ; $P<0.0001$	NS	-	NA
Frontal inf R	-	NA	-	NA	-	NA	-	NS	-	NA
Frontal mid R	-	NA	-	-	-	NA	-	NS	-	NA
Insula C	$Z_{max}=3.7$ ; $k=871$ ; $P=0.161^*$	$r=0.51$ ; $P=0.006$	$Z_{max}=4.05$ ; $k=1732$ ; $P=0.009$	$r=0.46$ ; $P=0.014$	$Z_{max}=4.56$ ; $k=1923$ ; $P=0.005$	$r=0.49$ ; $P=0.009$	-	NA	-	NA
Postcentral C	-	$r=0.41$ ; $P=0.027$	-	$r=0.37$ ; $P=0.043$	-	NS	$Z_{max}=3.87$ ; $k=2599$ ; $P=0.001$	NA	-	NA
Cingulate C	-	NA	-	NA	-	NA	-	$r=0.39$ ; $P=0.033$	-	NA
Frontal inf I	-	NA	-	NA	-	NA	$Z_{max}=4.67$ ; $k=3466$ ; $P<0.0001$	NS	-	NA
Frontal mid I	-	NA	-	NA	-	NA	-	NS	-	NA
Frontal inf C	-	NA	-	NA	-	NA	$Z_{max}=3.53$ ; $k=2489$ ; $P=0.001$	NS	-	NA
Frontal mid C	-	NA	-	NA	-	NA	-	NS	-	NA
Hippocampus I	-	NA	-	NA	-	NA	$Z_{max}=4.24$ ; $k=2224$ ; $P=0.002$	$r=0.44$ ; $P=0.018$	-	NA
Parahipp I	-	NA	-	NA	-	NA	-	$r=0.37$ ; $P=0.042$	-	NA

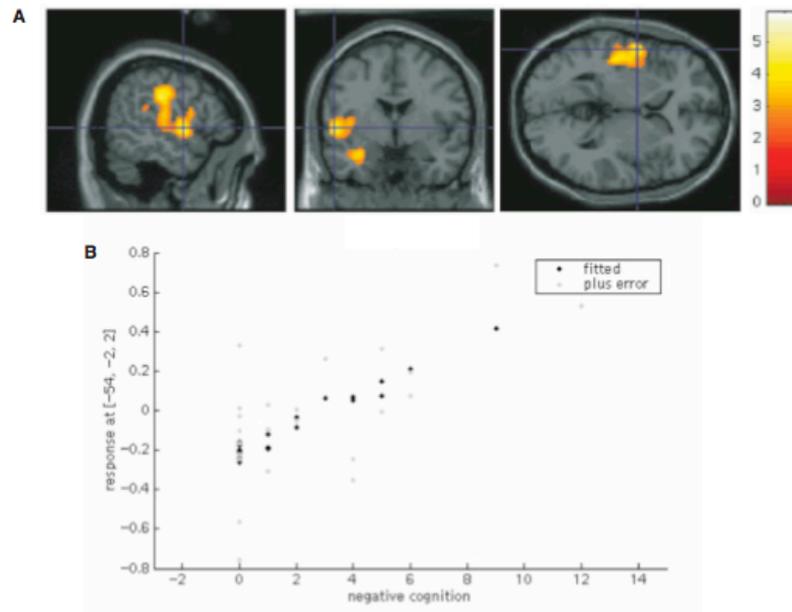
SPM = Statistical parametric mapping; ROI = Regions of interest; L = left; R = right; C = contralateral to seizure onset; I = ipsilateral to seizure onset; inf = inferior; mid = middle; hipp = hippocampus; parahipp = parahippocampus. '-': No significant cluster detected by SPM analysis; NA = Not applicable; NS = Not statistically significant.

\*This cluster did not reach statistical significance after correction for multiple comparisons, but was associated with an uncorrected  $P$ -value = 0.007 at the cluster level.

( $r=0.37$ ;  $P=0.042$ ) and contralateral cingulate gyrus ( $r=0.39$ ;  $P=0.033$ ). In addition, [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the insula contralateral to seizure onset significantly correlated with the total BDI score ( $r=0.51$ ;  $P=0.006$ ). We confirmed positive correlations between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the post-central region contralateral to seizure onset and total BDI score ( $r=0.41$ ,  $P=0.027$ ) and symptoms of negative cognition ( $r=0.37$ ,  $P=0.043$ ). Conversely, correlation between depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> delineated by SPM over the bilateral inferior and mid-frontal gyri failed to be confirmed by ROI analyses.

### Discussion

The main finding of this study was the positive correlation between the total BDI score and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the insula contralateral to seizure onset and the raphe nuclei in 24 TLE patients with hippocampal sclerosis and no previous exposure to antidepressants. The same correlations were observed between the insula and raphe [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> and BDI subscales, reflecting symptoms of negative cognition and psychomotor-anhedonia. Conversely somatic symptoms positively correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the hippocampus ipsilateral to seizure onset as well as in



**Fig. 3** (A) Positive correlation between symptoms of negative cognition and MPPF BP<sub>ND</sub> values of unflipped PET data. Height threshold  $P$  uncorrected at the voxel level  $P < 0.01$ ,  $P$  corrected at the cluster level after correction for multiple comparisons  $< 0.001$ . Only clusters showing significant correlation after correction for multiple comparisons are displayed. The blue cross shows the significant cluster localized in the left insula. Colour bar,  $t$ -scores. (B) Regression plot of the MPPF BP<sub>ND</sub> values in the peak voxel of the significant cluster in the left insula plotted against the negative cognition.

the left mid-cingulate gyrus. These results, which contrast with previously published data obtained with other radiotracers, suggest that depressive symptoms in TLE patients are associated with a complex alteration of the serotonergic system that might combine changes in the extracellular concentration of 5-HT and 5-HT<sub>1A</sub> receptor density.

### Direction of changes as compared with previous studies

The positive correlations observed in this study between [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> and depressive symptoms are at odds with the negative correlations previously reported by others in TLE patients using [<sup>11</sup>C]WAY-100635 and [<sup>18</sup>F]FCWAY (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). There are several possible explanations for these discrepancies including differences in the brain regional distribution of PET changes, in the population studied and in the affinity of the PET ligands for 5-HT<sub>1A</sub> receptors. Each of these issues is discussed below.

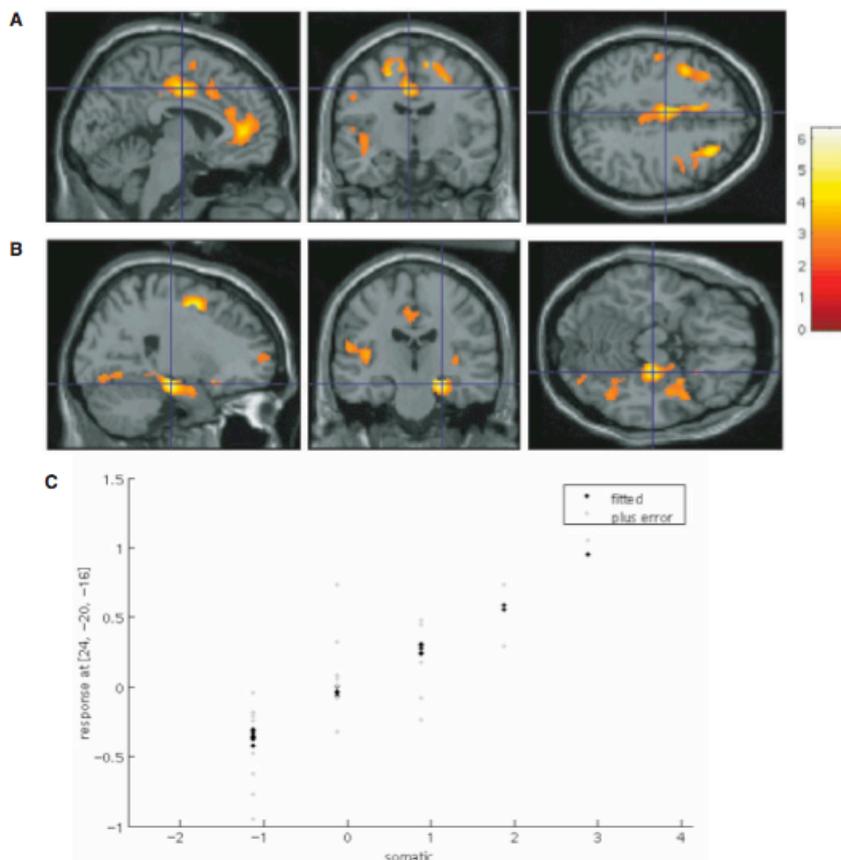
### Differences in the brain regional distribution of PET changes

One possible explanation of these discordant results could be that brain regions displaying positive correlations with depressive symptoms in this study differed from those

showing negative correlations in previous series. Indeed, positive correlations primarily involved the raphe nuclei, insulo-parietal cortex, mid-cingulate gyrus and frontal dorsolateral cortex, whereas previously reported negative correlations were observed in the hippocampus and anterior cingulate gyrus ipsilaterally (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). However, we also found a positive correlation between somatic symptoms of depression and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the hippocampus ipsilateral to seizure onset, the same region where negative correlations were reported by others (Giovacchini *et al.*, 2005), including after correction for partial volume effect in the atrophic hippocampus (Theodore *et al.*, 2007). Furthermore, a recent [<sup>18</sup>F]FCWAY PET study showed that TLE patients with current or previous MDD had lower [<sup>18</sup>F]FCWAY binding than those without a history of MDD in many brain regions, including the anterior insula and the raphe (Hasler *et al.*, 2007). Overall, the opposite direction of the correlations observed between depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> versus [<sup>11</sup>C]WAY-100635 or [<sup>18</sup>F]FCWAY BP is unlikely to primarily reflect regional differences in the distribution of positive versus negative correlations.

### Differences in the population studied

Differences in the population studied could represent another explanation for the discordant findings observed



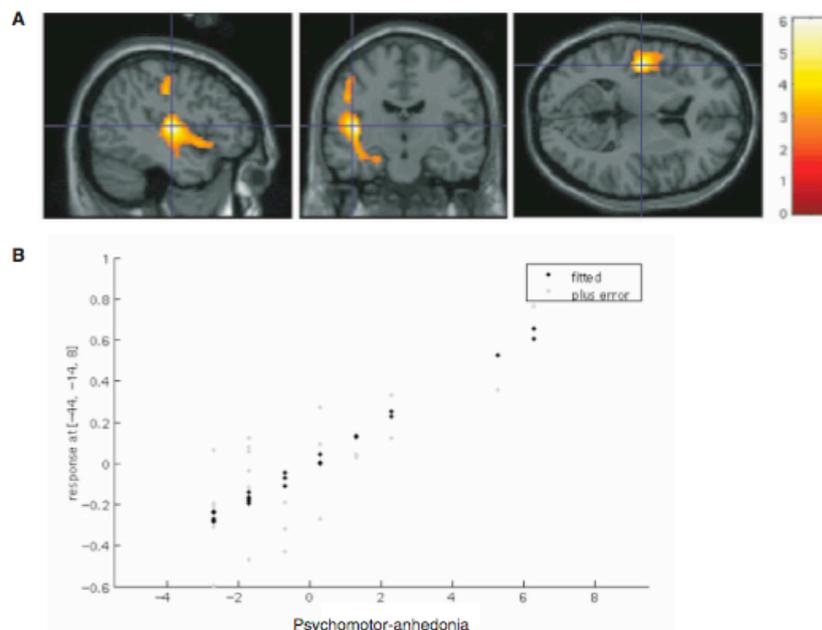
**Fig. 4** (A) Positive correlation between somatic symptoms and MPPF BP<sub>ND</sub> values of unflipped PET data. Height threshold  $P$  uncorrected at the voxel level  $P < 0.01$ ,  $P$  corrected at the cluster level after correction for multiple comparisons  $\leq 0.002$ . Only clusters showing significant correlation after correction for multiple comparisons are displayed. The blue cross shows the significant cluster localized in the left cingulate gyrus. Colour bar,  $t$ -scores. (B) Positive correlation between somatic symptoms and MPPF BP<sub>ND</sub> values of flipped PET data. Height threshold  $P$  uncorrected at the voxel level  $P < 0.01$ ,  $P$  corrected at the cluster level after correction for multiple comparisons  $\leq 0.002$ . Only clusters showing significant correlation after correction for multiple comparisons are displayed. The blue cross shows the significant cluster localized in the hippocampus ipsilateral to seizure onset. Colour bar,  $t$ -scores. (C) Regression plot of the MPPF BP<sub>ND</sub> values in the peak voxel of the significant cluster in the hippocampus ipsilateral to seizure onset plotted against the somatic symptoms.

with the various 5-HT<sub>1A</sub> PET ligands, though all of our patients demonstrated the typical pattern of 5-HT<sub>1A</sub> receptor abnormality reported by others using [<sup>11</sup>C]WAY-100635 or [<sup>18</sup>F]FCWAY that is a decreased [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> over their epileptogenic temporo-limbic regions (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007).

However, our patient group was more homogenous than those selected in previous studies, with all patients presenting MRI signs of hippocampal sclerosis, whereas the proportion of patients with hippocampal sclerosis varied from 57% to 73% in other series (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). The pathophysiology of epilepsy-associated depression might differ between TLE patients with and without hippocampal sclerosis (Quiske *et al.*, 2000; Hećimović *et al.*, 2003) and could result in different observations in a population

mixing these two types of patients as compared with a homogeneous group of TLE patients with hippocampal sclerosis. In addition, all our patients underwent a comprehensive pre-surgical evaluation that led to surgery in 71% of cases, 94% of whom were free of disabling seizure postoperatively (class I of Engel; Engel *et al.*, 1998). In one previous study, 11 out of 14 patients entered a pre-surgical evaluation, only two of whom were operated upon and were seizure-free (Savic *et al.*, 2004). In another series of 22 TLE patients, 14 were operated (64%), including 10 seizure-free postoperatively (71%) (Giovacchini *et al.*, 2005).

Differences in antiepileptic drug plasma concentration might also be taken into consideration since the latter was found to influence the plasma-free fraction of [<sup>18</sup>F]FCWAY in patients with epilepsy (Theodore *et al.*, 2006). However, this issue is unlikely to play a significant role in our study



**Fig. 5** (A) Positive correlation between symptoms of psychomotor-anhedonia symptoms and MPPF BP<sub>ND</sub> values of flipped PET data. Height threshold  $P$  uncorrected at the voxel level  $P < 0.01$ ,  $P$  corrected at the cluster level after correction for multiple comparisons  $< 0.005$ . Only clusters showing a significant correlation after correction for multiple comparison are displayed in this figure. The blue cross shows the significant cluster localized in the insula contralateral to seizure onset. Colour bar,  $t$ -scores. (B) Regression plot of the MPPF BP<sub>ND</sub> values in the peak voxel of the significant cluster in the insula contralateral to seizure onset plotted against the psychomotor-anhedonia symptoms.

since our model for calculating parametric images of [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> does not depend on the plasma-free fraction of the PET tracer. Another important aspect of AED treatment is their potential to modify the intracerebral concentration of serotonin. The latter was found increased in rats treated with carbamazepine (Dailey *et al.*, 1997; Ahmad *et al.*, 2005), oxcarbazepine (Clinkers *et al.*, 2005) and phenytoin (Ahmad *et al.*, 2005). However, when used at the therapeutic level, neither phenytoin nor phenobarbital was found to be associated with change in cerebral 5-HT (Sudha *et al.*, 1996; Okada *et al.*, 1997). The impact of lamotrigine on brain serotonin appears more complex with an acute decreased release of 5-HT but lack of chronic changes (Ahmad *et al.*, 2004; Ahmad *et al.*, 2005). The other AEDs taken by our patients were not found to alter the intracerebral concentration of 5-HT (Takebayashi *et al.*, 1995; Pugsley *et al.*, 1998) or were not evaluated in this respect. Importantly, the same proportion of patients with and without a BDI  $> 11$  were treated with carbamazepine or oxcarbazepine (77 and 73%, respectively). Conversely, previous series that correlated depressive symptoms with 5-HT<sub>1A</sub> receptor density either ignored this issue (Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007) or reported differences in the proportion of patients with and without depressive symptoms receiving carbamazepine (Savic *et al.*, 2004). Indeed, in this latter series, 25% of patients with

Montgomery Åsberg Depression Rating Scale (MADRS) score  $> 20$  were treated with carbamazepine as compared with 50% of those with a MADRS score  $< 20$ .

More importantly, none of our patients has been ever exposed to antidepressant drugs. Previously published studies included TLE patients free of antidepressants at the time of PET scanning but did not specify whether their patients were previously exposed to such treatment (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). A recent [<sup>11</sup>C]WAY-100635 study of patients with MDD suggests that a past history of antidepressant exposure has a major impact on the brain distribution of 5-HT<sub>1A</sub> receptors (Parsey *et al.*, 2006). Indeed, MDD patients naïve of antidepressant exposure showed an increased [<sup>11</sup>C]WAY-100635 BP in most brain regions compared with controls, including the insula, the cingulate gyrus and the raphe nuclei, whereas MDD patients with previous antidepressant exposure failed to demonstrate such abnormalities (Parsey *et al.*, 2006). It is noteworthy that the overexpression of 5-HT<sub>1A</sub> receptors observed in medication naïve MDD patients is consistent with the higher [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> found in the same brain regions in our TLE patients with higher BDI score and no previous exposure to antidepressants. Overall, differences in the population of TLE patients included in our study as compared with previous series might partly account for the discordant PET findings

reported in prior publications (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007).

#### Differences in the affinity of the 5-HT<sub>1A</sub> PET ligands

A third explanation for these discrepancies could be the difference in affinity that distinguishes [<sup>18</sup>F]MPPF from [<sup>11</sup>C]WAY-100635 and [<sup>18</sup>F]FCWAY. Unlike the two latter PET tracers whose affinity is much higher than that of 5-HT, [<sup>18</sup>F]MPPF is characterized by a lower affinity, close enough to that of serotonin to be sensitive to the concentration of endogenous 5-HT (Zimmer *et al.*, 2002; Rbah *et al.*, 2003). Accordingly, a reduction of extracellular serotonin concentration could result in an increased [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub>, whereas it would not directly influence [<sup>11</sup>C]WAY-100635 or [<sup>18</sup>F]FCWAY binding. Theoretically, this mechanism could even mask and override an underlying decreased density of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. This hypothesis would be of particular interest for the positive correlation observed between somatic symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> over the epileptogenic hippocampus since BP<sub>ND</sub> was dramatically reduced in that region in most patients. Accordingly, a PET study using alpha-[<sup>11</sup>C]methyl-L-tryptophan, a precursor of 5-HT, has reported a reduction of this tracer uptake in the anterior cingulate gyrus and left mesial temporal cortex in depressed patients supporting the possibility of reduced extracellular serotonin concentration in depression (Rosa-Neto *et al.*, 2004). However, it remains impossible to precisely predict the impact of such an abnormality on [<sup>18</sup>F]MPPF binding since we ignore the proportion of 5-HT<sub>1A</sub> receptors occupied by endogenous 5-HT in the living human brain and the magnitude of its reduction in depressive disorders.

Overall, our results of higher [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in TLE patients with higher BDI score could either reflect greater 5-HT<sub>1A</sub> receptor density or a lower extracellular concentration of 5-HT that could be associated with various changes in the number of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. A combination of decreased extracellular concentration of 5-HT and number of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the most depressed patients would be consistent with previous [<sup>11</sup>C]WAY-100635 or [<sup>18</sup>F]FCWAY PET studies in TLE patients (Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). Conversely, greater 5-HT<sub>1A</sub> receptor density in the more depressed patients, which might also well be associated with reduced extracellular concentration of 5-HT, would be more in agreement with the [<sup>11</sup>C]WAY-100635 PET findings reported in antidepressant naïve MDD patients (Parsey *et al.*, 2006). In any event, both hypotheses provide new evidences regarding the pathophysiology of serotonergic changes associated with depressive symptoms in TLE and point to the possibility of an underlying reduction of the extracellular concentration of 5-HT.

Interestingly, discordant [<sup>11</sup>C]WAY-100635 PET findings have also been reported in the field of depression.

In contrast with the increased BP reported in antidepressant naïve MDD patients (Parsey *et al.*, 2006), a majority of studies have demonstrated decreased BP in depressed patients as compared with controls in most brain regions, as well as in the raphe nuclei (Drevets *et al.*, 1999, 2000, 2007; Sargent *et al.*, 2000). In successfully treated MDD patients, the same direction of changes was observed, except in the raphe nuclei in which BP was found to be normal (Bhagwagar *et al.*, 2004). Although the combination of the above findings might suggest that 5-HT<sub>1A</sub> receptor abnormalities in the raphe might resolve with antidepressant treatment, a recent paired scan study that directly looked at antidepressant-induced 5HT<sub>1A</sub> changes in MDD patients failed to confirm this hypothesis (Moses-Kolko *et al.*, 2007).

#### Localization and lateralization of changes as a function of depressive symptoms

The primary aim of our study was to correlate cerebral [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> with the intensity of depressive symptoms, as measured by the BDI-2 scale, and not with the presence of MDD proper. This strategy allowed us to investigate for the first time the biological substratum of different dimensions of depressive symptoms in patients with epilepsy. Indeed, depression is a multidimensional disorder comprising cognitive, somatic, behavioural and social symptoms (Costello *et al.*, 1992). Factor analysis has suggested that BDI-2 reflects two primary dimensions of depression, corresponding to cognitive and non-cognitive (somato-affective) symptoms (Steer *et al.*, 1999). A more recent study has proposed a new cognitive dimension, referred to as negative cognition and restricted to a subset of six of the original eight cognitive symptoms (excluding pessimism and suicidal thoughts) and has further divided the 13 non-cognitive symptoms into three classes, defined as psychomotor anhedonia, vegetative and somatic (Dunn *et al.*, 2002). We chose to use this latter and more detailed subdivision of depressive symptoms with the hope to more precisely delineate the underlying changes in 5-HT<sub>1A</sub> receptor BP. Nevertheless, the correlations found with negative cognition should similarly apply to the entire cognitive dimension defined by Steer *et al.* (1999) since these two scales highly correlated with each other in our population ( $r=0.97$ ). Furthermore, the distinction between psychomotor anhedonia and somatic symptoms proved relevant since these two symptom classes correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in strikingly different brain regions as detailed below.

#### Correlations of the total BDI score and symptoms of negative cognition and psychomotor anhedonia with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the raphe nuclei and the insula

Total BDI scores as well as symptoms of psychomotor-anhedonia and negative cognition correlated with

[<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the raphe nuclei. The raphe nuclei play a pivotal role in the serotonergic system. 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors, located on the soma and dendrites of 5-HT neurons, exert a pre-synaptic negative feedback on serotonergic neuron firing activity (Weissmann-Nanopoulos *et al.*, 1985; Richer *et al.*, 2002). However, the type and extent of dysfunction of the raphe nuclei in depression remain unclear. Post-mortem studies in suicide patients have reported both increased and decreased density of 5-HT neurons and 5-HT<sub>1A</sub> receptors (Stockmeier *et al.*, 1998; Underwood *et al.*, 1999; Arango *et al.*, 2001) depending on their rostrocaudal localization within the raphe nuclei (Boldrini *et al.*, 2007). Similarly, as previously discussed, [<sup>11</sup>C]WAY-100 635 PET studies have reported both increased and decreased BP in the raphe of MDD patients, although the latter did not correlate with the intensity of depressive or anxiety symptoms (Drevets *et al.*, 1999, 2000; Sargent *et al.*, 2000; Sullivan *et al.*, 2005; Parsey *et al.*, 2006). In addition, a PET study showed reduced [<sup>18</sup>F]FCWAY binding in the raphe in TLE patients with current or previous MDD compared with TLE patients without a history of MDD (Hasler *et al.*, 2007). Finally, in unipolar MDD patients, FDG-PET demonstrated a positive correlation between symptoms of psychomotor-anhedonia and negative cognition and glucose metabolism in the dorsal raphe (Dunn *et al.*, 2002), a result reminiscent of our [<sup>18</sup>F]MPPF findings in TLE patients. Overall, the strong correlation observed between depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the raphe nuclei support the view that an epilepsy-related dysfunction of these nuclei could represent part of the biological basis of comorbid depression in TLE.

Symptoms of negative cognition and psychomotor-anhedonia, as well as the total BDI score, also correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the insula of our patients. The insula is a site of multimodal integration that plays a pivotal role in limbic interactions (Shelley and Trimble, 2004; see Nagai *et al.*, 2007 for review) and limbic-cortical pathways (Mayberg *et al.*, 1997). Several FDG-PET and [<sup>11</sup>C]WAY-100635 studies have demonstrated insular abnormalities in MDD patients (Mayberg *et al.*, 1999; Drevets, 2000; Drevets *et al.*, 2000; Sargent *et al.*, 2000; Kennedy *et al.*, 2001; Kimbrell *et al.*, 2002; Parsey *et al.*, 2006; Fitzgerald *et al.*, 2008), including negative correlation between insular cortex and the item 'agitation' of the Hamilton Depression Rating scale (Graff-Guerrero *et al.*, 2004) and positive correlation between glucose metabolism and negative cognition symptoms of the BDI (Dunn *et al.*, 2002). Acute intense sadness provoked by rehearsed autobiographical scripts was associated with an increased blood flow in the insula in normal subjects (Mayberg *et al.*, 1999). It is also worth noting that the insula is one of the brain regions in which 5-HT<sub>1A</sub> BP is sensitive to previous antidepressant exposure (Sullivan *et al.*, 2005). Finally, in patients with TLE, co-morbid depression was significantly associated with increased blood flow and reduced 5-HT<sub>1A</sub>

receptor density in the insula (Ring *et al.*, 1999; Hasler *et al.*, 2007).

#### **Correlations of somatic symptoms of depression with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the hippocampus ipsilateral to seizure onset and in the frontal lobes**

Somatic symptoms correlated positively with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the mesial temporal region ipsilateral to seizure onset and more specifically over the hippocampus and parahippocampal gyrus. This finding is reminiscent of the correlation reported between the total BDI score and [<sup>18</sup>F]FCWAY BP over the epileptogenic hippocampus of TLE patients, although in the opposite direction for reasons already discussed (Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). A bulk of evidence suggests that the hippocampus belongs to the limbic-frontal-subcortical network involved in the pathophysiology of MDD (Mayberg *et al.*, 1997; Price, 1999; Sheline, 2003; Seminowicz *et al.*, 2004). Indeed, decreased hippocampal volume, blood flow and glucose metabolism were reported in patients with MDD (Bremner *et al.*, 2000; Kennedy *et al.*, 2001; Saxena *et al.*, 2001; Frodl *et al.*, 2002; Videbech *et al.*, 2002; Sheline *et al.*, 2003b; Fitzgerald *et al.*, 2008). Regarding hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> receptors, decreased mRNA levels for receptor protein were observed in suicide victims as well as in rats exposed to acute stress, whereas [<sup>11</sup>C]WAY-100635 BP was found either decreased or increased in patients with MDD (Lopez *et al.*, 1998, 1999; Drevets *et al.*, 1999, 2000; Sargent *et al.*, 2000; Lopez-Figueroa *et al.*, 2004; Parsey *et al.*, 2006). Like the insula, the hippocampus is one of the brain regions in which 5-HT<sub>1A</sub> receptor density appears to be sensitive to previous antidepressant exposure (Sullivan *et al.*, 2004), a finding that might partly account for the above discordant results. Paradoxically, in patients with TLE, the role of hippocampal atrophy in the pathophysiology of comorbid depression remains elusive. Indeed, no association was found between depression and the presence or intensity of hippocampal atrophy (Lehrner *et al.*, 1999; Baxendale *et al.*, 2005; Briellmann *et al.*, 2007; Richardson *et al.*, 2007; Theodore *et al.*, 2007), while a negative correlation was observed in the same region between depressive symptoms and creatine/*N*-acetylaspartate ratio, as measured by magnetic resonance spectroscopy (Gilliam *et al.*, 2007). According to this complex framework, it appears that depressive symptoms in TLE patients are more closely related to the serotonergic dysfunction than to the atrophy of the epileptic hippocampus. In this respect, it is worth noting that the epileptic hippocampus consistently shows a decreased BP of 5-HT<sub>1A</sub> receptor across studies and PET ligands, even in patients with no hippocampal atrophy or after correction for partial volume effect (Merlet *et al.*, 2004a, b; Savic *et al.*, 2004; Giovacchini *et al.*, 2005; Ito *et al.*, 2007). Most importantly, [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> was found decreased over the epileptic hippocampus of TLE patients with a magnitude comparable to that observed

with [<sup>18</sup>F]FCWAY, despite the fact that these two PET ligands show a correlation with BDI scores of opposing directions (Merlet *et al.*, 2004a, b; Giovacchini *et al.*, 2005; Theodore *et al.*, 2007). In other words, our positive correlation between somatic depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the epileptic hippocampus is built upon an epilepsy-related major decrease of 5-HT<sub>1A</sub> receptor availability in that region. In our view, these abnormalities are likely to represent one of the biological links between TLE and the more global pre- and post-synaptic serotonergic dysfunction associated with comorbid depression.

Correlations between somatic symptoms of the BDI and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> were also observed in the mid-cingulate gyrus, and to a lesser degree, over the frontal dorsolateral cortex. All these regions are thought to be involved in the pathophysiology of depression (Drevets, 2000; Drevets *et al.*, 2000; Kennedy *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2004). Indeed, various symptoms of MDD were found to correlate with cerebral blood flow, glucose metabolism and [<sup>11</sup>C]WAY-100635 BP in the cingulate gyrus and frontal cortex in previous studies (Bench *et al.*, 1993; Dunn *et al.*, 2002; Videbech *et al.*, 2002; Graff-Guerrero *et al.*, 2004; Milak *et al.*, 2005). Furthermore, negative correlations were observed between [<sup>11</sup>C]WAY-100635 BP in the anterior cingulate gyrus and anxiety symptoms, including somatic anxiety (Sullivan *et al.*, 2004) and the anxiety facet of neuroticism in control subjects (Tauscher *et al.*, 2001).

### Limitations of this study

We did not perform a systematic standardized psychiatric interview technique during this study, a limitation that prevents us from drawing firm conclusions regarding the pathophysiology of comorbid MDD in epilepsy. We nevertheless feel very confident regarding the reliability of the psychiatric status of the majority of our patients. First, the risk that any of our 15 TLE patients with a BDI-2 cutoff scores  $\leq 11$  suffered current MDD (i.e. within the past 2 weeks) is below 1%, according to previous work in the field (Jones *et al.*, 2005b). Second, the mental health of all our patients was thoroughly evaluated by an experienced senior epileptologist during their pre-surgical evaluation. Third, seven out of nine patients with a BDI-2 cutoff scores  $>11$  were further evaluated by a psychiatrist, leading to a diagnosis of MDD in five and mild depressive disorder in the remaining two. Finally, no other major psychiatric illness was noted in our population. The relevance of our approach is further supported by our results, showing that the different classes of depressive symptoms correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in distinct brain regions.

Whether the correlation observed in our study primarily involved the left insula or that contralateral to seizure onset remains uncertain. Indeed, both the conventional and flipped PET data showed lateralized findings, pointing to

the left hemisphere and that contralateral to seizure onset, respectively. This ambiguity partly reflected an imbalance between patients with right and left TLE (16 and 8, respectively, in our sample) that was even more marked among patients whose BDI score was  $>11$  (8 right TLE versus 1 left TLE). Unfortunately, we could not control for this situation since our protocol required the inclusion of a specific number of consecutive patients fulfilling our inclusion criteria, regardless of the lateralization of their epileptic focus. This imbalance resulted in right TLE patients' data having a major influence on the overall findings. Consequently, left hemispheric data largely corresponded to those contralateral to seizure onset and vice versa. The fact that SPM analysis of unflipped PET volumes disclosed a significant correlation with the total BDI score over the left insula, while the analysis of flipped PET data only showed a non-significant trend within the insula contralateral to seizure onset (although this correlation proved significant when re-evaluated with ROIs), could argue for the former hypothesis. In our view, the less significant results obtained with flipped PET data is more likely to reflect anatomical differences between the left and right insula not corrected by spatial normalization, resulting in a suboptimal anatomical matching between the right and flipped left insula within our [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> template and in a less sensitive statistical analysis of this brain structure. Indeed, ROI analyses that do not suffer this anatomical limitation showed similar Pearson coefficients for the left insula and that contralateral to seizure onset. Other minor and indirect arguments in favour of a left-sided lateralization of depression-associated [<sup>18</sup>F]MPPF PET changes derive from the observation of predominantly left hemispheric FDG-PET abnormalities in depressed patients (Kennedy *et al.*, 2001; Drevets *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 2004) and higher rates of depression in patients with left frontal strokes or post-traumatic scars than in those with the same type of right frontal lesions (Lipsey *et al.*, 1983; Robinson *et al.*, 1984, 1988; Jorge *et al.*, 1993). Some studies have also reported a higher incidence of depression in patients with left rather than right TLE (Robertson, 1987; Altshuler *et al.*, 1990; Victoroff *et al.*, 1994) but this issue remains debated (Kohler *et al.*, 1999). For instance, in our population, only 13% of patients with left TLE had a BDI score  $>11$ , as compared with 50% of right TLE patients.

The *post hoc* ROI analyses of the subgroup of patients with left TLE provided a more compelling argument towards the alternative view of a primary involvement of the insula contralateral to seizure onset rather than of the left insula proper. In this population, the BDI correlated with [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> in the right (i.e. contralateral to seizure onset) but not in the left insula (Table 4). Although these findings could be partly influenced by the smaller number of patients with left rather than right TLE, they are strongly supported by the Pearson coefficients obtained in these two populations for left and right TLE, respectively.

**Table 4** Post hoc analyses

	Total BDI		Negative cognition		Psychomotor anhedonia		Somatic	
	Right TLE (N = 16)	Left TLE (N = 8)	Right TLE (N = 16)	Left TLE (N = 8)	Right TLE (N = 16)	Left TLE (N = 8)	Right TLE (N = 16)	Left TLE (N = 8)
Left insula	<b>r = 0.69,</b> <b>P = 0.002</b>	r = 0.09, NS	<b>r = 0.65,</b> <b>P = 0.005</b>	r = -0.03, NS	<b>r = 0.71,</b> <b>P = 0.001</b>	r = 0.34, NS	NA	NA
Right insula	r = 0.18, NS	<b>r = 0.75,</b> <b>P = 0.027</b>	r = 0.42, NS	r = 0.57, NS	r = 0.41, NS	r = 0.32, NS	NA	NA
Left cingulate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	<b>r = 0.52,</b> <b>P = 0.025</b>	r = 0.57, NS
Right cingulate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	r = 0.36, NS	r = 0.32, NS

Positive correlations between depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> using ROI analyses in the sub-groups of right and left TLE patients separately. TLE = Temporal lobe epilepsy; NA = Not applicable; NS = Not statistically significant.

Overall, we believe that the correlations observed between depressive symptoms and [<sup>18</sup>F]MPPF BP<sub>ND</sub> are more likely to involve the insula contralateral to the epileptogenic zone than the left insula. The question then arises of the pathophysiological significance of this finding. One possibility could be that the serotonergic dysfunction associated with depressive symptoms would normally affect both insula but would be obscured on the side ipsilateral to the epileptic temporal lobe by 5-HT<sub>1A</sub> receptor changes related to the frequent propagation of epileptic discharges into that region (Isnard *et al.*, 2000). Another possibility could be that the emergence of depressive symptoms in patients with unilateral TLE depends more on the bilateralization of serotonergic dysfunction than on the intensity of ipsilateral abnormalities.

As for the previous correlations observed in the insula, we cannot firmly conclude as to whether those seen in the cingulate gyrus primarily involve the left side or that contralateral to seizure onset, although *post hoc* analyses in left TLE patients favoured the former possibility. Interestingly, glucose metabolism in the left cingulate gyrus was also found to correlate positively with depressive symptoms in MDD patients, although not specifically with somatic symptoms (Dunn *et al.*, 2002). A prior [<sup>11</sup>C]WAY-100635 PET study of TLE patients also reported correlation between depression and 5-HT<sub>1A</sub> receptors density in the cingulate gyrus (Savic *et al.*, 2004). However, this correlation was negative rather than positive, ipsilateral to seizure onset rather than left-sided or contralateral and predominated in the anterior rather than the mid-portion of the cingulate gyrus.

Overall, our data suggest that complex changes of the central serotonergic system are associated with the type and intensity of depressive symptoms in TLE patients. These changes appear to predominate over the raphe nuclei and the insula, and to a lesser extent the left mid-cingulate gyrus, the left and right frontal dorsolateral cortex, and the hippocampal region ipsilateral to seizure onset, with some regional specificity for the different symptom classes. At present, it remains difficult to firmly conclude on the

molecular substratum underlying higher [<sup>18</sup>F]MPPF-BP<sub>ND</sub> in the more depressed TLE patients (i.e. decreased serotonin concentration versus higher number of 5-HT<sub>1A</sub> receptors) in as much as previously published [<sup>11</sup>C]WAY-100635 and [<sup>18</sup>F]FCWAY studies in TLE and MDD provide conflicting results. However, it is our view that our findings most likely reflect a decreased extracellular concentration of serotonin at the pre- and post-synaptic levels of the major central serotonergic pathways.

### Acknowledgements

We thank Didier Le Bars for [<sup>18</sup>F]MPPF radiosynthesis and the CERMEP medical team for assistance and are greatly indebted to Drs F. Mauguière, G. Demarquay, J. Isnard, C. Fisher, D. Rosenberg, E. Hirsh and P. Kahane for referring some of the patients of this serie.

### References

- Ahmad S, Fowler LJ, Whitton PS. Effect of acute and chronic lamotrigine on basal and stimulated extracellular 5-hydroxytryptamine and dopamine in the hippocampus of the freely moving rat. *Br J Pharmacol* 2004; 142: 136–42.
- Ahmad S, Fowler LJ, Whitton PS. Lamotrigine, carbamazepine and phenytoin differentially alter extracellular levels of 5-hydroxytryptamine, dopamine and amino acids. *Epilepsy Res* 2005; 63: 141–9.
- Altshuler LL, Devinsky O, Post RM, Theodore W. Depression, anxiety, and temporal lobe epilepsy. Laterality of focus and symptoms. *Arch Neurol* 1990; 47: 284–8.
- Anderson AD, Oquendo MA, Parsey RV, Milak MS, Campbell C, Mann JJ. Regional brain responses to serotonin in major depressive disorder. *J Affect Disord* 2004; 82: 411–7.
- Arango V, Underwood MD, Boldrini M, Tamir H, Kassir SA, Hsiung S, et al. Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25: 892–903.
- Asberg M, Thoren P, Traskman L, Bertilsson L, Ringberger V. 'Serotonin depression'—a biochemical subgroup within the affective disorders? *Science* 1976; 191: 478–80.
- Barba C, Barbati G, Minotti L, Hoffmann D, Kahane P. Ictal clinical and scalp-EEG findings differentiating temporal lobe epilepsies from temporal 'plus' epilepsies. *Brain* 2007; 130 (Pt 7): 1957–67.

- Baxendale SA, Thompson PJ, Duncan JS. Epilepsy & depression: the effects of comorbidity on hippocampal volume—a pilot study. *Seizure* 2005; 14: 435–8.
- Bench CJ, Friston KJ, Brown RG, Frackowiak RS, Dolan RJ. Regional cerebral blood flow in depression measured by positron emission tomography: the relationship with clinical dimensions. *Psychol Med* 1993; 23: 579–90.
- Bhagwagar Z, Rabiner EA, Sargent PA, Grasby PM, Cowen PJ. Persistent reduction in brain serotonin<sub>1A</sub> receptor binding in recovered depressed men measured by positron emission tomography with [<sup>11</sup>C]WAY-100635. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 386–92.
- Boldrini M, Underwood MD, Mann JJ, Arango V. Serotonin-1A autoreceptor binding in the dorsal raphe nucleus of depressed suicides. *J Psychiatr Res* 2008; 42: 433–42.
- Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 115–8.
- Briellmann RS, Hopwood MJ, Jackson GD. Major depression in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: clinical and imaging correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; 78: 1226–30.
- Cathébras P, Mosnier C, Lévy M, Bouchou K, Rousset H. Screening for depression in patients with medical hospitalization. Comparison of two self-evaluation scales and clinical assessment with a structured questionnaire. *Encephale* 1994; 20: 311–7.
- Clinckers R, Smolders I, Meurs A, Ebinger G, Michotte Y. Hippocampal dopamine and serotonin elevations as pharmacodynamic markers for the anticonvulsant efficacy of oxcarbazepine and 10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine. *Neurosci Lett* 2005; 390: 48–53.
- Costello CG. Research on symptoms versus research on syndromes: arguments in favour of allocating more research time to the study of symptoms. *Br J Psychiatry* 1992; 160: 304–8.
- Costes N, Merlet I, Zimmer L, Lavenne F, Cinotti L, Delforge J, et al. Modeling [<sup>18</sup>F]MPPF positron emission tomography kinetics for the determination of 5-hydroxytryptamine(1A) receptor concentration with multiinjection. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 753–65.
- Costes N, Merlet I, Ostrowsky K, Faillenot I, Lavenne F, Zimmer L, et al. A <sup>18</sup>F-MPPF PET normative database of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in men and women over aging. *J Nucl Med* 2005; 46: 1980–9.
- Dailey JW, Reith ME, Yan QS, Li MY, Jobe PC. Carbamazepine increases extracellular serotonin concentration: lack of antagonism by tetrodotoxin or zero Ca<sup>2+</sup>. *Eur J Pharmacol* 1997; 328: 153–62.
- Dhaenen H. Imaging the serotonergic system in depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2001; 251 (Suppl 2): II76–80.
- Drevets WC. Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol Psychiatry* 2000; 48: 813–29.
- Drevets WC, Bogers W, Raichle ME. Functional anatomical correlates of antidepressant drug treatment assessed using PET measures of regional glucose metabolism. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002; 12: 527–44.
- Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Greer PJ, Mathis C. Serotonin type-1A receptor imaging in depression. *Nucl Med Biol* 2000; 27: 499–507.
- Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Holt D, Greer PJ, et al. PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 1375–87.
- Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, Frank E, Kupfer DJ, et al. Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol* 2007; 34: 865–77.
- Dunn RT, Kimbrell TA, Ketter TA, Frye MA, Willis MW, Luckenbaugh DA, et al. Principal components of the Beck Depression Inventory and regional cerebral metabolism in unipolar and bipolar depression. *Biol Psychiatry* 2002; 51: 387–99.
- Engel J Jr. Classifications of the international league against epilepsy: time for reappraisal. *Epilepsia* 1998; 39: 1014–7.
- Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ. A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Hum Brain Mapp* 2008; 29: 683–95.
- Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Frackowiak RSJ. Comparing functional (PET) images: the assessment of significant changes. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991; 11: 690–9.
- Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, Poline JB, Frith CD, Frackowiak RJS. Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. *Hum Brain Mapp* 1995; 3: 189–210.
- Frodl T, Meisenzahl EM, Zetzsche T, Born C, Groll C, Jager M, et al. Hippocampal changes in patients with a first episode of major depression. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 1112–8.
- Gilliam FG, Maton BM, Martin RC, Sawrie SM, Faught RE, Hugg JW, et al. Hippocampal 1H-MRSI correlates with severity of depression symptoms in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2007; 68: 364–8.
- Giovacchini G, Toczek MT, Bonwetsch R, Bagic A, Lang L, Fraser C, et al. 5-HT<sub>1A</sub> receptors are reduced in temporal lobe epilepsy after partial-volume correction. *J Nucl Med* 2005; 46: 1128–35.
- Graff-Guerrero A, Gonzalez-Olvera J, Mendoza-Espinosa Y, Vaugier V, Garcia-Reyna JC. Correlation between cerebral blood flow and items of the Hamilton Rating Scale for Depression in antidepressant-naïve patients. *J Affect Disord* 2004; 80: 55–63.
- Gunn RN, Sargent PA, Bench CJ, Rabiner EA, Osman S, Pike VW, et al. Tracer kinetic modeling of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligand [carbonyl-<sup>11</sup>C]WAY-100635 for PET. *Neuroimage* 1998; 8: 426–40.
- Hammers A, Asselin MC, Hinz R, Kitchen I, Brooks DJ, Duncan JS, et al. Upregulation of opioid receptor binding following spontaneous epileptic seizures. *Brain* 2007; 130: 1009–16.
- Hammers A, Koeppe MJ, Hurlmann R, Thom M, Richardson MP, Brooks DJ, et al. Abnormalities of grey and white matter [<sup>11</sup>C]flumazenil binding in temporal lobe epilepsy with normal MRI. *Brain* 2002; 125: 2257–71.
- Hammers A, Koeppe MJ, Richardson MP, Hurlmann R, Brooks DJ, Duncan JS. Grey and white matter flumazenil binding in neocortical epilepsy with normal MRI. A PET study of 44 patients. *Brain* 2003; 126 (Pt 6): 1300–18.
- Hasler G, Bonwetsch R, Giovacchini G, Toczek MT, Bagic A, Luckenbaugh DA, et al. 5-HT(1A) receptor binding in temporal lobe epilepsy patients with and without major depression. *Biol Psychiatry* 2007; 62: 1258–64.
- Hečimović H, Goldstein JD, Sheline YI, Gilliam FG. Mechanisms of depression in epilepsy from a clinical perspective. *Epilepsy Behav* 2003; 4 (Suppl 3): S25–30.
- Innis RB, Cunningham VJ, Delforge J, Fujita M, Gjedde A, Gunn RN, et al. Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27: 1533–39.
- Isnard J, Guénot M, Ostrowsky K, Sindou M, Manguière F. The role of the insular cortex in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 2000; 48: 614–23.
- Ito S, Suhara T, Ito H, Yasuno F, Ichimiya T, Takano A, et al. Changes in central 5-HT(1A) receptor binding in mesial temporal epilepsy measured by positron emission tomography with [<sup>11</sup>C]WAY100635. *Epilepsy Res* 2007; 73: 111–8.
- Jones JE, Hermann BP, Barry JJ, Gilliam F, Kanner AM, Meador KJ. Clinical assessment of axis I psychiatric morbidity in chronic epilepsy: a multicenter investigation. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* Spring 2005a; 17: 172–9.
- Jones JE, Hermann BP, Woodard JL, Barry JJ, Gilliam F, Kanner AM, et al. Screening for major depression in epilepsy with common self-report depression inventories. *Epilepsia* 2005b; 46: 731–5.
- Jorge RE, Robinson RG, Arndt SV, Forrester AW, Geisler F, Starkstein SE. Comparison between acute- and delayed-onset depression following traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1993; 5: 43–9.
- Kabani M, MacDonald D, Holmes C, Evans A. 3D anatomical atlas of the human brain. Arthur W, Toga RSJF, John CM, editors. In: Proceedings of Fourth International Conference on Functional Mapping of the Human Brain, Montreal, Canada. NeuroImage, Organization for Human Brain Mapping; 1998.
- Kanner AM. Depression in epilepsy: prevalence, clinical semiology, pathogenic mechanisms, and treatment. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 388–98.

- Karzmark P, Zeifert P, Barry J. Measurement of depression in epilepsy. *Epilepsy Behav* 2001; 2: 124–8.
- Kennedy SH, Evans KR, Kruger S, Mayberg HS, Meyer JH, McCann S, et al. Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 899–905.
- Kimbrell TA, Ketter TA, George MS, Little JT, Benson BE, Willis MW, et al. Regional cerebral glucose utilization in patients with a range of severities of unipolar depression. *Biol Psychiatry* 2002; 51: 237–52.
- Kohler C, Norstrand JA, Baltuch G, O'Connor MJ, Gur RE, French JA, et al. Depression in temporal lobe epilepsy before epilepsy surgery. *Epilepsia* 1999; 40: 336–40.
- Lehrner J, Kalchmayr R, Serles W, Olbrich A, Pataria E, Aull S, et al. Health-related quality of life (HRQOL), activity of daily living (ADL) and depressive mood disorder in temporal lobe epilepsy patients. *Seizure* 1999; 8: 88–92.
- Lipsey JR, Robinson RG, Pearlson GD, Rao K, Price TR. Mood change following bilateral hemisphere brain injury. *Br J Psychiatry* 1983; 143: 266–73.
- Lopez JF, Chalmers DT, Little KY, Watson SJ, A.E. Bennett Research Award. Regulation of serotonin<sub>1A</sub>, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. *Biol Psychiatry* 1998; 43: 547–73.
- Lopez JF, Liberzon I, Vazquez DM, Young EA, Watson SJ. Serotonin 1A receptor messenger RNA regulation in the hippocampus after acute stress. *Biol Psychiatry* 1999; 45: 934–7.
- Lopez-Figueroa AL, Norton CS, Lopez-Figueroa MO, Armellini-Dodel D, Burke S, Akil H, et al. Serotonin 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, and 5-HT<sub>2A</sub> receptor mRNA expression in subjects with major depression, bipolar disorder, and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 225–33.
- Mayberg HS. Limbic-cortical dysregulation: a proposed model of depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1997; 9: 471–81.
- Mayberg HS, Liotti M, Brannan SK, McGinnis S, Mahurin RK, Jerabek PA, et al. Reciprocal limbic-cortical function and negative mood: converging PET findings in depression and normal sadness. *Am J Psychiatry* 1999; 156: 675–82.
- Meltzer HY. Role of serotonin in depression. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 600: 486–99.
- Mendez MF, Cummings JL, Benson DF. Depression in epilepsy: significance and phenomenology. *Arch Neurol* 1986; 43: 766–70.
- Merlet I, Ryvlin P, Costes N, Dufournel D, Isnard J, Faillenot I, et al. Statistical parametric mapping of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial EEG. *Neuroimage* 2004; 22: 886–96.
- Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, Ryvlin P, Isnard J, Faillenot I, et al. 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [18F]MPPF-PET study. *Brain* 2004b; 127 (Pt 4): 900–13.
- Milak MS, Parsey RV, Keilp J, Oquendo MA, Malone KM, Mann JJ. Neuroanatomic correlates of psychopathologic components of major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 397–408.
- Moses-Kolko EL, Price JC, Thase ME, Meltzer CC, Kupfer DJ, Mathis CA, et al. Measurement of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in depressed adults before and after antidepressant drug treatment using positron emission tomography and [11C]WAY-100635. *Synapse* 2007; 61: 523–30.
- Nagai M, Kishi K, Kato S. Insular cortex and neuropsychiatric disorders: a review of recent literature. *Eur Psychiatry* 2007; 22: 387–94.
- Okada M, Kawata Y, Kiryu K, Mizuno K, Wada K, Inomata H, et al. Effects of non-toxic and toxic concentrations of phenytoin on monoamines levels in rat brain. *Epilepsy Res* 1997; 28: 155–63.
- Parsey RV, Oquendo MA, Ogden RT, Olvet DM, Simpson N, Huang YY, et al. Altered serotonin 1A binding in major depression: a [carbonyl-<sup>11</sup>C]WAY100635 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* 2006; 59: 106–13.
- Price JL. Prefrontal cortical networks related to visceral function and mood. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 877: 383–96.
- Pugsley TA, Whetzel SZ, Dooley DJ. Reduction of 3,4-diaminopyridine-induced biogenic amine synthesis and release in rat brain by gabapentin. *Psychopharmacology* 1998; 137: 74–80.
- Quiske A, Helmstaedter C, Lux S, Elger CE. Depression in patients with temporal lobe epilepsy is related to mesial temporal sclerosis. *Epilepsy Res* 2000; 39: 121–5.
- Rbah L, Leviel V, Zimmer L. Displacement of the PET ligand 18F-MPPF by the electrically evoked serotonin release in the rat hippocampus. *Synapse* 2003; 49: 239–45.
- Richardson EJ, Griffith HR, Martin RC, Paige AL, Stewart CC, Jones J, et al. Structural and functional neuroimaging correlates of depression in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav* 2007; 10: 242–9.
- Richer M, Hen R, Blier P. Modification of serotonin neuron properties in mice lacking 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Eur J Pharmacol* 2002; 435: 195–203.
- Ring HA, Acton PD, Scull D, Costa DC, Gacinovik S, Trimble MR. Patterns of brain activity in patients with epilepsy and depression. *Seizure* 1999; 8: 390–7.
- Robertson MM, Trimble MR, Townsend HR. Phenomenology of depression in epilepsy. *Epilepsia* 1987; 28: 364–72.
- Robinson RG, Boston JD, Starkstein SE, Price TR. Comparison of mania and depression after brain injury: causal factors. *Am J Psychiatry* 1988; 145: 172–8.
- Robinson RG, Kubos KL, Starr LB, Rao K, Price TR. Mood disorders in stroke patients. importance of location of lesion. *Brain* 1984; 107 (Pt 1): 81–93.
- Rosa-Neto P, Diksic M, Okazawa H, Leyton M, Ghadirian N, Mzengeza S, et al. Measurement of brain regional alpha-[<sup>11</sup>C]methyl-L-tryptophan trapping as a measure of serotonin synthesis in medication-free patients with major depression. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61: 556–63.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J, et al. Brain serotonin<sub>1A</sub> receptor binding measured by positron emission tomography with [11C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57: 174–80.
- Savic I, Lindstrom P, Gulyas B, Halldin C, Andree B, Farde L. Limbic reductions of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in human temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2004; 62: 1343–51.
- Saxena S, Brody AL, Ho ML, Alborzian S, Ho MK, Maidment KM, et al. Cerebral metabolism in major depression and obsessive-compulsive disorder occurring separately and concurrently. *Biol Psychiatry* 2001; 50: 159–70.
- Seminowicz DA, Mayberg HS, McIntosh AR, Goldapple K, Kennedy S, Segal Z, et al. Limbic-frontal circuitry in major depression: a path modeling meta-analysis. *Neuroimage* 2004; 22: 409–18.
- Sheline YI. Neuroimaging studies of mood disorder effects on the brain. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 338–52.
- Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC. Untreated depression and hippocampal volume loss. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 1516–8.
- Shelley BP, Trimble MR. The insular lobe of Reil—its anatomico-functional, behavioural and neuropsychiatric attributes in humans—a review. *World J Biol Psychiatry* 2004; 5: 176–200.
- Steer RA, Ball R, Ranieri WF, Beck AT. Dimensions of the Beck Depression Inventory-II in clinically depressed outpatients. *J Clin Psychol*. 1999; 55: 117–28.
- Stockmeier CA, Shapiro LA, Dillery GE, Kolli TN, Friedman L, Rajkowska G. Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression—postmortem evidence for decreased serotonin activity. *J Neurosci* 1998; 18: 7394–401.
- Sudha S, Lakshmana MK, Pradhan N. Phenobarbital in the anticonvulsant dose range does not impair learning and memory or alter brain AChE activity or monoamine levels. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54: 633–8.
- Sullivan GM, Oquendo MA, Simpson N, Van Heertum RL, Mann JJ, Parsey RV. Brain serotonin<sub>1A</sub> receptor binding in major depression is related to psychic and somatic anxiety. *Biol Psychiatry* 2005; 58: 947–54.
- Takebayashi M, Motohashi N, Saito H, Kagaya A, Yamawaki S. Effect of acute treatment with sodium valproate on catecholamine and serotonin synthesis in mouse cerebral cortex. *Neuropsychobiology* 1995; 32: 124–7.

- Tauscher J, Verhoeff NP, Christensen BK, Hussey D, Meyer JH, Kecojevic A, et al. Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding potential declines with age as measured by [<sup>11</sup>C]WAY-100635 and PET. *Neuropsychopharmacology* 2001; 24: 522–30.
- Theodore WH, Giovacchini G, Bonwetsch R, Bagic A, Reeves-Tyer P, Herscovitch P, et al. The effect of antiepileptic drugs on 5-HT-receptor binding measured by positron emission tomography. *Epilepsia*. 2006; 47: 499–503.
- Theodore WH, Hasler G, Giovacchini G, Kelley K, Reeves-Tyer P, Herscovitch P, et al. Reduced hippocampal 5HT<sub>1A</sub> PET receptor binding and depression in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48: 1526–30.
- Toczek MT, Carson RE, Lang L, Ma Y, Spanaki MV, Der MG, et al. PET imaging of 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2003; 60: 749–56.
- Underwood MD, Khaibulina AA, Ellis SP, Moran A, Rice PM, Mann JJ, et al. Morphometry of the dorsal raphe nucleus serotonergic neurons in suicide victims. *Biol Psychiatry* 1999; 46: 473–83.
- Victoroff JJ, Benson F, Grafton ST, Engel J Jr, Mazziotta JC. Depression in complex partial seizures. electroencephalography and cerebral metabolic correlates. *Arch Neurol* 1994; 51: 155–63.
- Videbech P, Ravnkilde B, Pedersen TH, Hartvig H, Egander A, Clemmensen K, et al. The Danish PET/depression project: clinical symptoms and cerebral blood flow. A regions-of-interest analysis. *Acta Psychiatr Scand* 2002; 106: 35–44.
- Weissmann-Nanopoulos D, Mach E, Magre S, Demassay Y, Pujol JF. Evidence for the localization of 5HT<sub>1A</sub>-A binding sites on serotonin containing neurons in the raphe dorsalis and raphe centralis nuclei of the rat brain. *Neurochem Int* 1985; 7: 1061–72.
- Wieser HG and ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy. ILAE commission report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia* 2004; 45: 695–714.
- Zimmer L, Mauger G, Le Bars D, Bonmarchand G, Luxen A, Pujol JF. Effect of endogenous serotonin on the binding of the 5-hT<sub>1A</sub> PET ligand 18F-MPPF in the rat hippocampus: kinetic beta measurements combined with microdialysis. *J Neurochem*. 2002; 80: 278–86.
- 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<sub>1A</sub> ligands. *J Med Chem* 1994; 37: 4572–5.

## DISCUSSION GENERALE

Les études menées à l'occasion de ce travail ont permis de situer la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF dans le cadre du bilan préchirurgical des ELT. Nous avons à la fois comparé cet examen à l'examen de référence : la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]FDG et évalué les différentes méthodes d'analyses permettant une sensibilité et une spécificité optimales.

Nous allons détailler dans ce chapitre les applications méthodologiques qui peuvent découler de la technique d'analyse de l'IA, développée pour le [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF. L'automatisation de la procédure, notamment, est l'étape indispensable qui permet d'accéder à l'application clinique routinière. Nous verrons donc quels peuvent être les avantages et les limites de l'application pratique d'un tel script.

Le second volet de cette discussion portera sur l'aspect clinique avec les implications pratiques que peut avoir la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF dans le cadre de l'évaluation préchirurgicale de l'épilepsie.

---

## CONSIDERATIONS METHODOLOGIQUES

### ROLE DE L'EFFET DE VOLUME PARTIEL ET DE LA NORMALISATION

Quelle que soit la méthode statistique d'analyse, la normalisation d'un volume sur un volume de référence induit une déformation de ce volume source. Cette déformation est plus importante dans les régions qui sont atrophiques et notamment l'hippocampe chez les patients souffrant d'une ELT. Cette « dilatation » artificielle causée par la normalisation peut être à l'origine d'une diminution de l'estimation du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF dans ces régions. Le risque était donc de détecter des régions atrophiques sans préjuger de leur caractère épileptogène ou non. Les résultats des études conduites dans ce travail vont contre cette hypothèse. En effet, une diminution significative du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF a été mise en évidence par l'analyse standard chez 11 des 17 patients sans sclérose de l'hippocampe. Deux cas seulement des 42 patients de notre cohorte peuvent avoir leur diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF expliquée par la seule atrophie (patients 12 et 28 de la première étude). En effet, dans tous les autres cas, cette diminution implique des régions cérébrales non atrophiques. Enfin, une étude utilisant un autre ligand des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, le [ $^{18}F$ ]FC-WAY, a démontré la persistance d'une diminution significative de ces récepteurs après correction de l'effet de volume partiel [Giovacchini, et al., 2005]. De plus, les mesures de  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF effectuées chez 12 patients présentant une EMT avec ou sans sclérose hippocampique plaident en faveur de valeur de  $BP_{ND}$  [ $^{18}F$ ]MPPF plus faibles dans les hippocampes atrophiques épileptogènes que dans les hippocampes épileptogènes de taille normale. Cette différence ne s'est cependant pas révélée significative ( $p=0,14$ ).

Le rôle joué par l'effet de volume partiel apparaît donc mineur et ne semble pas être source d'erreur dans le cadre de l'application clinique individuelle en routine. Bien entendu, cet effet peut être beaucoup plus important en cas de déformation importante du parenchyme cérébral, notamment chez des patients présentant des lésions volumineuses (tumeur ou séquelles ischémiques notamment). Ces situations particulières réclament une validation par une étude indépendante pour que les résultats puissent être interprétables en analyse individuelle.

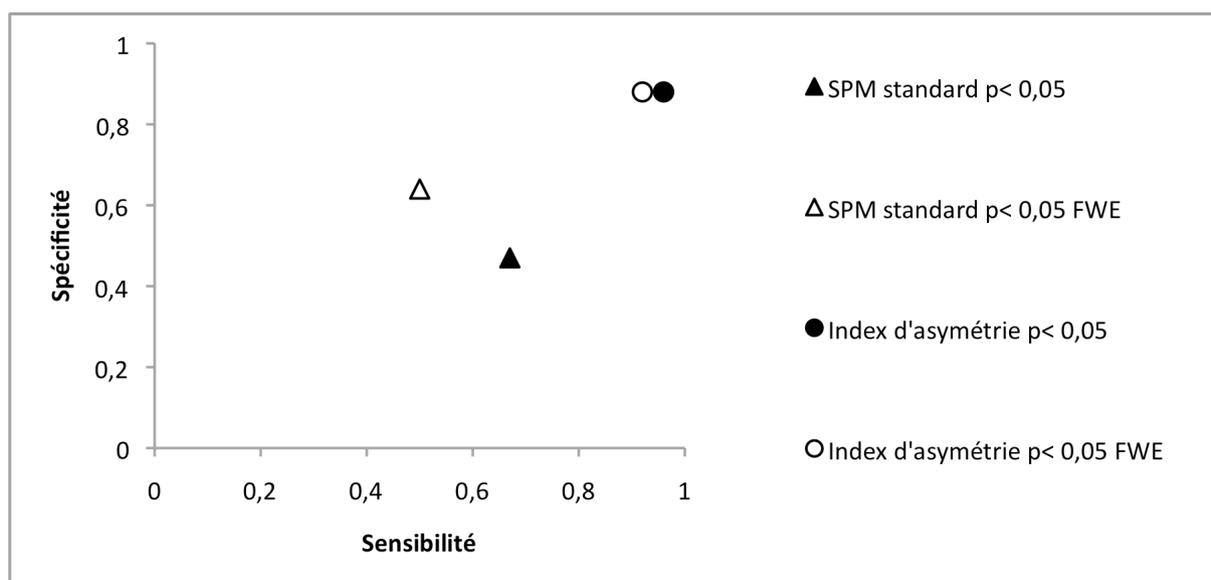
### LES DIFFERENTES METHODES D'ANALYSE

Avec les études rapportées dans ce travail, nous avons tenté de délimiter la ZE des patients souffrant d'ELT en utilisant le [<sup>18</sup>F]FDG en analyse visuelle et le [<sup>18</sup>F]MPPF en analyse visuelle, en analyse voxel à voxel standard et analyse voxel à voxel des cartes d'IA. Chaque analyse statistique a été réalisée avec deux seuils différents ( $p < 0,05$  corrigé au niveau du cluster et  $p < 0,05$  FWE corrigé au niveau du voxel). Pour chacune de ces méthodes d'analyse, une sensibilité et une spécificité ont pu être estimées. La figure 14 rappelle les différentes estimations de sensibilité et spécificité qui ont pu être réalisées pour l'analyse standard et de l'IA du BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF.

Seules ces dernières méthodes d'analyses ont pu être représentées de façon comparative sur ce graphique car ce sont celles pour lesquelles les définitions de la sensibilité et de la spécificité sont demeurées identiques. En effet, la spécificité a été définie dans la première étude comme le pourcentage d'examen où la diminution du [<sup>18</sup>F]MPPF était limitée à la ZE. Dans la seconde étude, c'est la localisation du voxel avec le Z-max qui a été retenue pour déterminer les vrais et les faux positifs utilisés pour le calcul de la spécificité. Cependant, l'évolution de cette définition de la spécificité a été dictée par les résultats de la

première étude. En effet, la corrélation entre diminution du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$  et épileptogénicité du parenchyme cérébral avait été établie à l'échelle du groupe {MERLET, 2004} mais la première étude rapportée ici a mis en évidence une concordance entre ZE et zone de diminution du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$  au niveau individuel. Dès lors, il est licite de considérer le voxel où le Z-score est maximal comme proche, si ce n'est localisateur, de la région la plus épileptogène.

La figure 14 illustre la supériorité de la méthode d'analyse de l'IA sur l'analyse SPM standard. Toutes les méthodes d'analyse ont une sensibilité correcte et le principal bénéfice obtenu en analysant l'IA du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$  porte sur la spécificité.



**Figure 14 : Représentation de la sensibilité et spécificité comparées des méthodes d'analyse standard et des index d'asymétrie**

$p < 0,05$  :  $p$  corrigé au niveau du cluster,  $p < 0,05$  FWE :  $p$  corrigé au niveau du voxel, FWE : family-wise error.

L'analyse visuelle s'est révélée sensible (> 80%) pour mettre en évidence des anomalies mais avec une spécificité médiocre (< 50%) et ce quel que soit le traceur utilisé.

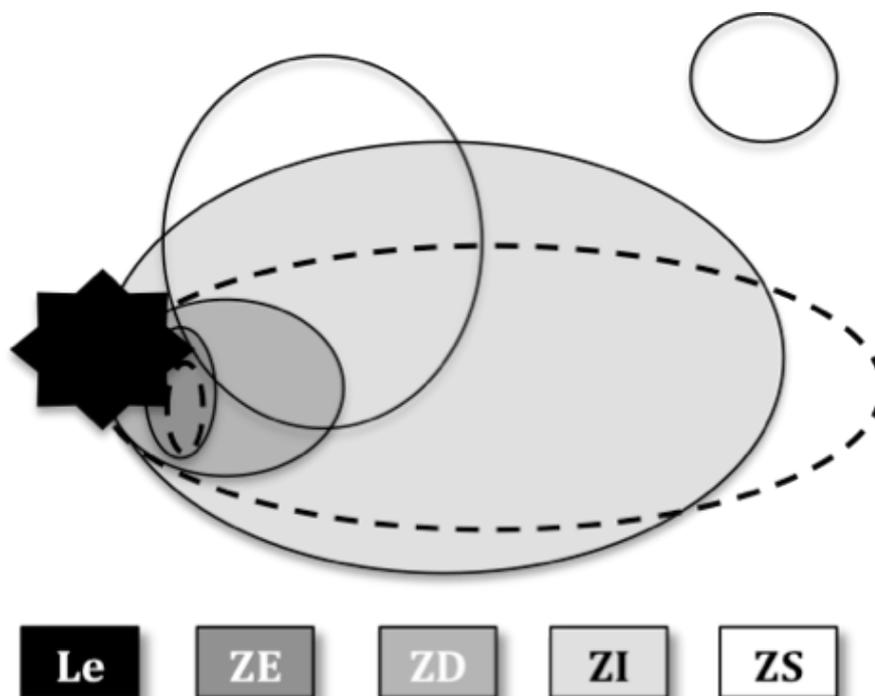
### **L'ANALYSE VOXEL A VOXEL DE L'IA**

Cette méthode se révèle robuste et significativement supérieure, en terme de sensibilité et spécificité, aux autres méthodes d'analyse étudiées pour mettre en évidence le lobe épileptogène. Le gain de sensibilité est majeur (100% contre 58%) lorsque l'on compare l'analyse d'IA à l'analyse standard à un seuil statistique de  $p < 0,05$  FWE corrigé au niveau du voxel. Comme cela a été discuté dans notre dernière étude, la valeur globale du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF varie dans de grandes proportions d'un sujet à l'autre. Il en résulte de grandes variations au sein d'un voxel. De fait, le taux de détection des voxels avec une valeur anormale chute. Le calcul de l'IA permet une normalisation intra-individuelle des valeurs ce qui limite l'effet dû à la grande variabilité inter-individuelle des valeurs du  $BP_{ND}$ . Cet effet normatif de l'IA a déjà été démontré avec la [ $^{11}C$ ]diprénorphine [Hammers, et al., 2007].

### **CHOIX DU Z-MAX POUR LA DEFINITION DE LA SPECIFICITE**

Il existe une corrélation démontrée entre épileptogénicité du tissu cérébral et diminution de la fixation du [ $^{18}F$ ]MPPF [Merlet, et al., 2004a]. Cette étude repose sur une méthodologie robuste d'enregistrement intra-cérébral par électrodes profondes mais n'a été réalisée qu'une seule fois et par notre équipe. Il serait donc nécessaire que cette relation soit étayée par d'autres travaux similaires. Cependant, la première étude rapportée dans notre travail {DIDELOT, 2008} étaye cette hypothèse sur le plan individuel. Même si ces différents travaux confirment cette hypothèse, le problème de la définition de la zone épileptogène ne

serait pas pour autant réglé. En effet, l'existence de plusieurs zones interdépendantes [Rosenow et Luders, 2001] que sont la ZE, la zone irritative, la zone symptomatogène et la zone de départ des crises témoigne de l'existence d'un gradient d'épileptogénicité dans le parenchyme cérébral du patient épileptique (Figure 15). Ce gradient est indirectement reflété par la diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF. Cependant, rien ne permet d'affirmer que la diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF se superpose à la ZE. Comme cela est schématisé dans la figure 10, la diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF implique probablement une grande partie de la ZE mais aucune étude à ce jour ne permet d'affirmer qu'elle s'y limite. L'étude réalisée dans notre centre [Merlet, et al., 2004a] permet cependant de constater que cette diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF est significativement moins marquée dans la zone irritative que dans la ZE et la zone de départ des crises, à l'échelle du groupe tout du moins. Cette diminution reflète donc essentiellement le parenchyme cérébral concerné par la ZE. Partant de ce postulat, l'identification du Z-max est apparue pertinente comme critère de spécificité car *a priori* corrélée à la localisation de la ZE. Cette hypothèse s'est vérifiée dans l'étude portant sur l'analyse des IA. En effet, la localisation du voxel associé au Z-score maximal est dans l'immense majorité des cas située dans la ZE et permet même de différencier les différents sous-types d'ELT.



*Figure 15 : schéma des différentes zones d'excitabilité corticale et leur rapport à la diminution du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$*

*Le : lésion, ZD : zone de départ de la crise, ZE : zone épileptogène, ZI : zone irritative, ZS : zone(s) symptomatogène(s). Les ellipses en pointillés représentent les limites minimales et maximales théoriques de la diminution du  $BP_{ND}$  du  $[^{18}F]MPPF$ .*

#### SCRIPT D'AUTOMATISATION DE LA PROCEDURE D'ANALYSE

La rédaction conjointe à une technique d'analyse d'un script d'exécution est nécessaire à la diffusion de cette technique. Cette procédure permet en effet une reproductibilité de la méthode entre les utilisateurs.

Un autre avantage du script d'exécution est le gain de temps. En effet, le renseignement des différentes informations nécessaires à l'analyse prend environ 1 minute à l'utilisateur et la génération des cartes de  $BP_{ND}$ , d'IA et des contrastes statistiques prend

moins de 3 minutes. La même procédure, réalisée manuellement, requiert au moins une vingtaine de minutes pour chaque modalité (analyse standard et IA).

L'utilisation de ce script d'exécution exige cependant une parfaite connaissance des différentes opérations réalisées et de la façon dont elles sont effectuées par ce script. Le risque d'erreur est en effet important mais limité par quelques « sécurités » dans le programme : l'examen TEP d'un patient ne peut être normalisé qu'à partir de l'IRM ou de l'image somme de ce même patient, différents filtres permettent, à chaque étape de sélection préalable à l'analyse, de présélectionner des fichiers cohérents en terme de format et de nom pour l'analyse qui est prévue. L'ensemble de ces filtres peut être modifié en fonction des besoins de l'analyse.

---

## CONSIDERATIONS CLINIQUES

### APPLICATION A L'ÉPILEPSIE DU LOBE TEMPORAL

Le [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF apparaît supérieur au [ $^{18}\text{F}$ ]FDG pour identifier le lobe épileptogène dans le cadre de l'ELT. Les anomalies constatées avec le [ $^{18}\text{F}$ ]FDG sont en effet souvent plus vastes, concernent plusieurs lobes et rendent de fait la délimitation précise d'un ZE supposée souvent grossière. Il a même été constaté dans notre première étude un cas de mauvaise latéralisation du foyer épileptogène sur la base de l'analyse visuelle de la TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]FDG.

Cependant, pour un des patients étudiés, les résultats de l'étude portant sur les index d'asymétrie posent question. Ce patient [n°20], appartenant au sous-groupe épilepsie temporo-mésiale sans sclérose hippocampique (MT<sub>noHS</sub>), fut classé Ib de Engel après lobectomie temporale antérieure réglée et avec un recul post-opératoire de près de 4 ans alors qu'aucune anomalie de l'index d'asymétrie ne fut mise en évidence dans les structures temporo-mésiales. Chez ce patient un cluster significatif de diminution de la fixation du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF était présent en localisation extra-temporale tant en analysant les AI que par analyse SPM standard. Dès lors, quelle signification a cette anomalie de l'index d'asymétrie ? Elle ne peut pas, dans le cas présent, être considérée comme la conséquence de modifications des récepteurs par un parenchyme cérébral potentiellement épileptogène puisque le patient est guéri de ses crises. Cette constatation est cependant demeurée marginale mais suggère que des modifications importantes du BP<sub>ND</sub> du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF peuvent survenir en dehors de la ZE Il apparaît donc nécessaire d'évaluer dans une population plus large de patients la fréquence d'observation de ce type d'anomalie.

Les études menées dans ce travail sont donc insuffisantes pour démontrer de façon absolue la signification exacte de la diminution du BP<sub>ND</sub> du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF. En effet, le seul

moyen de connaître avec certitude la région cérébrale contenant la ZE était d'effectuer notre étude sur des patients opérés et guéris. Cependant, cette étude ne répond pas à la question de la localisation de la diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF chez des patients opérés non guéris. Ainsi, la mise en évidence d'un Z-score maximal situé dans les régions temporales internes chez des patients EMT opérés non guéris remettrait en cause la pertinence de la TEP au [ $^{18}F$ ]MPPF dans le cadre du bilan préchirurgical de ces épilepsies.

L'étude de l'IA chez les patients EMT non guéris par la chirurgie apparaît l'étape suivante nécessaire pour établir complètement la TEP au [ $^{18}F$ ]MPPF comme légitime dans le bilan préopératoire de ces épilepsies. Si cette technique apparaît robuste pour localiser la ZE (à une exception près) chez les patients guéris, il faut aussi démontrer que les patients non guéris ont un Z-score maximum en dehors de la zone initialement supposée épileptogène.

Une corrélation plus fine encore pourrait être établie entre diminution du  $BP_{ND}$  du [ $^{18}F$ ]MPPF et épileptogénicité. Une étude en comparant, chez des patients implantés en SEEG et thermocoagulés, la localisation du voxel avec le Z-score max et celle des plots thermocoagulés, pourrait ainsi préciser la pertinence du choix du Z-max comme localisateur de la ZE.

### **APPLICATION AUX AUTRES EPILEPSIES**

Les constatations faites pour la TEP au [ $^{18}F$ ]MPPF dans l'ELT demandent à être confirmées pour toutes les autres épilepsies partielles. En effet, la répartition naturelle des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> (très représentés dans le cortex limbique) fait du [ $^{18}F$ ]MPPF un traceur propice à mettre en évidence des anomalies dans ces régions. Il est donc possible que la TEP au [ $^{18}F$ ]MPPF soit moins performante pour l'identification des ZE extra-temporales. Une étude s'attachant à l'analyse de patients souffrant d'épilepsies extra-temporales apparaît elle

aussi nécessaire. Le principal écueil pour cette étude est la localisation de la ZE. En effet, l'étude peut être restreinte à des patients opérés et guéris mais dans ce cas, les effectifs seront plus petits que dans les ELT et hétérogènes en terme de localisation de ZE. Les épilepsies lésionnelles posent le problème de la déformation (plus ou moins importante) du parenchyme cérébral et ses conséquences lors de l'analyse statistique. La normalisation d'un cerveau déformé est en effet à l'origine de nombreux artefacts de distorsion. Les épilepsies frontales cryptogéniques sont de bonnes candidates pour l'analyse de l'IA mais pose le problème de la définition précise de la ZE qui est toujours très difficile dans ce sous-groupe d'épilepsie.

Indépendamment du type de traceur, on peut aussi considérer le type d'analyse. L'analyse de l'IA se révèle en effet supérieure à l'analyse visuelle et à l'analyse standard pour le [<sup>18</sup>F]MPPF. La prochaine étape du développement de cette méthode d'analyse sera donc son application aux autres traceurs utilisés au sein du CERMEP – imagerie du vivant. Il est ainsi prévu de réaliser un script d'exécution pour le [<sup>18</sup>F]FDG et le [<sup>11</sup>C]Flumazénil.

### INTERACTION ENTRE EPILEPSIE ET DEPRESSION

De nombreux facteurs peuvent modifier l'expression des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et, parmi ceux-ci, l'un des plus importants semble être l'existence d'un syndrome dépressif. Comme cela a été montré dans l'étude portant sur la comorbidité épilepsie et dépression, l'existence d'un état dépressif, tel qu'évalué par la BDI-II, chez des patients souffrant d'une ELT est corrélé positivement avec le BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF dans l'insula gauche et les noyaux du raphé. Cette modification de BP<sub>ND</sub> du [<sup>18</sup>F]MPPF a été retrouvée dans la population de patients étudiés mais dans des régions non concernées par les ZE. Ces régions, mises en évidence dans les analyses de groupe n'ont pas été retrouvées sur le plan individuel. Il apparaît donc que ces modifications de l'expression des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> sont de moindre importance que celles

observées du fait du processus épileptogène et n'ont, dans notre population, pas d'impact significatif sur la détermination individuelle de la ZE.

### **LA DIMINUTION DU $BP_{ND}$ [ $^{18}F$ ]MPPF REFLETE-T-ELLE LA ZE ?**

Il a été montré dans des travaux précédents et confirmé dans nos études qu'il existait une probable corrélation entre épileptogénicité et diminution du  $BP_{ND}$  [ $^{18}F$ ]MPPF. Cependant, l'étendue de cette diminution est appréciée de façon fort différente selon la méthode d'analyse utilisée et/ou, dans le cas d'une analyse statistique, en fonction du seuil de significativité choisi.

L'analyse visuelle permet ainsi d'identifier de larges plages de diminution du  $BP_{ND}$  [ $^{18}F$ ]MPPF tandis que l'analyse de l'IA à un seuil statistique rigoureux réduit la zone de diminution significative à une poignée de voxels. L'analyse est rendue caricaturale lorsque l'on choisit, comme c'est le cas de la deuxième étude, de ne tenir compte que de la localisation du voxel associé au Z-score maximal pour localiser la ZE. Les deux études menées ici avec plusieurs techniques d'analyse différentes ne font que montrer les images d'une réalité identique déformée par la méthode d'observation : il existe une diminution du  $BP_{ND}$  [ $^{18}F$ ]MPPF dont les contours sont flous et qui s'étend de façon plus ou moins large selon la limite fixée pour que la diminution soit jugée significative. En cela, aucune des méthodes employées ici ne peut être considérée comme plus adaptée en ce sens qu'elles tendent chacune à définir une ZE dont les contours exacts sont de toute façon inconnus.

La problématique est donc, dans le contexte préchirurgical, de décider quel est le meilleur positionnement du seuil de significativité pour obtenir des informations pertinentes en terme de décision chirurgicale. En cela, le choix de l'analyse de l'IA apparaît adéquat car il discrimine de façon robuste les EMT et différencie aussi correctement les NC.

---

## PERSPECTIVES

### AMELIORATION DE L'EVALUATION DES METHODES D'ANALYSE DE LA TEP AU [<sup>18</sup>F]MPPF

Au cours de ce travail, nous avons constaté que l'une des principales difficultés pour juger de la pertinence d'une méthode d'analyse était le choix du type de mesure à effectuer et la définition de la sensibilité et la spécificité. En effet, nous avons déjà du nous limiter à l'une des constantes mesurables, le  $BP_{ND}$ , alors que ce traceur répond à un modèle tri-compartimental et que le  $k_2$  aurait tout aussi bien pu être étudié. Le  $BP_{ND}$  nous est apparu le mieux refléter l'expression des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>. Une fois ce paramètre choisi, il faut à nouveau déterminer un choix dans le type de mesure : les clusters mis en évidence doivent-ils être considérés par rapport à un lobe ou à une région anatomique plus restreinte supposée épileptogène ? La précision de cette mesure dépend largement des résultats du bilan chirurgical mais cette délimitation de la ZE reste très imparfaite. Choisir des patients opérés, comme c'est le cas dans notre dernière étude, ne répond qu'à une partie de la question car permet uniquement de prouver que la ZE était incluse dans la région concernée par la cortectomie. Cela ne permet en aucun cas de démontrer que certaines régions extirpées auraient finalement pu être préservées. C'est la problématique commune aux épilepsies impliquant la face latérale du lobe temporal où la question de l'épargne des structures mésiales se pose constamment.

Afin de contourner les différents problèmes évoqués ci-dessus, il semble nécessaire de disposer d'une méthode d'évaluation objective quantifiée de la sensibilité et de la spécificité d'une méthode d'analyse d'un examen TEP dans une condition donnée. Cette évaluation objective est dorénavant rendue possible par la création d'examen TEP simulés. En effet, les

différentes étapes de la reconstruction d'un examen TEP au [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF ont été reproduites à partir de données brutes simulées à partir de notre banque de témoins. L'intérêt fondamental de ces données simulées est le fait que la valeur initiale de la radioactivité dans chaque voxel est connue. Cette valeur va se trouver modifiée au cours des différentes étapes qui vont conduire à la construction de la carte de  $\text{BP}_{\text{ND}}$ . Ces modifications de valeur seront le fait des approximations effectuées à chaque étape de la construction de cette carte. La carte de  $\text{BP}_{\text{ND}}$  résultante sera donc une simulation réaliste prenant en compte l'ensemble des imprécisions de la chaîne de traitement de l'image. Par ailleurs, il est possible de générer, dans une ou plusieurs régions données, des modifications de la valeur de la radioactivité. Par exemple, on peut décider de diminuer de 10, 20, 40 ou 80% la valeur du signal dans un hippocampe (l'encéphale est arbitrairement divisé en 127 régions d'intérêt). Il est ainsi possible de créer une base de témoins simulés et une base de témoins présentant des diminutions du  $\text{BP}_{\text{ND}}$  du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF d'intensité et dans des régions anatomiques différentes.

Nous disposerions alors des données nécessaires pour une évaluation objective des méthodes d'analyse et il deviendrait possible de déterminer le taux de faux positifs et de vrais négatifs en évaluant le nombre (et la localisation) des voxels anormalement détectés dans notre population simulée ainsi que le taux de faux négatifs et de vrais positifs. La simulation de différents degrés de diminutions dans des régions données permettra de définir le seuil de sensibilité de la méthode et ce en fonction de la région anatomique concernée. Il est en effet probable que le seuil de détection dépende notamment de l'importance de la représentation des récepteurs  $5\text{-HT}_{1\text{A}}$  dans une région donnée.

Une fois appliquée à la mesure de la fixation du [ $^{18}\text{F}$ ]MPPF, cette technique d'évaluation objective des méthodes d'analyse pourra être étendue à d'autres traceurs, en premier lieu le [ $^{18}\text{F}$ ]FDG.

## REFERENCES

**Ahmad S., Fowler L.J., Whitton P.S.** Lamotrigine, carbamazepine and phenytoin differentially alter extracellular levels of 5-hydroxytryptamine, dopamine and amino acids. *Epilepsy Res.* 2005; 63: 141-9

**Andrade R., Nicoll R.A.** Pharmacologically distinct actions of serotonin on single pyramidal neurones of the rat hippocampus recorded in vitro. *J Physiol.* 1987; 394: 99-124

**Asberg M., Thoren P., Traskman L., Bertilsson L., Ringberger V.** "Serotonin depression"-a biochemical subgroup within the affective disorders? *Science.* 1976; 191: 478-80

**Ashburner J., Friston K.** Multimodal image coregistration and partitioning--a unified framework. *NeuroImage.* 1997; 6: 209-17

**Bagdy G., Kecskemeti V., Riba P., Jakus R.** Serotonin and epilepsy. *J Neurochem.* 2007; 100: 857-73

**Barnes N.M., Sharp T.** A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 1999; 38: 1083-152

**Bartenstein P.A., Duncan J.S., Pevett M.C., Cunningham V.J., Fish D.R., Jones A.K., et al.** Investigation of the opioid system in absence seizures with positron emission tomography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1993; 56: 1295-302

**Beck S.G., Choi K.C.** 5-hydroxytryptamine hyperpolarizes ca3 hippocampal pyramidal cells through an increase in potassium conductance. *Neurosci Lett.* 1991; 133: 93-6

**Bercovici E., Cortez M.A., Wang X., Snead O.C., 3rd.** Serotonin depletion attenuates ay-9944-mediated atypical absence seizures. *Epilepsia.* 2006; 47: 240-6

**Bhagwagar Z., Rabiner E.A., Sargent P.A., Grasby P.M., Cowen P.J.** Persistent reduction in brain serotonin1a receptor binding in recovered depressed men measured by positron emission tomography with [11c]way-100635. *Mol Psychiatry.* 2004; 9: 386-92

**Bonnycastle D.D., Giarman N.J., Paasonen M.K.** Diphenylhydantoin and brain-levels and 5-hydroxytryptamine. *Nature.* 1956; 178: 990-1

**Borowicz K.K., Stepien K., Czuczwar S.J.** Fluoxetine enhances the anticonvulsant effects of conventional antiepileptic drugs in maximal electroshock seizures in mice. *Pharmacol Rep.* 2006; 58: 83-90

**Bouvard S., Costes N., Bonnefoi F., Lavenne F., Manguiere F., Delforge J., et al.** Seizure-related short-term plasticity of benzodiazepine receptors in partial epilepsy: A [11c]flumazenil-pet study. *Brain.* 2005; 128: 1330-43

**Bradley P.B., Engel G., Feniuk W., Fozard J.R., Humphrey P.P., Middlemiss D.N., et al.** Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology.* 1986; 25: 563-76

**Brennan T.J., Seeley W.W., Kilgard M., Schreiner C.E., Tecott L.H.** Sound-induced seizures in serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor mutant mice. *Nat Genet.* 1997; 16: 387-90

**Brix G., Zaers J., Adam L.E., Bellemann M.E., Ostertag H., Trojan H., et al.** Performance evaluation of a whole-body PET scanner using the NEMA protocol. National Electrical Manufacturers Association. *Journal of Nuclear Medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine.* 1997; 38: 1614-23

**Browning R.A., Hoffmann W.E., Simonton R.L.** Changes in seizure susceptibility after intracerebral treatment with 5,7-dihydroxytryptamine: Role of serotonergic neurons. *Ann N Y Acad Sci.* 1978; 305: 437-56

**Buterbaugh G.G.** Effect of drugs modifying central serotonergic function on the response of extensor and nonextensor rats to maximal electroshock. *Life Sci.* 1978; 23: 2393-404

**Chassoux F., Semah F., Bouilleret V., Landre E., Devaux B., Turak B., et al.** Metabolic changes and electro-clinical patterns in mesio-temporal lobe epilepsy: A correlative study. *Brain : a journal of neurology.* 2004; 127: 164-74

**Chugani D.C., Chugani H.T., Muzik O., Shah J.R., Shah A.K., Canady A., et al.** Imaging epileptogenic tubers in children with tuberous sclerosis complex using alpha-[<sup>11</sup>C]methyl-L-tryptophan positron emission tomography. *Ann Neurol.* 1998; 44: 858-66

**Cidis Meltzer C., Drevets W.C., Price J.C., Mathis C.A., Lopresti B., Greer P.J., et al.** Gender-specific aging effects on the serotonin 1A receptor. *Brain Res.* 2001; 895: 9-17

**Costes N., Merlet I., Ostrowsky K., Faillenot I., Lavenne F., Zimmer L., et al.** A 18f-mppf pet normative database of 5-ht1a receptor binding in men and women over aging. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine.* 2005; 46: 1980-9

**Costes N., Merlet I., Zimmer L., Lavenne F., Cinotti L., Delforge J., et al.** Modeling [18f]mppf positron emission tomography kinetics for the determination of 5-hydroxytryptamine(1a) receptor concentration with multiinjection. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2002; 22: 753-65

**Costes N., Zimmer L., Reilhac A., Lavenne F., Ryvlin P., Le Bars D.** Test-retest reproducibility of 18f-mppf pet in healthy humans: A reliability study. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine.* 2007; 48: 1279-88

**Dailey J.W., Reigel C.E., Mishra P.K., Jobe P.C.** Neurobiology of seizure predisposition in the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsy Res.* 1989; 3: 3-17

**Dailey J.W., Yan Q.S., Mishra P.K., Burger R.L., Jobe P.C.** Effects of fluoxetine on convulsions and on brain serotonin as detected by microdialysis in genetically epilepsy-prone rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992; 260: 533-40

**Dailey J.W., Reith M.E., Yan Q.S., Li M.Y., Jobe P.C.** Anticonvulsant doses of carbamazepine increase hippocampal extracellular serotonin in genetically epilepsy-prone rats: Dose response relationships. *Neurosci Lett.* 1997; 227: 13-6

**Delforge J., Spelle L., Bendriem B., Samson Y., Bottlaender M., Papageorgiou S., et al.** Quantitation of benzodiazepine receptors in human brain using the partial saturation method. *J Nucl Med.* 1996; 37: 5-11

**Dhaenen H.** Imaging the serotonergic system in depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2001; 251 Suppl 2: II76-80

**Didelot A., Ryvlin P., Lothe A., Merlet I., Hammers A., Mauguiere F.** Pet imaging of brain 5-HT<sub>1a</sub> receptors in the preoperative evaluation of temporal lobe epilepsy. *Brain.* 2008; 131: 2751-64

**Diehl B., Busch R.M., Duncan J.S., Piao Z., Tkach J., Luders H.O.** Abnormalities in diffusion tensor imaging of the uncinate fasciculus relate to reduced memory in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2008; 49: 1409-18

**Drevets W.C., Frank E., Price J.C., Kupfer D.J., Greer P.J., Mathis C.** Serotonin type-1a receptor imaging in depression. *Nucl Med Biol.* 2000; 27: 499-507

**Drevets W.C., Frank E., Price J.C., Kupfer D.J., Holt D., Greer P.J., et al.** Pet imaging of serotonin 1a receptor binding in depression. *Biol Psychiatry.* 1999; 46: 1375-87

**Drevets W.C., Thase M.E., Moses-Kolko E.L., Price J., Frank E., Kupfer D.J., et al.** Serotonin-1a receptor imaging in recurrent depression: Replication and literature review. *Nucl Med Biol.* 2007; 34: 865-77

**Duncan J.** The current status of neuroimaging for epilepsy. *Curr Opin Neurol.* 2009; 22: 179-84

**Dunn R.T., Kimbrell T.A., Ketter T.A., Frye M.A., Willis M.W., Luckenbaugh D.A., et al.** Principal components of the beck depression inventory and regional cerebral metabolism in unipolar and bipolar depression. *Biol Psychiatry.* 2002; 51: 387-99

**Engel J., Jr., Wiebe S., French J., Sperling M., Williamson P., Spencer D., et al.** Practice parameter: Temporal lobe and localized neocortical resections for epilepsy: Report of the quality standards subcommittee of the american academy of neurology, in association with the american epilepsy society and the american association of neurological surgeons. *Neurology.* 2003; 60: 538-47

**Erspamer V., Asero B.** Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature.* 1952; 169: 800-1

**Erspamer V., Vialli M.** Ricerche sul secreto delle cellule enterocromaffini. *Boll Soc Med-Chir Pavia.* 1937; 51: 357-63

**Filakovszky J., Gerber K., Bagdy G.** A serotonin-1a receptor agonist and an n-methyl-d-aspartate receptor antagonist oppose each others effects in a genetic rat epilepsy model. *Neurosci Lett.* 1999; 261: 89-92

**Filakovszky J., Kantor S., Halasz P., Bagdy G.** 8-oh-dpat and mk-801 affect epileptic activity independently of vigilance. *Neurochem Int.* 2001; 38: 551-6

**French J.A., Williamson P.D., Thadani V.M., Darcey T.M., Mattson R.H., Spencer S.S., et al.** Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Annals of neurology.* 1993; 34: 774-80

**Friston K.J.** Commentary and opinion: Ii. Statistical parametric mapping: Ontology and current issues. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1995; 15: 361-70

**Friston K.J., Frith C.D., Liddle P.F., Frackowiak R.S.** Comparing functional (pet) images: The assessment of significant change. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1991; 11: 690-9

**Frost J.J., Mayberg H.S., Fisher R.S., Douglass K.H., Dannals R.F., Links J.M., et al.** Mu-opiate receptors measured by positron emission tomography are increased in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol.* 1988; 23: 231-7

**Frost J.J., Mayberg H.S., Sadzot B., Dannals R.F., Lever J.R., Ravert H.T., et al.** Comparison of [<sup>11</sup>C]diprenorphine and [<sup>11</sup>C]carfentanil binding to opiate receptors in humans by positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1990; 10: 484-92

**Fukuda M., Masuda H., Honma J., Fujimoto A., Kameyama S., Tanaka R.** Ictal spect in supplementary motor area seizures. *Neurol Res.* 2006; 28: 845-8

**Gariboldi M., Tutka P., Samanin R., Vezzani A.** Stimulation of 5-ht<sub>1a</sub> receptors in the dorsal hippocampus and inhibition of limbic seizures induced by kainic acid in rats. *Br J Pharmacol.* 1996; 119: 813-8

**Gerber K., Filakovszky J., Halasz P., Bagdy G.** The 5-ht<sub>1a</sub> agonist 8-oh-dpat increases the number of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1998; 807: 243-5

**Ginovart N., Hassoun W., Le Bars D., Weissmann D., Leviel V.** In vivo characterization of p-[(18)f]mppf, a fluoro analog of way-100635 for visualization of 5-ht(1a) receptors. *Synapse.* 2000; 35: 192-200

**Giovacchini G., Toczek M.T., Bonwetsch R., Bagic A., Lang L., Fraser C., et al.** 5-ht<sub>1a</sub> receptors are reduced in temporal lobe epilepsy after partial-volume correction. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine.* 2005; 46: 1128-35

**Graf M., Jakus R., Kantor S., Levay G., Bagdy G.** Selective 5-ht<sub>1a</sub> and 5-ht<sub>7</sub> antagonists decrease epileptic activity in the wag/rij rat model of absence epilepsy. *Neurosci Lett.* 2004; 359: 45-8

**Guenot M., Isnard J., Ryvlin P., Fischer C., Ostrowsky K., Mauguiere F., et al.** Neurophysiological monitoring for epilepsy surgery: The talairach seeg method. Stereoelectroencephalography. Indications, results, complications and therapeutic applications in a series of 100 consecutive cases. *Stereotact Funct Neurosurg.* 2001; 77: 29-32

**Gunn R.N., Sargent P.A., Bench C.J., Rabiner E.A., Osman S., Pike V.W., et al.** Tracer kinetic modeling of the 5-ht1a receptor ligand [carbonyl-11c]way-100635 for pet. *NeuroImage*. 1998; 8: 426-40

**Hamandi K., Powell H.W., Laufs H., Symms M.R., Barker G.J., Parker G.J., et al.** Combined eeg-fmri and tractography to visualise propagation of epileptic activity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79: 594-7

**Hamelin E., Fisher F.** The synthesis of 5-hydroxytryptamine. *J Am Chem Soc*. 1951; 73: 5007-8

**Hammers A., Allom R., Koeppe M.J., Free S.L., Myers R., Lemieux L., et al.** Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum Brain Mapp*. 2003; 19: 224-47

**Hammers A., Asselin M.C., Hinz R., Kitchen I., Brooks D.J., Duncan J.S., et al.** Upregulation of opioid receptor binding following spontaneous epileptic seizures. *Brain*. 2007; 130: 1009-16

**Hammers A., Asselin M.C., Turkheimer F.E., Hinz R., Osman S., Hotton G., et al.** Balancing bias, reliability, noise properties and the need for parametric maps in quantitative ligand pet: [(11)c]diprenorphine test-retest data. *NeuroImage*. 2007; 38: 82-94

**Hammers A., Koepp M.J., Labbé C., Brooks D.J., Thom M., Cunningham V.J., et al.**  
Neocortical abnormalities of [11c]-flumazenil pet in mesial temporal lobe epilepsy.  
Neurology. 2001; 56: 897-906

**Henry T.R., Frey K.A., Sackellares J.C., Gilman S., Koepp R.A., Brunberg J.A., et al.**  
In vivo cerebral metabolism and central benzodiazepine-receptor binding in temporal lobe  
epilepsy. Neurology. 1993; 43: 1998-2006

**Houdé O., Mazoyer B., Tzourio-Mazoyer N.** Cerveau et psychologie, introduction à  
l'imagerie cérébrale anatomique. 2002.

**Hoyer D., Clarke D.E., Fozard J.R., Hartig P.R., Martin G.R., Mylecharane E.J., et al.**  
International union of pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine  
(serotonin). Pharmacol Rev. 1994; 46: 157-203

**Hoyer D., Hannon J.P., Martin G.R.** Molecular, pharmacological and functional diversity  
of 5-ht receptors. Pharmacol Biochem Behav. 2002; 71: 533-54

**Hoyer D., Martin G.** 5-ht receptor classification and nomenclature: Towards a harmonization  
with the human genome. Neuropharmacology. 1997; 36: 419-28

**Humphrey P.P., Hartig P., Hoyer D.** A proposed new nomenclature for 5-ht receptors.  
Trends Pharmacol Sci. 1993; 14: 233-6

**Innis R.B., Cunningham V.J., Delforge J., Fujita M., Gjedde A., Gunn R.N., et al.** Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2007; 27: 1533-9

**Jakus R., Graf M., Juhasz G., Gerber K., Levay G., Halasz P., et al.** 5-HT<sub>2C</sub> receptors inhibit and 5-HT<sub>1A</sub> receptors activate the generation of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. *Exp Neurol*. 2003; 184: 964-72

**Jobe P.C., Picchioni A.L., Chin L.** Role of brain 5-hydroxytryptamine in audiogenic seizure in the rat. *Life Sci*. 1973; 13: 1-13

**Jones J.E., Hermann B.P., Barry J.J., Gilliam F., Kanner A.M., Meador K.J.** Clinical assessment of axis I psychiatric morbidity in chronic epilepsy: A multicenter investigation. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2005; 17: 172-9

**Juhasz C., Chugani D.C., Muzik O., Shah A., Asano E., Mangner T.J., et al.** Alpha-methyl-L-tryptophan PET detects epileptogenic cortex in children with intractable epilepsy. *Neurology*. 2003; 60: 960-8

**Juhasz C., Chugani D.C., Muzik O., Watson C., Shah J., Shah A., et al.** Electroclinical correlates of flumazenil and fluorodeoxyglucose PET abnormalities in lesional epilepsy. *Neurology*. 2000; 55: 825-35

**Kagawa K., Chugani D.C., Asano E., Juhasz C., Muzik O., Shah A., et al.** Epilepsy surgery outcome in children with tuberous sclerosis complex evaluated with alpha-[11c]methyl-l-tryptophan positron emission tomography (pet). *J Child Neurol.* 2005; 20: 429-38

**Kahane P., Landre E., Minotti L., Francione S., Ryvlin P.** The Bancaud and Talairach view on the epileptogenic zone: A working hypothesis. *Epileptic Disord.* 2006; 8 Suppl 2: S16-26

**Kang K.W., Lee D.S., Cho J.H., Lee J.S., Yeo J.S., Lee S.K., et al.** Quantification of f-18 fdg pet images in temporal lobe epilepsy patients using probabilistic brain atlas. *NeuroImage.* 2001; 14: 1-6

**Kanner A.M.** Depression in epilepsy: Prevalence, clinical semiology, pathogenic mechanisms, and treatment. *Biol Psychiatry.* 2003; 54: 388-98

**Keckskemeti V., Rusznak Z., Riba P., Pal B., Wagner R., Harasztosi C., et al.** Norfluoxetine and fluoxetine have similar anticonvulsant and ca<sup>2+</sup> channel blocking potencies. *Brain Res Bull.* 2005; 67: 126-32

**Kilian M., Frey H.** Central monoamines and convulsive thresholds in mice and rats. *Neuropharmacology.* 1973; 12: 681-92

**Kim Y.K., Lee D.S., Lee S.K., Kim S.K., Chung C.K., Chang K.H., et al.** Differential features of metabolic abnormalities between medial and lateral temporal lobe epilepsy: Quantitative analysis of (18)f-fdg pet using spm. *J Nucl Med.* 2003; 44: 1006-12

**Knake S., Halgren E., Shiraishi H., Hara K., Hamer H.M., Grant P.E., et al.** The value of multichannel meg and eeg in the presurgical evaluation of 70 epilepsy patients. *Epilepsy Res.* 2006; 69: 80-6

**Knowlton R.C., Elgavish R.A., Bartolucci A., Ojha B., Limdi N., Blount J., et al.** Functional imaging: Ii. Prediction of epilepsy surgery outcome. *Ann Neurol.* 2008a; 64: 35-41

**Knowlton R.C., Elgavish R.A., Limdi N., Bartolucci A., Ojha B., Blount J., et al.** Functional imaging: I. Relative predictive value of intracranial electroencephalography. *Ann Neurol.* 2008b; 64: 25-34

**Koepp M.J., Hammers A., Labbe C., Woermann F.G., Brooks D.J., Duncan J.S.** 11c-flumazenil pet in patients with refractory temporal lobe epilepsy and normal mri. *Neurology.* 2000; 54: 332-9

**Koepp M.J., Hand K.S., Labbe C., Richardson M.P., Van Paesschen W., Baird V.H., et al.** In vivo [11c]flumazenil-pet correlates with ex vivo [3h]flumazenil autoradiography in hippocampal sclerosis. *Ann Neurol.* 1998; 43: 618-26

**Koepp M.J., Richardson M.P., Brooks D.J., Duncan J.S.** Focal cortical release of endogenous opioids during reading-induced seizures. *Lancet.* 1998; 352: 952-5

**Koepp M.J., Richardson M.P., Labbe C., Brooks D.J., Cunningham V.J., Ashburner J., et al.** 11c-flumazenil pet, volumetric mri, and quantitative pathology in mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 1997; 49: 764-73

**Kung H.F., Stevenson D.A., Zhuang Z.P., Kung M.P., Frederick D., Hurt S.D.** New 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist: [3H]p-mppf. *Synapse*. 1996; 23: 344-6

**Le Bars D., Lemaire C., Ginovart N., Plenevaux A., Aerts J., Brihaye C., et al.** High-yield radiosynthesis and preliminary in vivo evaluation of p-[18F]mppf, a fluoro analog of way-100635. *Nuclear medicine and biology*. 1998; 25: 343-50

**Leander J.D.** Fluoxetine, a selective serotonin-uptake inhibitor, enhances the anticonvulsant effects of phenytoin, carbamazepine, and ameltolide (ly201116). *Epilepsia*. 1992; 33: 573-6

**Lee J.S., Juhasz C., Kaddurah A.K., Chugani H.T.** Patterns of cerebral glucose metabolism in early and late stages of rasmussen's syndrome. *J Child Neurol*. 2001; 16: 798-805

**Lerner-Natoli M.** Serotonin and kindling development. *Int J Neurosci*. 1987; 36: 139-51

**Lin T.W., de Aburto M.A., Dahlbom M., Huang L.L., Marvi M.M., Tang M., et al.** Predicting seizure-free status for temporal lobe epilepsy patients undergoing surgery: Prognostic value of quantifying maximal metabolic asymmetry extending over a specified proportion of the temporal lobe. *J Nucl Med*. 2007; 48: 776-82

**Logan J.** Graphical analysis of pet data applied to reversible and irreversible tracers. Nucl Med Biol. 2000; 27: 661-70

**Lopez J.F., Chalmers D.T., Little K.Y., Watson S.J.** A.E. Bennett research award. Regulation of serotonin<sub>1A</sub>, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: Implications for the neurobiology of depression. Biol Psychiatry. 1998; 43: 547-73

**Loscher W.** Genetic animal models of epilepsy as a unique resource for the evaluation of anticonvulsant drugs. A review. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 1984; 6: 531-47

**Loscher W., Schmidt D.** Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. Epilepsy Res. 1988; 2: 145-81

**Lothe A.** Apports de la neuroimagerie tep au [<sup>18</sup>F]MPPF dans l'étude des modifications fonctionnelles du système sérotoninergique. 2009: 261

**Lothe A., Didelot A., Hammers A., Costes N., Saoud M., Gilliam F., et al.** Comorbidity between temporal lobe epilepsy and depression: A [<sup>18</sup>F]MPPF pet study. Brain. 2008; 131: 2765-82

**Louw D., Sutherland G.R., Glavin G.B., Girvin J.** A study of monoamine metabolism in human epilepsy. Can J Neurol Sci. 1989; 16: 394-7

**Lu K.T., Gean P.W.** Endogenous serotonin inhibits epileptiform activity in rat hippocampal cal neurons via 5-hydroxytryptamine1a receptor activation. *Neuroscience*. 1998; 86: 729-37

**Luby M., Spencer D.D., Kim J.H., deLanerolle N., McCarthy G.** Hippocampal mri volumetrics and temporal lobe substrates in medial temporal lobe epilepsy. *Magn Reson Imaging*. 1995; 13: 1065-71

**Luders H., Awad I.:** Conceptual considerations; in *Epilepsy surgery*. (ed. New York, Raven Press), 1991, pp 51-62

**Luders H.O., Najm I., Nair D., Widdess-Walsh P., Bingman W.** The epileptogenic zone: General principles. *Epileptic Disord*. 2006; 8 Suppl 2: S1-9

**Magyar J., Rusznak Z., Harasztosi C., Kortvely A., Pacher P., Banyasz T., et al.** Differential effects of fluoxetine enantiomers in mammalian neural and cardiac tissues. *Int J Mol Med*. 2003; 11: 535-42

**Matsuda H., Matsuda K., Nakamura F., Kameyama S., Masuda H., Otsuki T., et al.** Contribution of subtraction ictal spect coregistered to mri to epilepsy surgery: A multicenter study. *Ann Nucl Med*. 2009; 23: 283-91

**Mauguiere F., Ryvlin P.** The role of pet in presurgical assessment of partial epilepsies. *Epileptic Disord*. 2004; 6: 193-215

**Mayberg H.S., Sadzot B., Meltzer C.C., Fisher R.S., Lesser R.P., Dannals R.F., et al.** Quantification of mu and non-mu opiate receptors in temporal lobe epilepsy using positron emission tomography. *Ann Neurol.* 1991; 30: 3-11

**Mazarati A.M., Baldwin R.A., Shinmei S., Sankar R.** In vivo interaction between serotonin and galanin receptors types 1 and 2 in the dorsal raphe: Implication for limbic seizures. *J Neurochem.* 2005; 95: 1495-503

**Meltzer H.Y.** Role of serotonin in depression. *Ann N Y Acad Sci.* 1990; 600: 486-99; discussion 99-500

**Merlet I., Ostrowsky K., Costes N., Ryvlin P., Isnard J., Failletot I., et al.** 5-ht1a receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: An [18f]mppf-pet study. *Brain : a journal of neurology.* 2004a; 127: 900-13

**Merlet I., Ryvlin P., Costes N., Dufournel D., Isnard J., Failletot I., et al.** Statistical parametric mapping of 5-ht1a receptor binding in temporal lobe epilepsy with hippocampal ictal onset on intracranial eeg. *NeuroImage.* 2004b; 22: 886-96

**Middlemiss D.N., Fozard J.R.** 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin discriminates between subtypes of the 5-ht1 recognition site. *Eur J Pharmacol.* 1983; 90: 151-3

**Mintun M.A., Raichle M.E., Kilbourn M.R., Wooten G.F., Welch M.J.** A quantitative model for the in vivo assessment of drug binding sites with positron emission tomography. *Ann Neurol.* 1984; 15: 217-27

**Mintzer S., Sperling M.R.** When should a resection sparing mesial structures be considered for temporal lobe epilepsy? *Epilepsy Behav.* 2008; 13: 7-11

**Muzik O., Chugani D.C., Shen C., da Silva E.A., Shah J., Shah A., et al.** Objective method for localization of cortical asymmetries using positron emission tomography to aid surgical resection of epileptic foci. *Comput Aided Surg.* 1998; 3: 74-82

**Natsume J., Kumakura Y., Bernasconi N., Soucy J.P., Nakai A., Rosa P., et al.** Alpha-[11c] methyl-l-tryptophan and glucose metabolism in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 2003; 60: 756-61

**O'Brien T.J., Miles K., Ware R., Cook M.J., Binns D.S., Hicks R.J.** The cost-effective use of 18f-fdg pet in the presurgical evaluation of medically refractory focal epilepsy. *J Nucl Med.* 2008; 49: 931-7

**Okada M., Kaneko S., Hirano T., Ishida M., Kondo T., Otani K., et al.** Effects of zonisamide on extracellular levels of monoamine and its metabolite, and on ca<sup>2+</sup> dependent dopamine release. *Epilepsy Res.* 1992; 13: 113-9

**Okuhara D.Y., Beck S.G.** 5-ht<sub>1a</sub> receptor linked to inward-rectifying potassium current in hippocampal ca<sub>3</sub> pyramidal cells. *J Neurophysiol.* 1994; 71: 2161-7

---

**Parsey R.V., Oquendo M.A., Ogden R.T., Olvet D.M., Simpson N., Huang Y.Y., et al.** Altered serotonin 1a binding in major depression: A [carbonyl-c-11]way100635 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry*. 2006; 59: 106-13

**Pasini A., Tortorella A., Gale K.** Anticonvulsant effect of intranigral fluoxetine. *Brain Res*. 1992; 593: 287-90

**Pasini A., Tortorella A., Gale K.** The anticonvulsant action of fluoxetine in substantia nigra is dependent upon endogenous serotonin. *Brain Res*. 1996; 724: 84-8

**Peroutka S.J., Snyder S.H.** Multiple serotonin receptors: Differential binding of [3h]5-hydroxytryptamine, [3h]lysergic acid diethylamide and [3h]spiroperidol. *Mol Pharmacol*. 1979; 16: 687-99

**Pike V.W., McCarron J.A., Lammertsma A.A., Osman S., Hume S.P., Sargent P.A., et al.** Exquisite delineation of 5-ht1a receptors in human brain with pet and [carbonyl-11 c]way-100635. *Eur J Pharmacol*. 1996; 301: R5-7

**Pintor M., Mefford I.N., Hutter I., Pocotte S.L., Wyler A.R., Nadi N.S.** Levels of biogenic amines, their metabolites, and tyrosine hydroxylase activity in the human epileptic temporal cortex. *Synapse*. 1990; 5: 152-6

**Plenevaux A., Lemaire C., Aerts J., Lacan G., Rubins D., Melega W.P., et al.** [(18)f]p-mppf: A radiolabeled antagonist for the study of 5-ht(1a) receptors with pet. *Nucl Med Biol*. 2000a; 27: 467-71

**Plenevaux A., Weissmann D., Aerts J., Lemaire C., Brihaye C., Degueldre C., et al.** 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. *J Neurochem.* 2000b; 75: 803-11

**Prendiville S., Gale K.** Anticonvulsant effect of fluoxetine on focally evoked limbic motor seizures in rats. *Epilepsia.* 1993; 34: 381-4

**Prevett M.C., Cunningham V.J., Brooks D.J., Fish D.R., Duncan J.S.** Opiate receptors in idiopathic generalised epilepsy measured with [11c]diprenorphine and positron emission tomography. *Epilepsy Res.* 1994; 19: 71-7

**Raju S.S., Noor A.R., Gurthu S., Giriappanavar C.R., Acharya S.B., Low H.C., et al.** Effect of fluoxetine on maximal electroshock seizures in mice: Acute vs chronic administration. *Pharmacol Res.* 1999; 39: 451-4

**Rapport M.** Serum vasoconstrictor (serotonin) the presence of creatinine in the complex; a proposed structure of the vasoconstrictor principle. *J Biol Chem.* 1949; 180: 961-9

**Rapport M., Green A., Page I.** Crystalline serotonin. *Science.* 1948; 108: 329-30

**Rosenow F., Luders H.** Presurgical evaluation of epilepsy. *Brain.* 2001; 124: 1683-700

**Ryvlin P., Bouvard S., Le Bars D., De Lamerie G., Gregoire M.C., Kahane P., et al.** Clinical utility of flumazenil-pet versus [18f]fluorodeoxyglucose-pet and mri in refractory partial epilepsy. A prospective study in 100 patients. *Brain*. 1998; 121 ( Pt 11): 2067-81

**Ryvlin P., Bouvard S., Le Bars D., Mauguire F.** Transient and falsely lateralizing flumazenil-pet asymmetries in temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 1999; 53: 1882-5

**Ryvlin P., Kahane P.** The hidden causes of surgery-resistant temporal lobe epilepsy: Extratemporal or temporal plus? *Curr Opin Neurol*. 2005; 18: 125-7

**Ryvlin P., Philippon B., Cinotti L., Froment J.C., Le Bars D., Mauguire F.** Functional neuroimaging strategy in temporal lobe epilepsy: A comparative study of 18fdg-pet and 99mtc-hmpao-spect. *Ann Neurol*. 1992; 31: 650-6

**Ryvlin P., Rheims S.** Epilepsy surgery: Eligibility criteria and presurgical evaluation. *Dialogues Clin Neurosci*. 2008; 10: 91-103

**Salgado-Commissariat D., Alkadhi K.A.** Serotonin inhibits epileptiform discharge by activation of 5-ht1a receptors in ca1 pyramidal neurons. *Neuropharmacology*. 1997; 36: 1705-12

**Sargent P.A., Kjaer K.H., Bench C.J., Rabiner E.A., Messa C., Meyer J., et al.** Brain serotonin1a receptor binding measured by positron emission tomography with [11c]way-100635: Effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry*. 2000; 57: 174-80

**Savic I., Blomqvist G., Halldin C., Litton J.E., Gulyas B.** Regional increases in [<sup>11</sup>C]flumazenil binding after epilepsy surgery. *Acta Neurol Scand.* 1998; 97: 279-86

**Savic I., Lindstrom P., Gulyas B., Halldin C., Andree B., Farde L.** Limbic reductions of 5-ht<sub>1a</sub> receptor binding in human temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 2004; 62: 1343-51

**Savic I., Svanborg E., Thorell J.O.** Cortical benzodiazepine receptor changes are related to frequency of partial seizures: A positron emission tomography study. *Epilepsia.* 1996; 37: 236-44

**Schmitz D., Gloveli T., Empson R.M., Draguhn A., Heinemann U.** Serotonin reduces synaptic excitation in the superficial medial entorhinal cortex of the rat via a presynaptic mechanism. *J Physiol.* 1998; 508 ( Pt 1): 119-29

**Schramm J.** Temporal lobe epilepsy surgery and the quest for optimal extent of resection: A review. *Epilepsia.* 2008; 49: 1296-307

**Schuele S.U., Luders H.O.** Intractable epilepsy: Management and therapeutic alternatives. *Lancet Neurol.* 2008; 7: 514-24

**Shiue C.Y., Shiue G.G., Mozley P.D., Kung M.P., Zhuang Z.P., Kim H.J., et al.** P-[<sup>18</sup>F]-mppf: A potential radioligand for pet studies of 5-ht<sub>1a</sub> receptors in humans. *Synapse.* 1997; 25: 147-54

**Sindou M., Guenot M., Isnard J., Ryvlin P., Fischer C., Mauguiere F.** Temporo-mesial epilepsy surgery: Outcome and complications in 100 consecutive adult patients. *Acta Neurochir (Wien)*. 2006; 148: 39-45

**Spencer D.D., Spencer S.S.** Surgery for epilepsy. *Neurol Clin*. 1985; 3: 313-30

**Spencer S.S.** The relative contributions of mri, spect, and pet imaging in epilepsy. *Epilepsia*. 1994; 35 Suppl 6: S72-89

**Statnick M.A., Dailey J.W., Jobe P.C., Browning R.A.** Abnormalities in 5-ht1a and 5-ht1b receptor binding in severe-seizure genetically epilepsy-prone rats (gepr-9s). *Neuropharmacology*. 1996a; 35: 111-8

**Statnick M.A., Dailey J.W., Jobe P.C., Browning R.A.** Abnormalities in brain serotonin concentration, high-affinity uptake, and tryptophan hydroxylase activity in severe-seizure genetically epilepsy-prone rats. *Epilepsia*. 1996b; 37: 311-21

**Strandberg M., Larsson E.M., Backman S., Kallen K.** Pre-surgical epilepsy evaluation using 3t mri. Do surface coils provide additional information? *Epileptic Disord*. 2008; 10: 83-92

**Stufflebeam S.M., Tanaka N., Ahlfors S.P.** Clinical applications of magnetoencephalography. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30: 1813-23

**Sutherling W.W., Mamelak A.N., Thyerlei D., Maleeva T., Minazad Y., Philpott L., et al.** Influence of magnetic source imaging for planning intracranial eeg in epilepsy. *Neurology*. 2008; 71: 990-6

**Tang L., Mantle M., Ferrari P., Schiffbauer H., Rowley H.A., Barbaro N.M., et al.** Consistency of interictal and ictal onset localization using magnetoencephalography in patients with partial epilepsy. *J Neurosurg*. 2003; 98: 837-45

**Tecott L.H., Sun L.M., Akana S.F., Strack A.M., Lowenstein D.H., Dallman M.F., et al.** Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-ht<sub>2c</sub> serotonin receptors. *Nature*. 1995; 374: 542-6

**Tellez-Zenteno J.F., Dhar R., Hernandez-Ronquillo L., Wiebe S.** Long-term outcomes in epilepsy surgery: Antiepileptic drugs, mortality, cognitive and psychosocial aspects. *Brain*. 2007; 130: 334-45

**Theodore W.H.** Does serotonin play a role in epilepsy? *Epilepsy Curr*. 2003; 3: 173-7

**Theodore W.H., Carson R.E., Andreasen P., Zametkin A., Blasberg R., Leiderman D.B., et al.** Pet imaging of opiate receptor binding in human epilepsy using [18f]cyclofoxy. *Epilepsy Res*. 1992; 13: 129-39

**Toczek M.T., Carson R.E., Lang L., Ma Y., Spanaki M.V., Der M.G., et al.** Pet imaging of 5-ht<sub>1a</sub> receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2003; 60: 749-56

**Trevathan E.** Does temporal lobe epilepsy surgery in children improve functional outcomes?

Nat Clin Pract Neurol. 2006; 2: 130-1

**Underwood M.D., Khaibulina A.A., Ellis S.P., Moran A., Rice P.M., Mann J.J., et al.**

Morphometry of the dorsal raphe nucleus serotonergic neurons in suicide victims. Biol Psychiatry. 1999; 46: 473-83

**Van Bogaert P., De Tiege X., Vanderwinden J.M., Damhaut P., Schiffmann S.N.,**

**Goldman S.** Comparative study of hippocampal neuronal loss and in vivo binding of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the ka model of limbic epilepsy in the rat. Epilepsy Res. 2001; 47: 127-39

**Van Bogaert P., Massager N., Tugendhaft P., Wikler D., Damhaut P., LeVivier M., et al.**

Statistical parametric mapping of regional glucose metabolism in mesial temporal lobe epilepsy. NeuroImage. 2000; 12: 129-38

**Wada Y., Hasegawa H., Nakamura M., Yamaguchi N.** Serotonergic inhibition of limbic

and thalamic seizures in cats. Neuropsychobiology. 1992; 25: 87-90

**Wada Y., Nakamura M., Hasegawa H., Yamaguchi N.** Intra-hippocampal injection of 8-

hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-oh-dpat) inhibits partial and generalized seizures induced by kindling stimulation in cats. Neurosci Lett. 1993; 159: 179-82

**Wada Y., Shiraishi J., Nakamura M., Hasegawa H.** Prolonged but not acute fluoxetine administration produces its inhibitory effect on hippocampal seizures in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1995; 118: 305-9

**Wakamoto H., Chugani D.C., Juhasz C., Muzik O., Kupsky W.J., Chugani H.T.** Alpha-methyl-l-tryptophan positron emission tomography in epilepsy with cortical developmental malformations. *Pediatr Neurol*. 2008; 39: 181-8

**Watanabe K., Minabe Y., Ashby C.R., Jr., Katsumori H.** Effect of acute administration of various 5-HT receptor agonists on focal hippocampal seizures in freely moving rats. *Eur J Pharmacol*. 1998; 350: 181-8

**Welsh J.P., Placantonakis D.G., Warsetsky S.I., Marquez R.G., Bernstein L., Aicher S.A.** The serotonin hypothesis of myoclonus from the perspective of neuronal rhythmicity. *Adv Neurol*. 2002; 89: 307-29

**Wiebe S., Blume W.T., Girvin J.P., Eliasziw M.** A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. *N Engl J Med*. 2001; 345: 311-8

**Wiebe S., Jette N.** Randomized trials and collaborative research in epilepsy surgery: Future directions. *Can J Neurol Sci*. 2006; 33: 365-71

**Williamson P.D., French J.A., Thadani V.M., Kim J.H., Novelly R.A., Spencer S.S., et al.** Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: Ii. Interictal and ictal scalp

electroencephalography, neuropsychological testing, neuroimaging, surgical results, and pathology. *Annals of neurology*. 1993; 34: 781-7

**Willmann O., Wennberg R., May T., Woermann F.G., Pohlmann-Eden B.** The contribution of 18f-fdg pet in preoperative epilepsy surgery evaluation for patients with temporal lobe epilepsy a meta-analysis. *Seizure*. 2007; 16: 509-20

**Worsley K.J., Marrett S., Neelin P., Vandal A.C., Friston K.J., Evans A.C.** A unified statistical approach for determining significant signals in images of cerebral activation. *Hum Brain Mapp*. 1996; 4: 58-73

**Yan Q.S., Jobe P.C., Cheong J.H., Ko K.H., Dailey J.W.** Role of serotonin in the anticonvulsant effect of fluoxetine in genetically epilepsy-prone rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1994; 350: 149-52

**Yan Q.S., Jobe P.C., Dailey J.W.** Further evidence of anticonvulsant role for 5-hydroxytryptamine in genetically epilepsy-prone rats. *Br J Pharmacol*. 1995; 115: 1314-8

**Yogarajah M., Duncan J.S.** Diffusion-based magnetic resonance imaging and tractography in epilepsy. *Epilepsia*. 2008; 49: 189-200

## ANNEXES

## *Classification post-chirurgicale des Epilepsies selon Engel*

### **Classe I : Libre de crises**

IA : Totalement libre de crise après la chirurgie.

IB : Crises partielles simples non invalidantes apparues seulement depuis la chirurgie.

IC : Quelques crises invalidantes au décours de la chirurgie mais patient libre de crises invalidantes depuis au moins deux ans.

ID : Crises généralisées à l'occasion d'un sevrage médicamenteux

### **Classe II : Rares crises invalidantes (« presque libre de crises »)**

IIA : Initialement libre de crises mais rares crises actuelles.

IIB : Rares crises invalidantes depuis la chirurgie.

IIC : Crises non exceptionnelles au décours de la chirurgie mais crises rares depuis au moins 2 ans.

IID : Crises morphéiques isolées.

### **Classe III : Amélioration significative**

IIIA : Réduction significative des crises.

IIIB : Libre de crise durant une période prolongée (supérieure à 2 ans et durant plus de la moitié de la période de suivi).

### **Classe IV : Absence d'amélioration significative**

IVA : Diminution significative du nombre de crises

IVB : Pas de modification des crises

IVC : aggravation des crises

---

*Script d'automatisation de la fabrication des cartes de BPND  
et d'IA*

*Détermination des paramètres spécifiques à l'étude*

*Détermination des fichiers sources :*

```
« close all; clear all;
warning off MATLAB:divideByZero
spm('defaults','pet');
basecwd = '/home/mppf/100epilepsies';
controlsdir = '/home/mppf/100epilepsies/TEMOINS/SYM';
controlsdirBP = '/home/mppf/100epilepsies/TEMOINS/noSYM'; »
```

*Intégration de l'âge et du sexe des témoins comme covariables :*

```
« AgeControls = [21 20 27 25 47 30 21 31 23 21 31 33 44 45 42 53 42 31 46
33 43 33 47 42 48 63 45 54 47 53 46 48 70 37 56 52 58 58 60 63 67];
SexControls = [1 1 1 1 1 2 2 1 2 2 2 1 2 1 2 2 1 2 1 2 1 1 2 2 2 1 1 1 2 2 2 1 2 2
2 1 2 1 2 2 2]; »
```

*Détermination des filtres d'ouverture des fichiers :*

```
« datafold = '42_patients_TLE';
BProotfilename = 'BP';
```

---

```
dynrootfilename = 'dyn'; »
```

*Choix des modèles :*

```
« templ_norm_sym =
strcat('/home/cronos/redoute/AsymIndexes/templates/Sym_template/', 'Sym_
wmppf_template.nii', '1');
templ_norm =
strcat('/home/cronos/redoute/AsymIndexes/templates/', 'wmppf_sum_avg51.n
ii', '1'); »
```

*Paramètres de lissage et de seuillage :*

```
« prefwhm = [8 8 8];
postfwhm = [4 4 4];
threshold = '0.05';
cd (fullfile(basecwd, datafold)); »
```

***Détermination des informations nécessaires à chaque analyse et nombre de patients à étudier :***

```
« subname={ };dynfilepath={ };BPfilepath={ };SexPatient={ };AgePatient={ };
name1="";name2="";
Nsubj = inputdlg('nombre de sujets a traiter', 'select subjects', 1, {'1'});
checkfile = 1; i=1;
while i<= str2num(cell2mat(Nsubj)) »
```

---

*Sélection des informations nécessaires à l'analyse :*

```

« dynfilepath{i,1} =spm_select(1,'.*dyn.*v$',strcat('select Dyn ecat file for
Subject n°',num2str(i)));

[pathstr, name, ext]=fileparts(dynfilepath{i,1});

selectdir = pathstr;

cd (selectdir);

BPfilepath{i,1} = spm_select(1,'.*BP.*v$',strcat('select BP ecat file for Subject
n°',num2str(i)));

dlg_title = 'Patient Characteristics';

prompt = {'Enter patient Age:'};

num_lines = 1;

AgePatient{i,1} = inputdlg(prompt,dlg_title,num_lines);

%ask for sex

choice = questdlg('Enter Patient Sex:', ...

'Patient Characteristics', ...

'Male','Female','Male');

% Handle response

switch choice

case 'Male'

    SexPatient{i,1} = 1; %1 = Male

case 'Female'

    SexPatient{i,1} = 2; %2= Female

end

cd ..; »

```

---

*Fabrication du nom des fichiers calculés lors de l'étude :*

```
« [pathstr, name, ext]=fileparts(BPfilepath{i,1});  
outputdir = pathstr;  
[pathstr, name, ext]=fileparts(pathstr);  
name1 = name; »
```

*Détrompeur :*

```
« [pathstr, name, ext, versn]=fileparts(dynfilepath{i,1});  
[pathstr, name, ext, versn]=fileparts(pathstr);  
name2 = name;  
checkfile = strcmp(name1,name2)  
if checkfile == 0  
h = errordlg('vous n'avez pas selectionne des images du meme sujet');  
uiwait(h);i=i-1;  
else subname{i,1} = name;  
end  
i=i+1;  
end »
```

*Construction des cartes d'asymétrie*

*Création des dossiers et copie des fichiers utiles*

```
« %Nsubj = length(subname);  
for subj = 1:str2num(cell2mat(Nsubj))
```

---

```

%working pathes

[pathstr, name, ext, versn]=fileparts(BPfilepath{subj,1});

outputdir = pathstr;

%creation repertoire temporaire

tmpdir = fullfile(outputdir, 'TEMP');

mkdir (tmpdir)

cd (tmpdir);

%!rm *.*

!mkdir dyn;

tmpdyn = fullfile (tmpdir, 'dyn');

srcfilename = strcat( 'sym', subname(subj),BProotfilename, '.nii');

srcfilename2 = strcat( subname(subj),BProotfilename, '.nii');

finalfilename      =      strcat('SI_',      subname(subj),      '_pre',
char(num2str(prefwhm(1))),      '_post',
char(num2str(postfwhm(1))),BProotfilename, '.nii'); »

```

*Importation des fichiers avec conversion au format .nii :*

```

« wkdir = fullfile (basecwd, datafold);

imgfiles      =      spm_select('List',      fullfile(wkdir,subname{subj,1}),
strcat(subname(subj),'.* dyn.*v$'));

dirs                                                  =
repmat([spm_select('cpath',fullfile(wkdir,subname{subj,1}))],size(imgfiles,1),
1);

imgpath = strcat(dirs, filesep,imgfiles);

```

---

```

wkdir = fullfile (basecwd, datafold, subname{subj,1});
filtselect = '.*_mppf_BP.*v$';
imgfiles2 = spm_select('List', wkdir, filtselect);
dirs2 = repmat([spm_select('cpath',wkdir)],size(imgfiles2,1),1);
imgpath2 = strcat(dirs2, filesep,imgfiles2);
allimgpath = {dynfilepath{subj,1};BPfilepath{subj,1}};
job_import{1,1}.util{1}.ecat.data = allimgpath;
job_import{1,1}.util{1}.ecat.opts.ext = '.nii';
cd (tmpdyn);
spm_jobman('run',job_import);
%cd (tmpdir);
%importfilename          =          spm_select('List',          tmpdir,
strcat('^',subname{subj,1},dynrootfilename,'.nii$'));
%dynfilepath             =             strcat
(basecwd,filesep,datafold,filesep,subname{subj,1},'_mppf_dyn.nii');
%dynfilename = strcat (subname{subj,1},'_mppf_dyn.nii');
cd (tmpdyn)
eval(sprintf('!mv %s %s%s%s','*BP*.nii',tmpdir, '/', cell2mat(srcfilename)));»

```

*Calcul de l'image somme à partir de l'image dynamique :*

```

« wkdir = strcat(basecwd,filesep,datafold);
imgfiles3 = spm_select('List', tmpdyn, '.*dyn.*nii$');
dirs3 = repmat([spm_select('cpath',tmpdyn)],size(imgfiles3,1),1);
imgfiles3 = strcat(dirs3, filesep,imgfiles3);

```

---

```

sumfilename = char(strcat(subname{subj,1},'_dynavg.nii'));
tmpstr = 'i';
for z=1:(size(imgfiles3,1)-1)
f = strcat(tmpstr,num2str(z),'i');
tmpstr=f;
end;
expression1 = strcat(f
,num2str(size(imgfiles3,1)),')/ ',num2str(size(imgfiles3,1)));
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.input = cellstr(imgfiles3);
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.output = sumfilename;
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.outdir = cellstr(tmpdir);
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.expression = expression1;
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.options.dmtx = 0;
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.options.mask = 0;
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.options.interp = 1;
jobs_SI{1,1}.util{1}.imcalc.options.dtype = 4; »

```

*Normalisation de l'image de  $BP_{ND}$ :*

```

« sourcenormpath = strcat(tmpdir, filesep, sumfilename,'1');
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.subj.source =
cellstr(sourcenormpath);
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.subj.wtsrc = {};
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.subj.resample =
{strcat(fullfile(tmpdir, cell2mat(srcfilename)), '1')};

```

---

```

jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.template      =
cellstr(templ_norm_sym);

jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.weight = {};
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.smosrc = 8;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.smoref = 0;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.regtype = 'mni';
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.cutoff = 25;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.nits = 16;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.reg = 1;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.preserve = 0;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.bb = [-78 -112 -50;78
76 85];
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.vox = [2 2 2];
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.interp = 1;
jobs_SI{1,2}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.wrap = [0 0 0]; »

```

*Pré-lissage des images*

```

« input_norm_file = strcat(tmpdir, filesep, 'w',srcfilename, ',1');
jobs_SI{1,2}.spatial{2}.smooth.data = input_norm_file;
jobs_SI{1,2}.spatial{2}.smooth.fwhm = prefwhm;
jobs_SI{1,2}.spatial{2}.smooth.dtype = 0; »

```

*Application du seuil à l'image pré-lissée*

```

« expression2 = strcat('il.*(il>',threshold,')');
inputfilepath = strcat(tmpdir, filesep, 'sw',srcfilename, ',1');
outputfilename = char(strcat ('thresholded_',subname{subj,1},'_BP.nii'));
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.input = cellstr(inputfilepath);
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.output = outputfilename;
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.outdir = cellstr(tmpdir);
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.expression = expression2;
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.options.dmtx = 0;
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.options.mask = 0;
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.options.interp = 1;
jobs_SI{1,3}.util{1}.imcalc.options.dtype = 4; »

```

*Fabrication de la carte d'index d'asymétrie*

```

% utilise la fonction de la toolbox volumes de SPM5 ET multiplie par 2
« inputasympath = strcat(tmpdir, filesep, outputfilename,',1');
inputmultpath      =      strcat      (tmpdir,      filesep,
'tmpASYM_thresholded_',subname{subj,1},'_BP.nii',',1');
outputmultname     =      char(strcat
('ASYM_thresholded_',subname{subj,1},'_BP.nii'));
jobs_SI{1,4}.tools{1}.vgtbx_Volumes{1}.Stats_Tools.tbxvol_laterality.srcimngs
= cellstr(inputasympath);
jobs_SI{1,4}.tools{1}.vgtbx_Volumes{1}.Stats_Tools.tbxvol_laterality.interp =
0;

```

---

```

jobs_SI{1,4}.tools{1}.vgtbx_Volumes{1}.Stats_Tools.tbxvol_laterality.dtype =
0;
jobs_SI{1,4}.tools{1}.vgtbx_Volumes{1}.Stats_Tools.tbxvol_laterality.prefix =
'tmpASYM_';
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.input = cellstr(inputmultpath);
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.output = outputmultname;
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.outdir = cellstr(tmpdir);
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.expression = 0;
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.options.dmtx = 0;
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.options.mask = 0;
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.options.interp = 1;
jobs_SI{1,5}.util{1}.imcalc.options.dtype = 4; »
« expression3 = 'i1.*(i1>0.99)';
expression4 = 'i1.*(i1<0.99)';
inputfilepath1 = strcat (tmpdir, filesep,
'ASYM_thresholded_',subname{subj,1},'_BP.nii',1');
outputfilename1 = char(strcat ('masked1_ASYM_',subname{subj,1},'_BP.nii'));
inputfilepath2 = strcat (tmpdir,
filesep,'masked1_ASYM_',subname{subj,1},'_BP.nii',1');
outputfilename2 = char(strcat ('masked2_ASYM_',subname{subj,1},'_BP.nii'));
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.input = cellstr(inputfilepath1);
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.output = outputfilename1;
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.outdir = cellstr(tmpdir);
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.expression = expression3;
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.options.dmtx = 0;

```

---

```

jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.options.mask = 0;
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.options.interp = 1;
jobs_SI{1,6}.util{1}.imcalc.options.dtype = 4;
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.input = cellstr(inputfilepath2);
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.output = outputfilename2;
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.outdir = cellstr(tmpdir);
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.expression = expression4;
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.options.dmtx = 0;
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.options.mask = 0;
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.options.interp = 1;
jobs_SI{1,6}.util{2}.imcalc.options.dtype = 4; »

```

*Lissage de la carte d'asymétrie seuillée*

```

« inputfilepath = strcat(tmpdir, filesep, outputfilename2, '1');
jobs_SI{1,7}.spatial{1}.smooth.data = inputfilepath;
jobs_SI{1,7}.spatial{1}.smooth.fwhm = postfwhm;
jobs_SI{1,7}.spatial{1}.smooth.dtype = 0;
cd (outdir)
spm_jobman('run', jobs_SI);
display ('compute SI Maps finished'); »

```

*Classement des fichiers créés*

```

« cd (tmpdyn)

```

---

```
eval(sprintf('!mv %s %s','*.ps','../..'));
cd (tmpdir)
eval(sprintf('!mv
%s%s%s%s','s',char(outputfilename2),'../',char(finalfilename)));
eval(sprintf('!cp      %s      %s%s%s',      char(srcfilename),      '../',
cell2mat(srcfilename2)));
eval(sprintf('!mv %s %s',char(srcfilename) , '../..'));
eval(sprintf('!mv %s %s','w*.nii','../..')); »
```

### *Analyse statistique des cartes d'asymétrie*

#### *Spécification du type de modèle utilisé*

```
« spm('defaults','pet');
disp('model: Specification'); »
```

#### *Création du dossier statistique et récupération des fichiers utiles à l'analyse*

```
« statdir = fullfile (outputdir, 'statsIA');
mkdir (statdir);cd (statdir);!rm *.mat *.img *.hdr;
maskfile =
strcat(fullfile('/home/cronos/redoute/AsymIndexes/templates/Mask','mask_tr
onc_cerveau.img'),'1');
patientimgpath = strcat(fullfile(outputdir,cell2mat(finalfilename)),'1');
imgfiles = spm_select('List', controlsdir, 'SI.*.*nii$');
dirs = repmat([spm_select('cpath',controlsdir)],size(imgfiles,1),1);
```

---

```
controlsimgpath = strcat(dirs, filesep, imgfiles); »
```

*Définition des covariables*

```
« Ages = [str2num(cell2mat(AgePatient{subj,1})), AgeControls]
Sexes = [SexPatient{subj,1}, SexControls] »
```

*Définition du plan de l'analyse statistique*

```
« jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.scans1{1} = patientimgpath;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.scans2                =
cellstr(controlsimgpath);
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.dept = 0;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.variance = 0; %0: set variance
to Equal
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.gmsca = 0;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.ancova = 1;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).c = Ages';
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).cname = 'Age';
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).iCFI = 1;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).iCC = 5;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).c = Sexes';
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).cname = 'Sex';
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).iCFI = 1;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).iCC = 5;
```

---

```

jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.masking.tm.tm_none = [];
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.masking.im = 1;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.masking.em{1} = maskfile;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.globalc.g_omit = [];
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.globalm.gmsca.gmsca_no = [];
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.globalm.glonorm = 1;
jobs_Stat{1}.stats{1,1}.factorial_design.dir{1} = statdir; »

```

*Estimation du modèle statistique*

```

« jobs_Stat{1}.stats{1,2}.fmri_est.spmmat{1} = fullfile(statdir, 'SPM.mat');
jobs_Stat{1}.stats{1,2}.fmri_est.method.Classical = 1; »

```

*Définition des contrastes statistiques*

```

« jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.spmmat{1} = fullfile(statdir, 'SPM.mat');
jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.consess{1,1}.tcon.name = 'Patient - Temoins';
jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.consess{1,1}.tcon.convec = [1 -1];
jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.consess{1,1}.tcon.ssessrep = 'none';
jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.consess{1,2}.tcon.name = 'Temoins - Patient';
jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.consess{1,2}.tcon.convec = [-1 1];
jobs_Stat{1}.stats{1,3}.con.consess{1,2}.tcon.ssessrep = 'none';
cd (statdir);
save design.mat jobs_Stat;
spm_jobman('run', jobs_Stat); »

```

---

***Fabrication de la carte de  $BP_{ND}$  du patient pour l'analyse standard avec SPM5***

*Création d'un dossier dédié*

```
« statdir = fullfile (outputdir, 'statsBP');
mkdir (statdir); »
```

*Normalisation de l'image de  $BP_{ND}$*

```
« jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.subj.source           =
cellstr(sourcenormpath);
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.subj.wtsrc = {};
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.subj.resample         =
{strcat(fullfile(outputdir, cell2mat(srcfilename2)), '1')};
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.template     =
cellstr(templ_norm);
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.weight = {};
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.smosrc = 8;
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.smoref = 0;
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.regtype = 'mni';
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.cutoff = 25;
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.nits = 16;
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.eoptions.reg = 1;
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.preserve = 0;
```

---

```

jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.bb = [-78 -112 -
50;78 76 85];
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.vox = [2 2 2];
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.interp = 1;
jobs_Norm2{1,1}.spatial{1}.normalise{1}.estwrite.roptions.wrap = [0 0 0];
cd (tmpdir)
spm_jobman('run',jobs_Norm2);
eval(sprintf('!mv %s %s','w*.nii','../.')); »

```

*Lissage de l'image de  $BP_{ND}$  normalisée*

```

« disp('images smoothing');
imgselfilter = strcat ('^w', subname(subj), '.*BP.nii$');
imgfile =spm_select('List', outputdir, imgselfilter);
smoothingfile = strcat ('s', imgfile);
dirs = repmat([spm_select('cpath',outputdir)],size(imgfile,1),1);
patientimgpath = fullfile (dirs, imgfile);
patientsmoothpath = fullfile (dirs,smoothingfile);
jobs_Stat2{1,1}.spatial{1}.smooth.data = patientimgpath;
jobs_Stat2{1,1}.spatial{1}.smooth.fwhm = [8 8 8];
jobs_Stat2{1,1}.spatial{1}.smooth.dtype = 0;
cd (statdir);
save design.mat jobs_Stat2;
spm_jobman('run',jobs_Stat2(1)); »

```

---

*Analyse statistique standard de la carte de  $BP_{ND}$*

*Définition des fichiers utilisés*

```
« disp('Stats BP: Model Specification');
imgfile =spm_select('List', outputdir, 'sw.*BP.nii$');
dirs = repmat([spm_select('cpath',outputdir)],size(imgfile,1),1);
patientimgpath = fullfile (dirs, imgfile);
imgfiles = spm_select('List', controlsdirBP, 'sw.*BP.nii$');
dirs = repmat([spm_select('cpath',controlsdirBP)],size(imgfiles,1),1);
controlsimgpathBP = strcat (dirs, filesep ,imgfiles); »
```

*Estimation de la valeur globale de la carte de  $BP_{ND}$*

```
« P1 = maskfile;
P2 = char(patientimgpath,controlsimgpathBP);
cd (tmpdir)
spm_globalmasked_JR(P1,P2);
load GlobalMasked.mat; »
```

*Paramètres de l'analyse statistique*

```
« jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.scans1{1} =
patientsmoothpath;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.scans2 =
cellstr(controlsimgpathBP);
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.dept = 0;
```

---

```
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.variance      =      0;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.gmsca = 0;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.des.t2.ancova      =      0;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).c = GlobalMasked';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).cname = 'GlobalMasked';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).iCFI      =      1;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,1).iCC = 5;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).c = Ages';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).cname = 'Age';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).iCFI      =      1;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,2).iCC = 5;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,3).c = Sexes';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,3).cname = 'Sex';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,3).iCFI = 1;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.cov(1,3).iCC = 5;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.masking.tm.tm_none = [];
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.masking.im = 1;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.masking.em{1} = maskfile;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.globalc.g_omit = [];
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.globalm.gmsca.gmsca_no = [];
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.globalm.glonorm = 1;
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,1}.factorial_design.dir{1} = statdir; »
```

*Estimation du modèle statistique*

```
« jobs_Stat2{1,2}.stats{1,2}.fmri_est.spmmat{1} = fullfile(statdir, 'SPM.mat');
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,2}.fmri_est.method.Classical = 1; »
```

*Définition des contrastes statistiques*

```
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.spmmat{1} = fullfile(statdir, 'SPM.mat');
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.consess{1,1}.tcon.name = 'Patient - Temoins';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.consess{1,1}.tcon.convec = [1 -1];
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.consess{1,1}.tcon.ssessrep = 'none';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.consess{1,2}.tcon.name = 'Temoins - Patient';
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.consess{1,2}.tcon.convec = [-1 1];
jobs_Stat2{1,2}.stats{1,3}.con.consess{1,2}.tcon.ssessrep = 'none';
cd (statdir);
save design.mat jobs_Stat2;
spm_jobman('run',jobs_Stat2(2)); »
```

*Effacement des fichiers intermédiaires et fin du programme*

```
« cd (outputdir)
rmdir (tmpdir,'s');
clear jobs_SI;clear job_import;clear jobs_Stat; clear jobs_Stat2;
close all;
end; »
```