

Université de Montréal

Études électroencéphalographiques et relations avec le fonctionnement neuropsychologique chez  
les enfants ayant la neurofibromatose de type 1

Par

Eve Lalancette

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de doctorat (Ph.D.) en psychologie – recherche et  
intervention option neuropsychologie clinique

sous la direction de Dre Sarah Lippé

Dépôt initial 6 novembre 2023

© Eve Lalancette, 2023

Université de Montréal  
Département de psychologie, Faculté des arts et des sciences

---

*Cette thèse intitulée*  
**Études électroencéphalographiques et relations avec le fonctionnement neuropsychologique  
chez les enfants ayant la neurofibromatose de type 1**

*Présentée par*  
**Eve Lalancette**

*A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes*

**Hugo Théoret**  
Président-rapporteur

**Sarah Lippé**  
Directrice de recherche

**Franco Lepore**  
Membre du jury

**Dave Saint-Amour**  
Examinatrice externe

## Résumé

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est une condition génétique entraînant des répercussions dans différents systèmes, y compris le système nerveux. Les enfants atteints de la NF1 sont à risque de rencontrer différents défis sur le plan cognitif et comportemental. Un chevauchement avec les symptômes associés à d'autres troubles neurodéveloppementaux, notamment le trouble déficitaire de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH) et le trouble du spectre de l'autisme (TSA), est d'ailleurs présent dans cette condition génétique. Les études réalisées avec des modèles animaux de NF1 ont permis d'identifier des déséquilibres dans la neurotransmission qui pourraient sous-tendre les déficits cognitifs. Comment ces déséquilibres se traduisent sur le plan de l'activité cérébrale chez l'humain ayant la NF1 demeure peu compris à ce jour. L'objectif général de cette thèse est donc d'étudier, à l'aide de l'électroencéphalographie (EEG), les réponses neuronales lors du traitement sensoriel chez les enfants ayant la NF1 ainsi que les associations avec le fonctionnement cognitif et comportemental.

Dans le premier article, nous avons étudié l'intégrité de la réponse de synchronisation neuronale lors de stimulations visuelles rythmiques à différentes fréquences. Considérant l'importance des déficits visuo-perceptifs ainsi que les indices de perturbations de la transmission GABAergique au niveau du cortex occipital dans la NF1, nous avons émis l'hypothèse d'une réduction de la synchronisation neuronale dans le groupe NF1 par rapport au groupe d'enfants neurotypiques. Une puissance réduite de la synchronisation neuronale a effectivement été trouvée dans la NF1, particulièrement en réponse à la plus haute fréquence de stimulation. Cette réponse neuronale affaiblie a été corrélée à une plus grande sévérité des symptômes comportementaux du TDAH. Cela soulève la possibilité d'une modulation de la réponse sensorielle par les réseaux attentionnels et soulève également des questions en lien avec l'impact du diagnostic de TDAH en comorbidité avec la NF1. L'impact de la médication psychostimulante, testé avec un sous-groupe de l'échantillon NF1, s'est d'ailleurs révélé par une amélioration de la réponse de synchronisation neuronale à la plus faible fréquence de stimulation. La réponse de synchronisation neuronale apparaît donc comme un marqueur à investiguer davantage pour comprendre les mécanismes qui sous-tendent les déficits cognitifs dans la NF1 et pour évaluer l'impact de traitements.

Dans le deuxième article, nous avons étudié les oscillations cérébrales dans la réponse de suppression neuronale et de détection du changement, toujours en comparant un groupe d'enfants ayant la NF1 à un groupe d'enfants neurotypiques. Une modulation atypique des oscillations cérébrales était attendue dans la NF1 en réponse à la répétition et au changement dans la séquence de stimuli audio-visuels. Les résultats ont démontré une réponse de suppression neuronale préservée dans le groupe NF1, mais une puissance accrue des oscillations thêta dans la condition de détection du changement. Les symptômes comportementaux du TDAH ont été associés à une réduction de la puissance des oscillations dans la réponse de détection du changement et ne contribueraient donc pas à la réponse accrue identifiée dans le groupe NF1.

En somme, les résultats de la thèse ont permis d'identifier des particularités dans les réponses électrophysiologiques du traitement sensoriel chez les enfants ayant la NF1 et de mettre de l'avant des mesures dont le potentiel translationnel pourrait faciliter le transfert des connaissances accumulées dans les modèles animaux de NF1. Les résultats soulignent la complexité d'établir les bases neuronales des déficits cognitifs dans la NF1 compte tenu de l'hétérogénéité du profil cognitif. Cela dit, les associations établies entre les réponses neuronales et les symptômes comportementaux du TDAH suggèrent la possibilité de considérer le profil électrophysiologique pour guider le développement de traitements et interventions visant à améliorer le fonctionnement cognitif chez les enfants ayant la NF1.

**Mots-clés :** neurofibromatose de type 1, électroencéphalographie, traitement sensoriel, synchronisation neuronale, suppression neuronale, détection du changement, TDAH.

## **Abstract**

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is a genetic condition that has implications across different systems, including the nervous system. Children with NF1 are at risk of facing various cognitive and behavioral challenges. An overlap with symptoms associated with other neurodevelopmental disorders, including attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and autism spectrum disorder (ASD), is also present in this genetic condition. Studies conducted using animal models of NF1 have identified imbalances in neurotransmission that may underlie cognitive deficits. However, how these imbalances translate into human brain activity in individuals with NF1 remains poorly understood to date. The overall objective of this thesis is to investigate, using electroencephalography (EEG), neural responses during sensory processing in children with NF1 and their associations with cognitive and behavioral functioning.

In the first article, we studied the integrity of the neural synchronization response during rhythmic visual stimulation at different frequencies. Given the significance of visuo-perceptual deficits as well as indications of disrupted GABAergic transmission in the occipital cortex of individuals with NF1, we hypothesized a reduction in neural synchronization in the NF1 group compared to neurotypical children. Reduced power of neural synchronization was indeed found in NF1, particularly in response to the highest stimulation frequency. This weakened neural response was correlated with greater severity of ADHD behavioral symptoms. These results suggest a possible modulation of this sensory response by attentional networks and raise questions regarding the impact of comorbid ADHD diagnosis on neural activity in NF1. The intake of psychostimulant medication, in a subgroup of the NF1 sample, resulted in an increased neural synchronization at the lowest stimulation frequency. Neural synchronization should be further investigated as a potential biomarker in NF1 and could help understand the underlying mechanisms of cognitive deficits and assess the impact of treatments.

In the second article, we studied brain oscillations in the repetition suppression and change detection response, again comparing a group of children with NF1 to a group of neurotypical children. Atypical modulation of brain oscillations was expected in NF1 in response to repetition and change in the audio-visual stimuli sequence. Results showed preserved repetition suppression response in the NF1 group, but increased power of theta oscillations in the change detection condition. Behavioral symptoms of ADHD were associated with reduced

oscillatory power in the change detection response, which suggest that the ADHD comorbidity did not contribute to the increased response identified in the NF1 group.

In summary, results of this thesis have demonstrated distinct electrophysiological responses during sensory processing in children with NF1 and have highlighted measures with translational potential that could facilitate the transfer of knowledge gained from animal models of NF1. The results emphasize the complexity of establishing the neural basis of cognitive deficits in NF1, given the heterogeneity of the cognitive profile. However, the associations established between neural responses and ADHD behavioral symptoms suggest the possibility of considering the electrophysiological profile to guide the development of treatments and interventions aimed at improving cognitive functioning in children with NF1.

**Keywords:** neurofibromatosis type 1, electroencephalography, sensory processing, neuronal synchronization, repetition suppression, change detection, ADHD.

## Table des matières

<b>Résumé .....</b>	<b>3</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>5</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>9</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>11</b>
<b>Liste des sigles et acronymes.....</b>	<b>14</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>16</b>
<b>Chapitre I : Contexte théorique.....</b>	<b>17</b>
1. Position du problème .....	17
2. La neurofibromatose de type 1 .....	18
2.1 Diagnostic et manifestations cliniques .....	18
2.2 Bases génétiques .....	20
2.3 Voies de signalisations .....	22
3. Approche neuropsychologique de la neurofibromatose de type 1 .....	25
4. Apports des études d'imagerie cérébrale .....	30
5. Hypothèses de mécanismes neuronaux altérés dans la neurofibromatose de type 1 .....	32
5.1 Synchronisation neuronale.....	33
5.2 Suppression neuronale et détection du changement.....	36
6. Objectifs et hypothèses .....	38
<b>Chapitre II : Méthodologie et résultats .....</b>	<b>39</b>
1. Article 1. Steady-state visual evoked potentials in children with neurofibromatosis type 1: associations with behavioural rating scales and impact of psychostimulant medication .....	40
2. Article 2. Time-frequency analyses of repetition suppression and change detection in children with neurofibromatosis type 1 .....	81
<b>Chapitre III : Discussion .....</b>	<b>116</b>
1. Résumé et retour sur les principaux résultats.....	116
1.1 Retour sur les résultats de l'article 1 .....	116
1.2 Retour sur les résultats de l'article 2 .....	117
2. Considérations théoriques .....	119
2.1 Liens avec les altérations neurochimiques dans la NF1 .....	119
2.2 Liens avec les résultats obtenus dans d'autres syndromes génétiques.....	121
2.3 Liens avec le fonctionnement cognitif et comportemental dans la NF1 .....	122

3. Considérations cliniques .....	124
3.1 Les troubles neurodéveloppementaux comorbides dans la NF1 .....	124
3.2 Les perspectives de traitement dans la NF1 .....	126
4. Considérations méthodologiques.....	127
4.1 Forces et limites des mesures EEG utilisées.....	127
4.2 Forces et limites des mesures cognitives et comportementales utilisées .....	128
5. Directions futures .....	129
6. Conclusion.....	130
<b>Bibliographie .....</b>	<b>131</b>
<b>Annexe I. Impact of trametinib on the neuropsychological profile of NF1 patients.....</b>	<b>147</b>



## Liste des tableaux

### Article 1 :

Table 1. Comorbidities and medication in the NF1 group.....	47
Table 2. Demographic, cognitive and behavioural characteristics of the NF1 and control groups.....	48
Table 3. EEG pre-processing indicators and groups comparison between the NF1 and control groups.....	52
Table 4. EEG pre-processing indicators in the subset of NF1 participants tested with and without medication.....	52
Table 5. Pearson correlations between SSVEP responses and measures of intellectual functioning and behavioural symptoms.....	57
Table 6. Individual SSVEP SNRs from the EEG recordings without and with medication in eight participants with NF1.....	61

### Article 2 :

Table 1. Pearson correlations between ERSP measures of change detection in each TFW and measures of intellectual functioning and behavioral symptoms in the whole sample.....	89
Table 2. Demographic, intellectual, and behavioral profile of the NF1 and control groups.....	96
Table 3. EEG pre-processing indicators and comparison between the NF1 and control groups..	99
Additional table 1. Effect of the covariate age in each mixed-design ANCOVA performed in the main analyses.....	113
Additional table 2. Pearson correlations between ERSP measures of change detection in each TFW and measures of intellectual functioning and behavioral symptoms in each group.....	114

**Article en annexe :**

Table 1. Patient Characteristics..... 154

Table 2. Pre-treatment and post-treatment neuropsychological results..... 156

Supplementary table 1. RCI cutoffs calculated with a 90% confidence interval..... 165

Supplementary Table 2. Pre-treatment score and score difference between assessments in patients with and without psychostimulant medication.....166

## Liste des figures

### Introduction :

- Figure 1. Voies de signalisation médiées par la neurofibromine..... 22
- Figure 2. Exemple de SSVEP tiré du premier article, obtenu à trois fréquences de stimulation différentes (i.e., 6 Hz, 10 Hz, 15 Hz).....34

### Article 1 :

- Figure 1. Design of the visual stimulation task..... 51
- Figure 2. Averaged power spectrum resulting from the Fast Fourier Transforms in the control group (A) and NF1 group (B) for each stimulation frequency (6, 10 and 15 Hz) ..... 55
- Figure 3. SSVEP SNR adjusted means (with standard errors as error bars) at each stimulation frequency by group..... 56
- Figure 4. Relationship between the SSVEP SNR at 10 Hz and the Conners 3 Inattention scale..... 58
- Figure 5. Relationship between the SSVEP SNR at 15 Hz and the Conners 3 Inattention scale..... 58
- Figure 6. Relationship between the SSVEP SNR at 15 Hz and the Conners 3 Global Index..... 59
- Figure 7. Relationship between the SSVEP SNR at 15 Hz and the CBCL Total problems scale in the NF1 group..... 59
- Figure 8. Mean SSVEP SNRs (with standard errors as error bars) in children with NF1 without and with psychostimulant medication (N=8) at each stimulation frequency..... 60

**Article 2 :**

Figure 1. Basic auditory response: Event-related spectral perturbation (on the left) and intertrial coherence (on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) in response to Standard 1 for each time-frequency window by group..... 86

Figure 2. RS: Difference in event-related spectral perturbation (on the left) and intertrial coherence (on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) between Standard 2 and Standard 1 for each time-frequency window by group..... 87

Figure 3. Change detection: Difference in event-related spectral perturbation (on the left) and intertrial coherence (on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) between the Deviant and Standards for each time-frequency window by group..... 88

Figure 4. Relationship between the event-related spectral perturbation measures of alpha oscillations in response to change and inattention symptoms measured by the Conners 3 Inattention Scale..... 89

Figure 5. Relationship between the event-related spectral perturbation measures of alpha oscillations in response to change and hyperactivity symptoms measured by the Conners 3 Hyperactivity Scale..... 90

Figure 6. Region of interest identified through spatial PCA on the Geodesics 128 electrode net.....100

Additional figure 1. Mean event-related spectral perturbation variations in response to the entire sequence (/a1/a2/a3/i/) for each time-frequency window in each group..... 112

Additional figure 2. Figure 1. Mean intertrial coherence variations in response to the entire sequence (/a1/a2/a3/i/) for each time-frequency window in each group..... 112

Additional figure 3. RS: Difference in event-related spectral perturbation (on the left) and intertrial coherence (on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) between Standard 3 and Standard 1 for each time-frequency window by group..... 113

Additional figure 4. Averaged intertrial coherence maps for each stimulus presentation (/a1/a2/a3/i/) in the control group (A) and NF1 group (B) illustrating the selected time-frequency windows: theta (4-8 Hz, 0-300 ms), alpha (8-12 Hz, 0-250 ms), beta (12-30 Hz, 0-200 ms) ... 115

Additional figure 5. Averaged event-related spectral perturbation maps for each stimulus presentation (/a1/a2/a3/i/) in the control group (A) and NF1 group (B) illustrating the selected time-frequency windows: theta (4-8 Hz, 0-300 ms), alpha (8-12 Hz, 0-250 ms), beta (12-30 Hz, 0-200 ms)..... 115

**Article en annexe :**

Figure 1. Distributions of declined/stable/improved performance based on the Reliable Change Index (RCI) analysis with a 90% confidence interval..... 158

## Liste des sigles et acronymes

En français :

AMPC : adénosine monophosphate cyclique

CPDL : cortex préfrontal dorsolatéral

EEG : électroencéphalographie

IRMf : imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

NF1 : neurofibromatose de type 1

Nf1<sup>+/-</sup> : mutation hétérozygote sur le gène NF1

PLT : potentialisation à long-terme

TDAH : trouble déficitaire de l'attention avec ou sans hyperactivité

TSA : trouble du spectre de l'autisme

V1 : cortex visuel primaire

QI : quotient intellectuel

En anglais :

ANCOVA : *analysis of covariance*

ADHD : *attention deficit hyperactivity disorder*

ASD : *autism spectrum disorder*

CBCL : *Child Behavior Checklist*

Conners 3-P: *Conners 3rd Edition–Parent*

dB : *decibels*

ERSP : *event-related spectral perturbation*

FFT : *Fast Fourier Transform*

FDR : *false discovery rate*

GABA : *gamma-aminobutyric acid*

GRD : *GAP-related domain*

Hz : *hertz*

ICA : *independent component analysis*

*IQ : intellectual quotient*

*ITC : inter-trial coherence*

*MEG : magnetoencephalography*

*MEK : mitogen-activated protein kinase kinase*

*NF1 : neurofibromatosis type 1*

*Nf1<sup>+/-</sup> : heterozygous knockout mutation of the neurofibromatosis gene*

*PCA : principal component analysis*

*PET: Positron emission tomography*

*SD : standard deviation*

*SE : standard error*

*SNR : signal-to-noise ratio*

*SSVEP : steady-state visual evoked potentials*

*SRS-2 : Social Responsiveness Scale, 2<sup>nd</sup> edition*

*TFW : time-frequency window*

*UBO : Unidentified Bright Object*

## Remerciements

Je tiens d'abord à remercier ma directrice de thèse, Sarah, qui m'a donné la chance de plonger dans le monde de la recherche alors que je terminais mon baccalauréat. Merci de m'avoir accompagnée tout au long de ce parcours. Te voir mener de grands projets de recherche au cours des dernières années a été pour moi une source d'inspiration et de motivation. Merci également à toute l'équipe du Laboratoire NED et en particulier à Camille, Florence et Audrey-Rose, des femmes brillantes avec qui j'ai pu partager cette expérience de près. Merci pour votre soutien!

Je souhaite absolument remercier toutes les familles ayant participé au projet. Le temps et la confiance que les familles nous ont accordés est ce qui a rendu ce projet possible. Merci à Dr Sébastien Perreault, directeur de la clinique de neurofibromatose du CHU Sainte-Justine, pour sa précieuse collaboration et pour son dévouement envers les familles qu'il suit.

Merci à Julie Mérineau-Côté, Odile Brosseau-Lachaine et Isabelle Boisvert, ces cliniciennes admirables qui m'ont pris sous leurs ailes le temps de mon parcours en internat. Quel privilège d'avoir été si bien accompagnée et d'avoir fait tous ces apprentissages à vos côtés.

Merci à ma joyeuse bande de colocos : Édouard, Véro, Éli, Pénélope, Marie-Julie et Manu, pour l'écoute, les rires, la complicité, les repas, le réconfort et tout le reste. Vous avez fait de ces dernières années une magnifique aventure, remplie de folies et de partage.

Je tiens à remercier ma mère Maryse, qui m'appuie dans tout ce que j'entreprends et qui m'a permis de cultiver la persévérance. Te voir célébrer chaque étape de mon parcours a été une grande source de joie et de fierté pour moi. Merci à mon père Gilles qui m'a transmis son amour de la science et qui m'inspire par sa curiosité aiguisée. Une pensée spéciale également pour mon frère Simon et ma sœur Flora, des êtres chers avec qui j'ai la chance d'évoluer et de partager des moments précieux.

Merci à toute ma famille rapprochée, élargie et à ma belle-famille pour votre support et vos encouragements.

Finalement, je ne peux passer à côté d'un énorme remerciement à mon amoureux et partenaire de toutes les aventures, Emmanuel. Merci pour ta patience à toute épreuve et ton soutien inestimable. C'est un nouveau départ et le vivre à tes côtés me comble de bonheur.



# Chapitre I : Contexte théorique

## 1. Position du problème

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est un trouble neurodéveloppemental d'origine génétique qui atteint environ une naissance sur 3000, sans égard au sexe et à l'origine ethnique (Evans et al., 2010; Lammert et al., 2005). Elle est parmi les plus fréquentes des maladies monogéniques affectant le fonctionnement cérébral (Diggs-Andrews & Gutmann, 2013). Cette maladie, attribuable à la mutation du gène NF1, est dite neurocutanée puisqu'elle atteint principalement la peau et le système nerveux (Levine et al., 2006a). Bien que les manifestations cliniques de la NF1 ainsi que leur sévérité soient très variables, les impacts sur le plan cognitif sont fréquents et représentent une préoccupation majeure. Parmi les domaines du fonctionnement cognitif les plus souvent atteints, on retrouve les habiletés visuospatiales, l'attention, les fonctions exécutives et les habiletés langagières (Lehtonen et al., 2015; Torres Nupan et al., 2017). Ainsi, la NF1 est associée à un risque accru de troubles neurodéveloppementaux comorbides, dont le TDAH, le TSA et les troubles spécifiques d'apprentissage (Kaczorowski et al., 2020). Ces atteintes cognitives et neurodéveloppementales viennent avec leur lot de défis sur le plan comportemental, social et académique, et ont un impact significatif sur la qualité de vie des enfants ayant la NF1.

Alors que les voies de signalisations perturbées par la mutation du gène NF1 sont de plus en plus connues, il reste beaucoup à apprendre quant aux répercussions de ces altérations moléculaires sur l'activité neuronale. Cette thèse a donc comme objectif d'étudier, à l'aide de l'électroencéphalographie (EEG), des mécanismes neuronaux de base du traitement sensoriel et de l'apprentissage chez les enfants ayant la NF1. Plus précisément, l'étude de la synchronisation neuronale lors de stimulations visuelles fera l'objet d'un premier article, suivi d'un deuxième article qui portera sur l'étude de la suppression neuronale et de la détection du changement. Les particularités de l'activité neuronale dans la NF1 pourraient contribuer à une meilleure compréhension du phénotype cognitif et comportemental. D'une part, l'étude de la synchronisation neuronale lors de stimulations visuelles pourrait nous renseigner sur les mécanismes qui sous-tendent les habiletés visuo-perceptives et attentionnelles dans la NF1. D'autre part, l'étude de la suppression neuronale et de la détection du changement pourrait nous renseigner sur l'intégrité des mécanismes d'apprentissage de base.

Des altérations de ces mécanismes de base du traitement sensoriel ont été identifiées dans des modèles animaux de NF1 ainsi que dans d'autres syndromes génétiques ayant des similitudes avec la NF1 sur le plan moléculaire. Il est donc pertinent d'en investiguer l'intégrité chez des enfants et adolescents atteints de la NF1. Ces réponses électrophysiologiques pourraient également servir de mesures directes et objectives pour évaluer l'impact de traitements visant l'amélioration du fonctionnement cognitif dans la NF1.

## **2. La neurofibromatose de type 1**

La neurofibromatose de type 1 (NF1) a été décrite pour la première fois en 1882 par le médecin allemand Friederich Von Recklinghausen (von Recklinghausen, 1882). Dans les décennies qui ont suivi, l'intérêt a été porté principalement sur les manifestations somatiques de la maladie. À partir de l'identification du gène NF1 en 1990 (Antônio et al., 2013; Brosius, 2010; Wallace et al., 1990), les études génétiques se sont multipliées et ont permis d'enrichir notre compréhension des mécanismes moléculaires qui sous-tendent les manifestations cliniques de la maladie, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives de traitements. Le phénotype cognitif et comportemental ainsi que la question des troubles d'apprentissages dans la NF1 font l'objet d'études depuis la fin des années 1980 (Beaussart et al., 2018b; Eldridge et al., 1989; Eliason, 1986; Varnhagen et al., 1988). Les différentes atteintes du fonctionnement cognitif sont donc bien répertoriées dans la NF1, mais l'hétérogénéité ainsi que la pathophysiologie de ces déficits demeurent peu comprises. Plus récemment, l'émergence de techniques de neuroimagerie a contribué à développer nos connaissances des caractéristiques de la NF1 sur le plan cérébral et neuronal. Les liens entre les caractéristiques neurobiologiques et les atteintes neuropsychologiques restent toutefois à établir. Le contexte théorique qui suit permettra d'effectuer un survol des connaissances acquises au fil des ans dans ces différents champs d'étude de la NF1.

### **2.1 Diagnostic et manifestations cliniques**

Les critères diagnostiques de la NF1 ont initialement été établis en 1987 par le *National Institute of Health* (NIH), puis ont été révisés en 2021 par un comité international d'experts (Legius et al., 2021). Les recommandations émises dans cette révision distinguent les critères diagnostiques en fonction de l'absence ou la présence d'un parent ayant la NF1. En l'absence

d'un parent atteint de NF1, le diagnostic est posé si au moins deux des sept critères suivants sont rencontrés : (1) au moins six taches café-au-lait de plus de 5 mm de diamètre chez un enfant pré-pubère et de plus de 15 mm chez un individu pubère; (2) des lentigines dans les plis axillaires et/ou inguinaux; (3) au moins deux neurofibromes quel qu'en soit le type, ou un neurofibrome plexiforme; (4) un gliome des voies optiques; (5) au moins deux nodules de Lisch identifiés à l'examen à la lampe à fente, ou au moins deux anomalies choroïdiennes – définies comme des taches hyper-réfectives mises en évidence sur des clichés du fond d'œil en proche infra-rouge ou en tomographie par cohérence optique; (6) une lésion osseuse identifiée parmi les suivantes : dysplasie du sphénoïde, courbure antérolatérale du tibia ou pseudarthrose d'un os long; (7) un variant pathogène hétérozygote du gène NF1, avec une fraction allélique de 50 % dans un tissu apparemment normal tels que les globules blancs. Chez un enfant qui a un parent atteint de la NF1, la présence d'au moins un critère permet de poser le diagnostic de NF1. Le test génétique peut donc faire partie de la démarche diagnostique, sans pour autant qu'il soit nécessaire. Il peut toutefois s'avérer pertinent lors d'un diagnostic clinique incertain, en diagnostic prénatal lors d'une grossesse, ou pour tester des membres à risque dans la famille lorsqu'un variant pathogène est identifié (Duquette, 2019).

L'expression des différentes caractéristiques cliniques présentées ci-haut varie d'une personne à l'autre, mais également de manière intra-individuelle au cours du développement (Gutmann et al., 2017). Le suivi clinique des jeunes atteints de NF1 est donc d'une grande importance et permet de surveiller l'évolution des différents symptômes. Les taches café-au-lait sont souvent les premiers signes observables puisqu'ils apparaissent sur la peau généralement entre les premiers mois de vie et l'âge de 2 ans (Korf, 2002). Les lentigines, qui sont des taches de rousseur généralement situées dans les plis cutanés au-dessus des paupières, autour du cou et sous la poitrine, sont plutôt détectées entre 3 et 5 ans (Korf, 2002). De manière similaire, les gliomes optiques se développent souvent entre 3 et 7 ans. Les gliomes des voies optiques sont des tumeurs des astrocytes localisées le long du nerf optique. Elles sont bénignes la plupart du temps, mais s'accompagnent de symptômes visuels chez environ un tiers des enfants (Balcer et al., 2001). Vers la fin de l'enfance peuvent apparaître les nodules de Lisch, habituellement chez les patients âgés de plus de 10 ans (Friedman, 2002). Les nodules de Lisch sont des hamartomes, soient des malformations tissulaires d'aspect tumoral, au niveau des mélanocytes de l'iris, mais qui n'affectent pas la vision. Les neurofibromes, qui sont des tumeurs bénignes touchant la gaine

des nerfs périphériques, peuvent apparaître vers la fin de l'enfance et sont présents chez la plupart des individus ayant la NF1 une fois la puberté terminée (Friedman, 2002).

La NF1 est également associée à différentes complications sur le plan neurologique. Dans 30 à 50% des cas, on observe une macrocéphalie qui serait principalement due à une augmentation de matière blanche (Schindera et al., 2011). À ce jour, il n'existe pas de lien clair entre le degré de macrocéphalie et l'altération des fonctions cognitives chez les personnes atteintes de la NF1 (Payne et al., 2010). Cela dit, une récente étude incluant 204 enfants ayant la NF1 âgés entre 4 et 18 ans a démontré que la présence de complications neurologiques telles que l'hydrocéphalie et l'épilepsie est associée à un plus faible QI ainsi que de plus faibles habiletés académiques en mathématiques, lecture et écriture (Geoffray et al., 2021). L'épilepsie aurait une prévalence estimée de 4 à 13% dans la NF1 et émergerait souvent de lésions focales associées à la condition telle que les tumeurs intracrâniennes et des anomalies structurelles (Nix et al., 2020; Stafstrom et al., 2017). Une autre particularité neuroanatomique présente chez près de 70% des patients NF1 est la présence de UBOs (*Unidentified Bright Objects*). Les UBOs correspondent à des hypersignaux observés sur les images d'IRM pondérées en T2, principalement localisés dans les ganglions de la base, le thalamus, le cervelet et le tronc cérébral (Lopes Ferraz Filho et al., 2008). Leur nature exacte est discutée, mais ils pourraient résulter d'un œdème et d'une vacuolisation de la myéline (Billiet et al., 2014). Des études ont tenté de lier la présence, la localisation, le nombre et le volume des UBOs à la cognition, mais les résultats demeurent controversés (Baudou et al., 2020). Certains suggèrent tout de même que la localisation des UBOs pourrait déterminer la présence de déficits cognitifs étant donné les associations trouvées entre les UBOs thalamiques et des ganglions de la base et un niveau intellectuel plus faible (Feldmann et al., 2010; Hyman et al., 2003).

## **2.2 Bases génétiques**

Le gène NF1, situé sur le segment chromosomique 17q11.2, est connu pour sa fonction de suppresseur de tumeur. Il code pour la protéine neurofibromine qui est un important régulateur négatif des voies de prolifération cellulaire de la protéine Ras (Bollag & McCormick, 1991). La NF1 est un syndrome qui se transmet de manière autosomique dominante, c'est-à-dire que la présence d'un seul allèle muté situé sur un chromosome non sexuel est suffisante pour que la maladie s'exprime. Le gène NF1 a un taux de mutation spontanée très élevé puisque 30 à 50%

des personnes atteintes n'ont aucun historique familial et présentent une mutation de novo. La pénétrance de la NF1 est de 100%, ce qui signifie que la maladie s'exprime nécessairement lorsque la mutation est présente (Yap et al., 2014). Cependant, le niveau d'expressivité varie considérablement. La maladie peut donc prendre différentes formes et ce, même chez les membres d'une même famille ayant une mutation identique (Easton et al., 1993). Cette variabilité phénotypique dans la NF1 suggère l'influence de facteurs épigénétiques et environnementaux sur l'expression d'un même génotype (Pasmant et al., 2012). À ce jour, peu de corrélations entre le type d'altération du gène NF1 et le type ou la sévérité des symptômes (corrélations génotype-phénotype) ont été établies et confirmées. Dans une récente revue systématique de la littérature menée par le Response Evaluation in Neurofibromatosis and Schwannomatosis (REiNS) Biomarker Group, on rapporte que sur plus de 3 197 variants pathogènes identifiés pour le gène NF1, seules 4 corrélations génotype-phénotype cliniquement confirmées ont été identifiées, affectant entre 10 et 15% de la population NF1 (Bettegowda et al., 2021). Parmi celles-ci se trouvent les microdélétions chromosomiques, touchant environ 5% des patients NF1, qui sont associées à des manifestations cliniques plus sévères que les mutations intragéniques telles que des traits faciaux dysmorphiques, une charge tumorale élevée, des anomalies cardiovasculaires ainsi qu'un développement cognitif altéré (Kehrer-Sawatzki et al., 2017). Le résultat concernant l'atténuation du QI en lien avec les microdélétions a été reproduit dans une récente étude auprès de 497 enfants atteints de la NF1, alors qu'aucune corrélation génotype-phénotype n'a été identifiée dans le groupe de variants intragéniques en ce qui a trait au fonctionnement cognitif, que ce soit en lien avec le type ou l'emplacement du variant intragénique dans le gène NF1 (Ottenhoff et al., 2020).

La protéine produite à partir du gène NF1 est la neurofibromine, une protéine cytoplasmique comprenant 2818 acides aminés. La neurofibromine est omniprésente dans le corps, mais se retrouve à un niveau plus élevé dans le système nerveux central, en particulier dans les neurones, les astrocytes, les oligodendrocytes (Nordlund et al., 1995). De manière plus précise, deux des quatre variants résultant du processus de transcription du gène NF1 s'expriment dans le système nerveux central : l'isoforme de type I qui s'exprime de manière prédominante dans les neurones et l'isoforme de type II qui s'exprime majoritairement dans les cellules gliales (Shilyansky et al., 2010b). De plus, la transcription du gène NF1 est observée à travers un grand nombre de structures cérébrales, telles que le cortex, le striatum, la substance

noire, le tronc cérébral, l'hippocampe et le cervelet (Shilyansky et al., 2010b). La perte de fonction de la neurofibromine dans ces différentes structures cérébrales pourrait contribuer à expliquer l'étendue des symptômes cognitifs associées à la NF1.

### 2.3 Voies de signalisations

Mieux comprendre l'impact de la perte de neurofibromine sur le fonctionnement cérébral nécessite une certaine compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires qui sont liés à cette protéine. Parmi les différentes voies de signalisation régulées par la neurofibromine, la signalisation Ras et celle de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) ont été identifiées comme ayant un impact sur la circuiterie et la plasticité neuronale, et associées à différents aspects du phénotype cognitif et comportemental de la NF1 (Miller & Halloran, 2022; Nix et al., 2020).

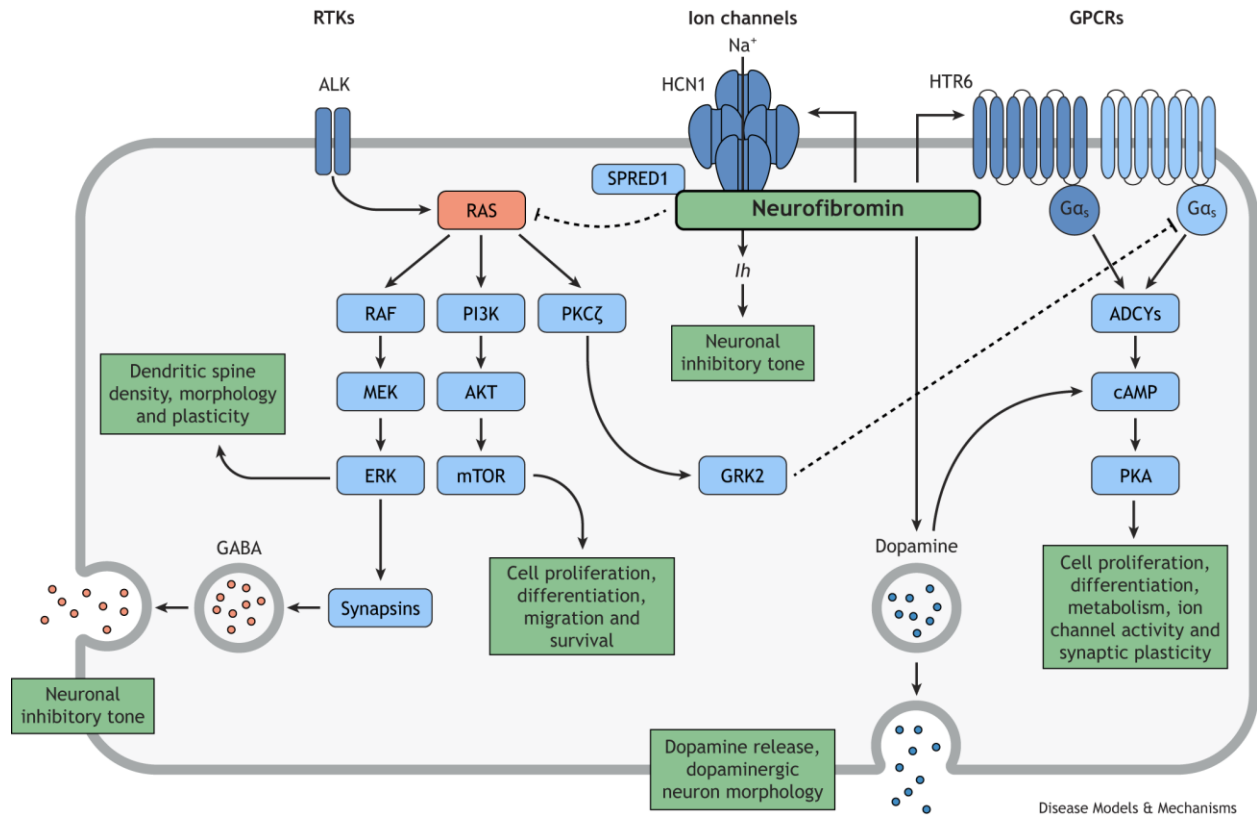


Figure 1. Voies de signalisation médiées par la neurofibromine. Figure tirée, avec l'accord de l'auteur, de l'article publié dans *Disease Models & Mechanisms*, 15(8), Miller AH & Halloran MC, *Mechanistic insights from animal models of neurofibromatosis type 1 cognitive impairment*, publié par The Company of Biologists Ltd (2022).

L'inhibition de la voie de signalisation Ras est la fonction de la neurofibromine la plus étudiée. Cette fonction serait attribuable à une petite région centrale de la neurofibromine, le *GAP-related domain* (GRD). Le GRD fonctionne de manière similaire aux protéines GAP et permet la transformation de la forme active Ras-GTP en sa forme inactive Ras-GDP. La neurofibromine agit ainsi comme un régulateur négatif des voies de signalisation de Ras, dont les voies MAPK/ERK et PI3K/AKT/mTOR (Lau et al., 2000). Ces voies sont connues pour jouer un rôle clé dans le contrôle de la prolifération, de la différenciation, de la migration et de la survie cellulaire, et sont souvent ciblées dans le traitement de cancers (Asati et al., 2016). Ainsi, les cellules dépourvues de neurofibromine se retrouvent avec une hyperactivité de ces intermédiaires de signalisation et une croissance cellulaire accrue.

L'étude de modèles animaux de NF1, plus particulièrement de souris « knockout » présentant une mutation hétérozygote sur le gène NF1 (Nf1<sup>+/-</sup>), a permis d'associer l'hyperactivité de la signalisation Ras à une dérégulation des circuits neuronaux inhibiteurs via la perturbation de la libération de gamma-aminobutyric acid (GABA) (Costa et al., 2002; Cui et al., 2008; Shilyansky et al., 2010a). Ces études suggèrent que l'augmentation de la libération de GABA est en cause dans les déficits d'apprentissage et de mémoire identifiées chez les souris Nf1<sup>+/-</sup>. Au niveau neuronal, l'augmentation de l'inhibition médiée par le GABA mènerait à une altération de la potentialisation à long-terme (PLT), un processus de renforcement synaptique essentiel à l'apprentissage et la mémoire (Costa et al., 2002; Shilyansky et al., 2010b). Chez l'humain, les études de spectroscopie par résonance magnétique ont confirmé ces altérations du système GABAergique dans la NF1, quoique les résultats tendent plutôt vers une réduction des niveaux de GABA dans le cortex de patients ayant la NF1 (Lacroix et al., 2022; Ribeiro et al., 2015; Violante et al., 2013b). Tel que suggéré par Violante et al. (2013b), la réduction du niveau de GABA identifié chez les patients atteints de NF1 n'est pas nécessairement contradictoire avec l'augmentation de l'activité inhibitrice retrouvée dans les modèles animaux. Alors que la spectroscopie par résonance magnétique révèle chez l'humain le niveau de concentration de GABA présent principalement dans le milieu extracellulaire, cette méthode ne détecte pas le GABA lié aux transporteurs et aux récepteurs. Il est possible également que l'augmentation de la neurotransmission GABAergique entraîne un mécanisme compensatoire de régulation à la baisse des enzymes de synthèse du GABA, limitant ainsi le stockage et la libération par les vésicules (Lacroix et al., 2022; Violante et al., 2013b).

Une deuxième voie de signalisation intracellulaire régulée par la neurofibromine et qui aurait un impact sur le fonctionnement neuronal est celle de l'AMPC et de la protéine kinase AMPc-dépendante (PKA) (Miller & Halloran, 2022). La neurofibromine agit comme un activateur de l'adénylate cyclase et régule ainsi positivement les niveaux d'AMPC intracellulaire. (Tong et al., 2002). Bien que le mécanisme exact ne soit pas encore bien compris, la régulation de la voie AMPc-PKA par la neurofibromine semble se faire à la fois de manière Ras-dépendante et Ras-indépendante (Hannan et al., 2006). En l'absence de neurofibromine, la réduction du niveau d'AMPC intracellulaire mènerait à une perturbation de la prolifération, de la différenciation et du métabolisme cellulaire, ainsi que de la plasticité synaptique (Miller & Halloran, 2022). Au niveau du système nerveux central, une baisse du niveau d'AMPC a également été associée à une diminution du diamètre du cône de croissance, une diminution de la longueur des neurites ainsi qu'une augmentation de l'apoptose des neurones de l'hippocampe et des cellules ganglionnaires de la rétine (Brown et al., 2010b).

Alors que les études sur les souris  $Nf1^{+/-}$  ont soulevé l'implication de la signalisation Ras dans les mécanismes d'apprentissage et de mémoire, un modèle animal de NF1 développé à partir de la drosophile a également révélé une amélioration des comportements d'apprentissage par le rétablissement de la signalisation AMPc-PKA (Guo et al., 2000; Ho et al., 2007). Une relation entre la neurofibromine, le niveau d'AMPC et la libération de dopamine a ensuite été identifiée par une série d'études réalisées avec une nouvelle souche de souris transgéniques (souris *Nf1 OPG*) (Brown et al., 2010a; Diggs-Andrews et al., 2013). Leurs résultats ont permis de démontrer la modulation de la signalisation dopaminergique présynaptique par la neurofibromine, et les impacts négatifs des déficits en dopamine sur l'attention, l'apprentissage et la mémoire des souris mutées (Miller & Halloran, 2022).

Les modèles animaux ont donc permis d'identifier des mécanismes cellulaires et moléculaires qui réguleraient certains aspects du phénotype comportemental de la NF1. Cela dit, le transfert de ces connaissances à l'humain demeure évidemment incomplet à ce jour et plusieurs questions demeurent en lien avec les particularités du fonctionnement cognitif chez individus ayant la NF1.



### 3. Approche neuropsychologique de la neurofibromatose de type 1

Tel que mentionné précédemment, la NF1 présente une grande hétérogénéité au niveau des manifestations cliniques. Cela s'applique également aux symptômes cognitifs qui touchent la majorité des enfants atteints de la NF1 sous une forme ou un autre. Dans l'étude de Hyman et al. (2005) portant sur la nature et la fréquence des déficits cognitifs chez les enfants ayant la NF1, ce sont 81% des enfants qui présentaient une atteinte modérée à sévère dans un ou plusieurs domaines du fonctionnement cognitif. Au cours des dernières années, de nombreuses études et quelques revues de littérature (Beaussart et al., 2018a; Crow et al., 2022; Hachon-Le Camus et al., 2012; Lehtonen et al., 2013) ont tenté de rendre compte de la variabilité des symptômes cognitifs et de faire émerger un profil associé à la NF1. Dans la plus récente méta-analyse sur le sujet, les déficits cognitifs les plus importants ont été trouvés aux tests de fonctionnement intellectuel, d'habiletés visuospatiales et de rendement scolaire (Crow et al., 2022). Sont également ressorties de cette méta-analyse des atteintes considérables sur le plan des fonctions exécutives, du fonctionnement moteur, de l'attention, de la mémoire visuelle et de la mémoire de travail.

De manière assez consensuelle, les études ont révélé une légère diminution du QI moyen qui se situe généralement autour d'un écart-type sous la moyenne dans les échantillons de d'enfants atteints de la NF1 (Crow et al., 2022). À quelques exceptions près, ces résultats semblent se maintenir peu importe que l'on compare les enfants ayant la NF1 à des contrôles, à des normes ou à leur fratrie non-atteinte (Levine et al., 2006a). La prévalence de la déficience intellectuelle est beaucoup moindre que dans la plupart des maladies neurogénétiques, mais serait tout de même légèrement supérieure (4 à 8%) à celle de la population générale (environ 3%) (North, 2000). La question se pose à savoir si la diminution du fonctionnement intellectuel moyen, tel que mesuré par le QI global, est attribuable à un sous-groupe de patients présentant des atteintes plus sévères. Certains auteurs ont d'ailleurs initialement fait l'hypothèse d'une distribution bimodale du QI dans la NF1 (North et al., 1995). Toutefois, l'étude de Hyman et al. (2005) réalisée avec un échantillon de 81 enfants ayant la NF1 a révélé une distribution normale des scores de QI. Ces résultats ont ensuite été reproduits dans d'autres études (Krab et al., 2008a; Ottenhoff et al., 2020).

L'importance des déficits visuo-spatiaux dans la NF1 a initialement contribué à la perception d'un syndrome affectant principalement les apprentissages non-verbaux. Parmi toutes les études ayant comparé les enfants NF1 avec des contrôles, des normes ou la fratrie, ce sont 80% qui rapportent des déficits au test de Jugement d'orientation de lignes de Benton (Levine et al., 2006a). Ce test évalue les habiletés visuo-spatiales, mais fait également intervenir la mémoire de travail, les capacités visuo-attentionnelles et visuomotrices, ce qui pourrait contribuer aux performances déficitaires rapportées de manière récurrente dans la littérature (Hachon et al., 2011). Toutefois, la différence de performance par rapport aux contrôles serait maintenue même en contrôlant les difficultés attentionnelles (Schrimsher et al., 2003) et visuomotrices (Hyman et al., 2005). À la Figure complexe de Rey, des déficits ont été relevés dans l'analyse perceptive des formes et de leurs relations spatiales, dans l'intégration visuomotrice et la mémoire visuelle (Bulgheroni et al., 2019). Plusieurs suggèrent que les déficits visuospatiaux dans la NF1 pourraient être expliqués par des atteintes du traitement visuel de base, dont il sera question dans les sections qui suivent, mais également médiés par les déficits exécutifs (Bulgheroni et al., 2019; Crow et al., 2022).

Malgré l'importance des atteintes visuospatiales dans la NF1, des faiblesses en lecture et sur le plan du langage ont été identifiées comme ayant un impact considérable sur le fonctionnement académique des enfants atteints de la NF1 et allant ainsi au-delà d'un profil affectant spécifiquement les apprentissages non-verbaux (Cutting et al., 2004). En effet, des perturbations du langage oral dans les volets réceptif et expressif, des atteintes au niveau de la conscience phonologique ainsi des difficultés en lecture qui englobent le traitement phonologique, la reconnaissance de mots et la compréhension de texte ont été identifiées (Chaix et al., 2017; Cutting et al., 2000; Hachon-Le Camus et al., 2012; Mazzocco et al., 1995). Ainsi, la NF1 se caractériserait plutôt par un profil hétérogène affectant plusieurs sphères d'apprentissage, avec une atteinte prépondérante du fonctionnement visuospatial (Crow et al., 2022). Cela complexifie la classification diagnostique des enfants atteints de la NF1 au niveau des troubles d'apprentissage et nécessite une prise en charge d'autant plus importante au cours du cheminement académique. D'ailleurs, les études rapportent qu'entre 35 et 65% des enfants ayant la NF1 présentent un trouble spécifique d'apprentissage, telle que la dyslexie, et qu'ils seraient quatre fois plus susceptibles d'avoir besoin d'une éducation spécialisée (Krab et al., 2008a; Levine et al., 2006b).

L'attention et les fonctions exécutives font également partie des domaines du fonctionnement cognitif qui sont fréquemment atteints dans la NF1. Une étude réalisée auprès de 55 patients âgés entre 6 et 14 ans a démontré la présence de déficits au niveau de l'attention auditive soutenue et divisée ainsi que de l'attention visuelle soutenue (Isenberg et al., 2013). Le trouble déficitaire de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH) est d'ailleurs le plus fréquent des troubles comorbides à la NF1. Entre 38 et 67% des jeunes ayant la NF1 rencontrent les critères diagnostiques du TDAH et ils seraient trois fois plus susceptibles de présenter ce trouble que leur fratrie non-atteinte (Hyman et al., 2005; Smith et al., 2020). À titre comparatif, la proportion d'enfants et adolescents présentant un TDAH dans le monde est estimée à environ 5% (Sayal et al., 2018). Le ratio de garçons/filles présentant un TDAH dans la NF1 serait inférieur à celui de la population générale. Un ratio de 1,6 :1 a été rapporté dans un échantillon de 117 enfants ayant la NF1 (Hirabaru & Matsuo, 2018), en contraste avec le ratio d'environ 3 :1 dans la population générale (Sayal et al., 2018). Le TDAH avec inattention prédominante et à présentation combinée seraient plus fréquents dans la NF1 que la forme avec hyperactivité/impulsivité prédominante (Hachon-Le Camus et al., 2012; Hirabaru & Matsuo, 2018). Une étude de Koth et al. (2000) réalisée auprès de 32 familles a comparé la présence de TDAH chez les enfants atteints de NF1 à celle chez leur fratrie non-atteinte et leur parents biologiques. En tenant compte de la prévalence familiale, les chercheurs ont trouvé un excès significatif de TDAH chez les enfants atteints de la NF1, suggérant ainsi que ce trouble pourrait faire partie de phénotype de la NF1. Bien que les tests d'attention et de fonctions exécutives indiquent généralement des performances inférieures aux échantillons normatifs chez les jeunes ayant la NF1, ces déficits cognitifs ne seraient pas nécessairement prédictifs des symptômes comportementaux dans cette population (Payne et al., 2019). D'ailleurs, ce sont plutôt les symptômes comportementaux du TDAH, contrairement aux déficits cognitifs, qui seraient prédictifs des impacts fonctionnels mesurés par des indices de fonctionnement adaptatif et de qualité de vie (Payne et al., 2019). Sur le plan exécutif, une méta-analyse a révélé des atteintes diffuses à travers les différents domaines de fonctionnement exécutif, avec des déficits modérés en mémoire de travail et en planification/résolution de problèmes, et des déficits plus légers au niveau du contrôle de l'inhibition et de la flexibilité cognitive (Beaussart et al., 2018a). L'idée d'un dysfonctionnement exécutif représentant une caractéristique centrale de la NF1 et pouvant contribuer à expliquer l'hétérogénéité des déficits cognitifs et comportementaux a gagné en

popularité au cours des dernières années (Beaussart et al., 2018b). Dans une récente synthèse de la littérature, Smith et al. (2020) partagent une perspective fort intéressante sur la fondation commune que représentent les fonctions exécutives pour comprendre les facteurs de vulnérabilité qui sont communs au développement du TDAH et du trouble du spectre de l'autisme (TSA) dans la NF1.

En effet, en plus du TDAH qui représente le trouble comorbide le plus fréquent, la prévalence du TSA chez les enfants atteints de la NF1 est estimée entre 10 à 26 % (Eijk et al., 2018; Garg et al., 2013; Morris et al., 2016; Plasschaert et al., 2015; Walsh et al., 2013), ce qui est largement supérieure à la prévalence dans la population mondiale qui est autour de 1% (Lai et al., 2014). L'étude de Morris et al. (2016) réalisée avec un échantillon de 531 enfants atteints de la NF1 a rapporté une distribution continue des traits autistiques, avec 13% de l'échantillon se situant dans la zone d'atteinte la plus sévère (score  $T \geq 75$ ) correspondant au diagnostic clinique de TSA. Les déficits sur le plan de la communication étaient très présents et similaires à ceux observés dans l'autisme idiopathique, alors que le volet des comportements restreints et répétitifs était surtout caractérisé par des intérêts circonscrits et des difficultés avec les changements mineurs. D'autres résultats importants découlent de cette étude, dont le ratio de garçons et de filles atteints qui se voit largement diminué dans l'échantillon NF1 (1,6 :1) en comparaison au ratio dans la population générale qui est d'environ 4 garçons pour 1 fille (Christensen et al., 2018). Toujours dans l'étude de Morris et al. (2016), les cas de NF1 héritée ont également démontré une corrélation intrafamiliale pour la gravité des traits autistiques dépassant celle observée dans la population générale et les échantillons familiaux de TSA, suggérant un degré élevé de spécificité mutationnelle pour la sévérité du TSA dans la NF1. Dans une récente étude où les outils cliniques pour le diagnostic du TSA (Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) et/ou Autism Diagnostic Observation Schedule-Second Edition (ADOS-2)) ont été administrés à 68 enfants NF1 âgés entre 3 et 15 ans, ce sont 34% des enfants qui se sont retrouvés au-delà du seuil le plus strict pour le diagnostic clinique de TSA (Chisholm et al., 2022). En ce qui a trait à la co-occurrence des différents troubles neurodéveloppementaux dans la NF1, les données semblent pointer vers une forte association entre les symptômes de TDAH et de TSA (Morris et al., 2016; Walsh et al., 2013). Plus spécifiquement, Walsh et al. (2013) ont identifié, dans un échantillon de 66 enfants NF1, une association positive et particulièrement significative entre les symptômes d'inattention/d'hyperactivité et les déficits sur le plan de la conscience sociale et de

la motivation sociale. L'association des problèmes de comportements internalisés (p.ex., l'anxiété) et externalisés (p.ex., l'opposition, les troubles de conduite) avec les comportements associés au TSA semble quant à elle moins bien établie chez les enfants atteints de la NF1 (Chisholm et al., 2022; Walsh et al., 2013). En somme, cette incidence élevée du TDAH et du TSA est évidemment à prendre en considération lorsqu'on tente de comprendre les particularités du traitement sensoriel et des mécanismes d'apprentissage dans la NF1. Cette forte association fait également de la NF1 un modèle de maladie monogénique permettant de mieux comprendre les mécanismes étiologiques derrière ces troubles neurodéveloppementaux (Kaczorowski et al., 2020).

Très peu d'études ont investigué de manière longitudinale la trajectoire développementale du fonctionnement cognitif dans la NF1. Dans la plus grande étude longitudinale à ce jour réalisée avec un échantillon de 88 enfants atteints de NF1 et ayant des neurofibromes plexiformes, Hou et al. (2020) ont rapporté des performances relativement stables dans certains domaines de fonctionnement cognitif, alors que d'autres, tels que les habiletés mathématiques, d'écriture, le contrôle inhibiteur et la mémoire de travail, ont décliné avec le temps. Les participants de cette étude étaient âgés entre 6 et 18 ans et ont été testés à trois reprises sur une période de 6 ans. Les résultats ont démontré que d'avoir un parent atteint de NF1 ou ayant un plus faible niveau d'éducation était associé à un plus grand risque de déclin dans certains domaines cognitifs. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'une étude portant sur les prédicteurs du fonctionnement cognitif, comportemental et académiques dans la NF1, rapportant qu'un plus haut statut socio-économique serait associé à un plus haut score de QI, un plus faible niveau de symptômes associés au TDAH et de meilleures habiletés de communication sociale (Geoffray et al., 2021). Avoir un parent atteint de NF1 était également associé à de plus faibles scores de QI et ce, même en contrôlant pour le statut socio-économique. Cela dit, une récente méta-analyse de 50 études transversales comparant le fonctionnement cognitif de patients avec NF1 à celui d'enfants au développement typique ou de la fratrie non-atteinte a conclu à des résultats contradictoires en rapportant des contributions non significatives de l'âge, du sexe, du niveau d'éducation des patients et du niveau d'éducation des parents, sur les performances cognitives (Crow et al., 2022). Bref, bien que davantage d'études soient nécessaires pour mieux comprendre la trajectoire développementale et les prédicteurs du fonctionnement cognitif, ces données

illustrent que les facteurs environnementaux peuvent représenter des déterminants du phénotype cognitif et comportemental à prendre en compte dans la NF1.

#### **4. Apports des études d'imagerie cérébrale**

En mettant en lumière les particularités neurobiologiques découlant de la NF1, les études d'imagerie cérébrale contribuent progressivement à une meilleure compréhension des déficits cognitifs associés à cette condition et de leur hétérogénéité. Sur le plan structurel, une augmentation du volume cérébrale, qui serait plus prononcée au niveau de la matière blanche que de la matière grise, et une plus faible gyrfication corticale sont retrouvées chez les individus ayant la NF1 (Huijbregts et al., 2015; Karlsgodt et al., 2012; Violante et al., 2013a). Une augmentation du volume des régions sous-corticales, dont le corps calleux, le thalamus et le striatum a également été mise en évidence (Aydin et al., 2016; Huijbregts et al., 2015; Violante et al., 2013a). De plus, une altération de la myélinisation est suspectée en raison des particularités microstructurelles qui ont été identifiées chez les patients ayant la NF1, telles une diminution de l'anisotropie fractionnelle et une augmentation de la diffusivité moyenne. Cependant, peu de liens conséquents ont été établis à ce jour entre les différentes altérations structurelles/morphologiques et le profil cognitif de la NF1 (Baudou et al., 2020).

Les études de neuroimagerie fonctionnelle ont quant à elles permis d'établir des liens intéressants avec certains domaines de fonctionnement cognitif qui sont particulièrement touchés dans la NF1, dont le domaine visuospatial ainsi que les habiletés attentionnelles et exécutives. Sur le plan visuospatial, Clements-Stephens et al. (2008) ont d'abord identifié, à l'aide de l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), un recrutement inefficace du réseau de l'hémisphère droit impliqué dans le traitement visuospatial, lors de la réalisation d'une tâche analogue au test de Jugement d'orientation de lignes de Benton. Ce test est reconnu pour révéler des atteintes visuospatiales dans la NF1 et solliciterait davantage les structures de la voie visuelle dorsale, qui analyse entre autres le mouvement et les dispositions dans l'espace (Tranel et al., 2009). Cette même étude a révélé un volume d'activation réduit du cortex visuel primaire (V1) dans le groupe d'enfants et adolescents atteints de la NF1. Violante et al. (2012) ont ensuite rapporté une activation réduite des aires visuelles de bas niveau (V1, V2, V3) en réponse à deux types de stimulation sollicitant respectivement les canaux magnocellulaire (voie dorsale) et

parvocellulaire (voie ventrale). Durant la stimulation magnocellulaire, des difficultés à désactiver le réseau du mode par défaut ont également été identifiées chez les participants ayant la NF1, ce que les chercheurs ont mis en lien avec les difficultés attentionnelles et la prévalence élevée de TDAH dans cette population. Cette même équipe de chercheurs a ensuite révélé un déficit du niveau de GABA dans le cortex visuel d'enfants et adolescents avec la NF1 (Violante et al., 2013b), ce qui a permis de renforcer l'hypothèse d'une perturbation de l'activité inhibitrice qui avait été jusque-là seulement étudiée dans les modèles animaux. De plus, les résultats suggèrent un impact fonctionnel de ce déficit en GABA étant donné la corrélation négative avec le niveau d'activation du cortex visuel (signal BOLD) mesuré en IRMf lors d'une tâche visuelle. Tout récemment, cette diminution du niveau de concentration de GABA dans le cortex occipital a été reproduite dans un échantillon de patients NF1 (Lacroix et al., 2022).

La neuroimagerie fonctionnelle a également permis d'identifier des altérations cérébrales associées à des déficits sur le plan de l'attention, de la mémoire de travail et de l'inhibition dans la NF1. D'abord, les déficits en mémoire de travail ont été associés à une hypoactivation du cortex préfrontal dorsolatéral (CPDL) (Shilyansky et al., 2010a), et à une réduction de la connectivité fonctionnelle du CPDL gauche avec la cortex pariétal droit (Ibrahim et al., 2017). Une récente étude électroencéphalographique auprès d'adolescents ayant la NF1 s'est intéressée à la composante P300 élicitée par une tâche de mémoire de travail de type *n-back* (Pobric et al., 2022). Les chercheurs ont rapporté une amplitude préservée de la composante P300, mais une latence réduite ainsi que des différences topographiques. Ensuite, une hypoactivation des structures du réseau attentionnel ventral, soit de la jonction temporo-pariétal et du cortex cingulaire antérieur, a été observée en IRMf et associée aux déficits sur le plan de l'attention sélective et du contrôle attentionnel (Pride et al., 2018). En ce qui a trait au contrôle de l'inhibition, Ribeiro et al. (2015) ont utilisé une approche multimodale combinant la spectroscopie par résonance magnétique et l'EEG, durant une tâche visuelle de type *go/no-go*, afin d'étudier les mécanismes neuronaux derrière les comportements impulsifs chez les enfants et adolescents ayant la NF1. Les résultats ont confirmé le phénotype impulsif dans la NF1, et celui-ci était corrélé à la réduction du ratio GABA/Créatinine identifié dans le cortex frontal médian. Les comportements impulsifs n'étaient toutefois pas corrélés à la réduction de ce même ratio dans le cortex occipital, suggérant un lien entre l'altération de la transmission GABAergique et de la cognition qui est spécifique à une région qui sous-tend le contrôle de

l'inhibition. Les enregistrements EEG ont quant à eux révélé une réduction de la composante pariéto-occipitale P1, suggérant une atteinte du traitement visuel de base, et de la composante frontal P3, suggérant une atteinte du contrôle inhibiteur.

En somme, bien que les données actuelles demeurent insuffisantes pour rendre compte de l'ensemble du portrait cognitif associé à la NF1, des liens importants entre les résultats d'imagerie et les symptômes cognitifs ont été établis au cours de dernières années. Les résultats de ces études récentes, réalisées à la fois avec les modèles animaux et avec les individus ayant la NF1, indiquent que les déséquilibres de la neurotransmission GABAergique, et la modification des dynamiques d'excitation et d'inhibition qui en découle, pourrait contribuer aux altérations cérébrales et au phénotype cognitif/comportemental de la NF1.

## **5. Hypothèses de mécanismes neuronaux altérés dans la neurofibromatose de type 1**

L'hypothèse d'une modification des dynamiques d'excitation et d'inhibition des circuits neuronaux est commune à plusieurs syndromes génétiques associés à des troubles du neurodéveloppement. Les déséquilibres de la dynamique d'excitation-inhibition mèneraient à une hyperexcitabilité ou une hypoexcitabilité corticale en réponse aux stimuli de l'environnement et affecteraient ainsi le traitement de l'information sensorielle. L'EEG est une méthode de choix pour investiguer les marqueurs de ces atteintes du traitement sensoriel étant donné son excellente résolution temporelle, son accessibilité et le potentiel translationnel des mesures entre les modèles animaux et les études chez les humains. Il s'agit également d'une méthode adaptée pour des enfants de tout âge, y compris pour des patients présentant des difficultés comportementales ou des limites dans leurs capacités à participer activement à des tâches cognitives. Une récente revue de la littérature s'est penchée sur les résultats électrophysiologiques obtenus dans six syndromes génétiques, dont la NF1, associés au TSA et pour lesquels un dysfonctionnement de la transmission GABAergique est suspecté (Neklyudova et al., 2022). Les auteurs ont classifié les syndromes selon les indices pointant vers un phénotype hypersensible ou hyposensible, tant au niveau neurophysiologique que comportemental. Parmi les exemples de caractéristiques associées au profil hyposensible, on retrouve au niveau comportemental une faible réactivité aux stimuli sensoriels ou encore des comportements de recherche sensorielle, et au niveau neurophysiologique, des potentiels évoqués de faible



amplitude et de plus grande latence. Bien que les auteurs aient catégorisé la NF1 parmi les syndromes au profil hyposensible, avec entre autres le syndrome de Rett et la sclérose tubéreuse de Bourneville, on constate que les résultats EEG demeurent parfois inconséquents et encore insuffisants à ce jour pour bien comprendre les particularités du fonctionnement neuronal et du traitement de l'information sensorielle dans la NF1. C'est pourquoi, dans ce projet de recherche, nous avons eu recours à l'EEG afin d'étudier des mécanismes de base du traitement sensoriel dans la NF1. Les prochaines sections traiteront plus spécifiquement des mécanismes neuronaux étudiés dans chacun des articles de la thèse, soit d'une part la synchronisation neuronale et d'autre part la suppression neuronale et la détection du changement.

### **5.1 Synchronisation neuronale**

Les résultats des études EEG dans la NF1 tendent vers une amplitude réduite et une latence augmentée des composantes précoces des potentiels évoqués, particulièrement dans la modalité visuelle (Neklyudova et al., 2022). Alors que les premières études de potentiels évoqués visuels dans la NF1 avaient pour but de comprendre l'impact des gliomes optiques sur le traitement visuel (North et al., 1994), les chercheurs ont ensuite identifié des particularités du signal EEG en réponse à des stimuli visuels en l'absence de gliomes optiques ou d'autres anomalies neuroanatomiques (Ammendola et al., 2006; Iannaccone et al., 2002; Yerdelen et al., 2011). Cela suggère qu'une atteinte du traitement visuel de base pourrait être une caractéristique intrinsèque à ce syndrome génétique, sans pour autant être présent chez l'ensemble des patients. Au-delà des analyses du domaine temporel que permet l'étude des potentiels évoqués visuels transitoires, peu d'études ont eu recours à des analyses du domaine fréquentiel pour mieux comprendre les mécanismes neuronaux associés au traitement visuel dans la NF1. La présentation périodique de stimuli visuels génère une réponse neuronale périodique dans le cortex visuel, connu sous le nom de potentiels évoqués visuel stationnaires (*steady-state visual evoked potentials*; SSVEP) (Norcia et al., 2015). Les SSVEP apparaissent dans le signal EEG sous la forme de pic d'amplitude (ou de puissance) correspondant à la fréquence de stimulation ainsi qu'à ses harmoniques (voir Figure 3).

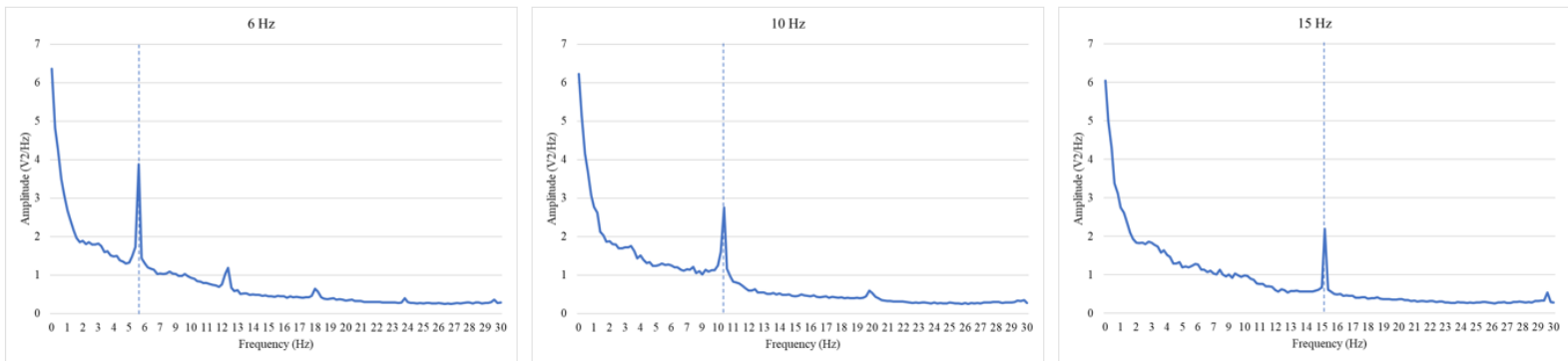


Figure 2. Exemple de SSVEP tiré du premier article, obtenu à trois fréquences de stimulation différentes (i.e., 6 Hz, 10 Hz, 15 Hz). Le spectre fréquentiel illustre les pics à la fréquence de stimulation et ses harmoniques.

La réponse SSVEP serait le résultat d'un alignement de phase entre l'activité neuronale et la stimulation sensorielle périodique (Moratti et al., 2007). Le cortex visuel primaire a évidemment été identifié comme une des sources corticales de la réponse SSVEP, mais des contributions du cortex frontal et de structures extracorticales ont également été identifiées dépendamment de la fréquence de stimulation (Vialatte et al., 2010). Les interactions thalamo-corticales joueraient notamment un rôle essentiel dans la transmission de l'activité rythmique (Obleser & Kayser, 2019). Le mécanisme exact derrière la synchronisation du rythme cérébral avec le rythme de stimulation demeure matière à débat, particulièrement en ce qui a trait à l'interaction avec les oscillations cérébrales endogènes. La plupart des protocoles utilisés, particulièrement dans les études développementales, ne permettent pas de distinguer un réel entraînement des oscillations endogènes par la stimulation rythmique d'une suite de potentiels évoqués n'ayant pas d'impact sur les oscillations intrinsèques (Bánki et al., 2022). Le terme synchronisation neuronale est donc utilisé dans cette thèse de manière à établir une distinction avec le concept d'entraînement neuronal au sens strict du terme (Obleser & Kayser, 2019). En effet, la réponse SSVEP permet de mesurer la synchronisation moyenne de l'activité du cortex occipital au rythme des stimuli visuels présentés, sans nécessairement interférer avec l'activité cérébrale endogène. Le terme *neural tracking*, ou *stimulus-tracking*, est généralement utilisé pour désigner ce phénomène de réponse neuronale rythmique élicitée par une stimulation

externe, sans perturbation des rythmes cérébraux internes (Bánki et al., 2022). La méthode SSVEP est souvent utilisée dans des paradigmes de *frequency-tagging*, dans lesquels des stimuli de différentes fréquences sont présentés simultanément, ce qui permet d'étudier le traitement spécifique de chacun des stimuli et l'implication de fonctions cognitive de plus haut niveau, telle que l'attention (Köster et al., 2023).

Le SSVEP est un outil particulièrement adapté pour étudier l'activité électrophysiologique de jeunes enfants étant donné le ratio signal-bruit élevé et donc la robustesse du signal face aux artéfacts (Kabdebon et al., 2022). Toutefois, peu d'études à ce jour ont utilisé cette méthode pour analyser la réponse neuronale aux stimulations visuelles chez les enfants ayant la NF1. Une étude réalisée avec un échantillon de 17 participants NF1 et 18 contrôles, âgées de 8 à 17 ans, a eu recours à l'EEG pour analyser les potentiels évoqués visuels et les oscillations cérébrales au repos ainsi qu'en réponse à des stimulations visuelles rythmiques (Ribeiro et al., 2014). Les résultats ont révélé dans le groupe NF1 des anomalies des composantes de potentiels évoqués de plus grandes latences, suggérant des déficits des stades plus tardifs du traitement visuel. Concernant les oscillations cérébrales, les auteurs ont rapporté une augmentation de l'amplitude des oscillations alpha au repos ainsi que dans les différentes conditions de stimulations visuelles. Considérant les liens entre les oscillations alpha, la perception visuelle et l'attention, les auteurs suggèrent que ces résultats indiquent un mécanisme neuronal qui pourrait sous-tendre les déficits du traitement visuel et de l'attention dans la NF1 (Ribeiro et al., 2014). Dans une seconde étude EEG auprès d'enfants et adolescents ayant la NF1, la même équipe de chercheurs a ensuite révélé une plus grande désynchronisation des oscillations alpha dans la NF1 en réponse à une tâche d'attention visuelle périphérique (Silva et al., 2016). La modulation atypique des oscillations alpha dans la NF1 pourrait donc s'exprimer à la fois par une augmentation ou une diminution de l'activité, dépendamment du type de tâche et de l'état attentionnel.

En dehors de ces études qui nous renseignent sur l'activité oscillatoire en réponse à des stimulations visuelles, peu de données existent actuellement sur le mécanisme de synchronisation neuronale dans la NF1. Pourtant, l'importance de la neurotransmission GABAergique dans la synchronisation de l'activité neuronale et la génération de rythmes cérébraux est maintenant bien établie (Gonzalez-Burgos & Lewis, 2008). L'altération de l'activité GABAergique mise en

évidence dans la NF1 pourrait donc perturber l'activité rythmique dans le cortex occipital et ainsi contribuer aux déficits visuo-perceptifs et attentionnels.

## **5.2 Suppression neuronale et détection du changement**

Les études réalisées avec des modèles animaux de NF1 ont permis de démontrer l'impact de la perturbation de la signalisation Ras sur les mécanismes d'apprentissage de base (Miller & Halloran, 2022). Comment cette atteinte des mécanismes d'apprentissage se traduit sur le plan de l'activité cérébrale chez les individus ayant la NF1 demeure encore incertain. Une forme d'apprentissage de base conservée à travers les espèces qui offre un potentiel de recherche translationnelle est l'habituation (Fenckova et al., 2019). L'habituation correspond au déclin graduel de la réponse d'un organisme à un stimulus répété. Cette forme d'apprentissage non associatif permet d'ignorer les stimuli devenus familiers et prévisibles, pour éviter une surcharge d'information et diriger les ressources cognitives vers d'autres éléments importants à traiter (McDiarmid et al., 2017). Il s'agit donc d'un mécanisme cognitif de base, essentiel à l'attention et à des formes plus complexes d'apprentissage et de mémoire. L'atteinte du processus d'habituation a été démontrée dans des modèles animaux de NF1, illustrant un rôle central de la signalisation Ras-MAPK dans cette forme d'apprentissage (Fenckova et al., 2019; Wolman et al., 2014).

L'apprentissage par habituation peut être étudié avec l'EEG en mesurant la réduction de l'activité cérébrale en réponse à la présentation répétée d'un stimulus. Ce phénomène, connu sous le terme de suppression neuronale, représenterait une forme de plasticité synaptique dont les mécanismes cellulaires et moléculaires exacts ne sont pas entièrement compris à ce jour. La suppression neuronale pourrait résulter de la dépression synaptique des neurones excitateurs, mais des études récentes ont également mis de l'avant le rôle des neurones GABAergiques inhibiteurs dans la réponse d'habituation (Fenckova et al., 2019; McDiarmid et al., 2017). L'altération du phénomène de suppression neuronale a été documentée dans d'autres syndromes génétiques associés à des troubles du neurodéveloppement, tels que le syndrome du X Fragile (Côté et al., 2021; Knoth et al., 2018; Rigoulot et al., 2017). Une mesure du traitement de l'information sensorielle allant de pair avec la suppression neuronale est la mesure de détection du changement. Celle-ci est observée lorsqu'un stimulus répété est suivi d'un stimulus déviant, élicitant alors une réponse neuronale accrue. L'augmentation de l'activité neuronale en réponse

au stimulus déviant indique la détection d'un changement par rapport à la représentation mnésique du stimulus répété. La suppression neuronale et la détection du changement sont donc deux mécanismes fondamentaux du traitement sensoriel, mais qui joueraient un rôle important dans le développement cognitif ultérieur. En effet, plusieurs études réalisées dans notre équipe de recherche ont révélé une association entre le traitement sensoriel de la répétition et du changement et le développement cognitif. Par exemple, Deguire et al. (2023) ont démontré que la réponse de répétition et de détection du changement mesurée dans la première année de vie prédit le fonctionnement adaptatif à l'âge de 4 ans. Ensuite, dans une étude réalisée auprès d'enfants d'âge scolaire, Charlebois-Poirier et al. (2023b) ont identifié un lien entre des habiletés élevées de mémoire de travail et de vitesse de traitement et un traitement efficace de la répétition et du changement. Dans des populations cliniques associées à la déficience intellectuelle, des relations ont aussi été trouvées entre le niveau de fonctionnement intellectuel et la réponse de suppression neuronale (Côté et al., 2021; Knoth et al., 2018). Ces réponses neuronales sont également interreliées aux processus attentionnels et de modulation sensorielle, et pourraient donc contribuer à la symptomatologie associée au TDAH et au TSA que l'on retrouve chez une grande proportion d'individus atteints de la NF1.

À ce jour, une seule étude s'est penchée sur la réponse de suppression neuronale et de détection du changement dans un échantillon d'enfants ayant la NF1. Dans cette étude, Begum-Ali et al. (2021) ont analysé la réponse électrophysiologique de 25 bébés avec la NF1 et 52 bébés au développement typique à des stimuli auditifs standards et déviants. Les chercheurs ont relevé une capacité préservée à détecter la répétition et le changement dans le groupe NF1, mais des différences sur le plan topographique et dans l'évolution de la réponse avec l'âge. Les bébés neurotypiques ont démontré davantage d'évolution topographique, avec une réponse à la répétition et au changement devenant plus centralisé dans la région fronto-centrale entre l'âge de 5 et 10 mois. Chez les bébés ayant la NF1, cette évolution topographique était moins importante, et la réponse à la répétition et au changement dans la région frontale était plus lente, suggérant un délai dans la maturation du traitement de l'information auditive. Dans le groupe NF1, la réponse au premier stimulus standard ainsi que la suppression de l'activité en réponse au deuxième stimulus standard se sont avérées être corrélés avec les traits associés au TDAH et au TSA mesurés à l'âge de 14 mois. Aucune étude ne s'est toutefois intéressée à l'intégrité de ces réponses neuronales chez les enfants d'âge scolaire atteints de la NF1.

## 6. Objectifs et hypothèses

L'objectif général de la thèse est d'étudier, à l'aide de l'EEG, l'intégrité de mécanismes neuronaux de base du traitement sensoriel chez les enfants atteints de la NF1, et la relation de ces réponses neuronales avec le phénotype cognitif et comportemental associé à cette condition génétique.

Dans le premier article, l'objectif est de comparer la réponse EEG à des stimulations visuelles périodiques de différentes fréquences (réponse SSVEP) entre un échantillon d'enfants neurotypiques et un échantillon d'enfant ayant la NF1. Nous posons l'hypothèse d'une diminution de la puissance de la réponse SSVEP dans le groupe NF1. L'objectif secondaire est de déterminer si le niveau de fonctionnement intellectuel et les symptômes comportementaux de troubles comorbides (p.ex., TDAH, TSA) sont associés à l'altération de la réponse SSVEP. Une corrélation entre la diminution de la réponse SSVEP et une symptomatologie accrue est attendue. Un troisième objectif exploratoire est d'étudier l'impact de la médication psychostimulante, prise par une proportion d'enfants ayant la NF1, sur la réponse SSVEP, avec l'hypothèse d'une augmentation de la puissance de cette réponse avec médication.

Dans le deuxième article, l'objectif est de comparer la réponse de suppression neuronale et de détection du changement entre le groupe d'enfants ayant la NF1 et le groupe d'enfants neurotypiques. Nous posons l'hypothèse d'une modulation atypique du signal EEG en réponse à la répétition et au changement chez les enfants atteints de la NF1, particulièrement dans la bande de fréquences alpha étant donné les études ayant rapporté à la fois une augmentation et une diminution de l'activité alpha dans la NF1. Une association est également attendue entre les réponses neuronales et les symptômes comportementaux associés au TDAH et au TSA.

## **Chapitre II : Méthodologie et résultats**

**1. Article 1.** Steady-state visual evoked potentials in children with neurofibromatosis type 1: associations with behavioural rating scales and impact of psychostimulant medication

**Authors:** Eve Lalancette<sup>1,2</sup>, Audrey-Rose Charlebois-Poirier<sup>1,2</sup>, Kristian Agbogba<sup>2</sup>, Inga Sophia Knoth<sup>2</sup>, Emily J.H. Jones<sup>3</sup>, Luke Mason<sup>3</sup>, Sébastien Perreault<sup>4</sup> & Sarah Lippé<sup>1,2</sup>

**Affiliations:**

<sup>1</sup> Department of Psychology, University of Montreal, Marie Victorin Building, 90 Vincent-D'Indy Avenue, Montreal, Quebec, Canada, H2V 2S9

<sup>2</sup> CHU Sainte-Justine Research Center, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal, Qc., Canada, H3T 1C5

<sup>3</sup> Centre for Brain and Cognitive Development, Birkbeck, University of London, 32 Torrington Square, London, UK, WC1E 7JL

<sup>4</sup> Department of Neurosciences, Division of Child Neurology, CHU Sainte-Justine, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal, Qc., Canada, H3T 1C5

**Contact information for the corresponding author:** Sarah Lippé, CHU Sainte-Justine, Office A17.01, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal (Qc.), Canada, H3T 1C5, [sarah.lippe@umontreal.ca](mailto:sarah.lippe@umontreal.ca)

Publié dans *Journal of Neurodevelopmental Disorders* (2022), 14(1), 42.

<https://doi.org/10.1186/s11689-022-09452-y>



## **ABSTRACT**

**Background:** Neurofibromatosis type 1 (NF1) is a genetic disorder often associated with cognitive dysfunctions, including a high occurrence of deficits in visuoperceptual skills. The neural underpinnings of these visuoperceptual deficits are not fully understood. We used steady-state visual evoked potentials (SSVEPs) to investigate possible alterations in the synchronization of neural activity in the occipital cortex of children with NF1.

**Methods:** SSVEPs were measured using electroencephalography and compared between children with NF1 (n = 28) and neurotypical controls (n=28) aged between 4 and 13 years old. SSVEPs were recorded during visual stimulation with coloured icons flickering at three different frequencies (6Hz, 10Hz and 15 Hz) and analyzed in terms of signal-to-noise ratios. A mixed design ANCOVA was performed to compare SSVEP responses between groups at the three stimulation frequencies. Pearson's correlations with levels of intellectual functioning as well as with symptoms of ADHD, ASD and emotional/behavioural problems were performed. The impact of psychostimulant medication on the SSVEP responses was analyzed in a subset of the NF1 group (n=8) with paired t-tests.

**Results:** We observed reduced signal-to-noise ratios of the SSVEP responses in children with NF1. The SSVEP responses were negatively correlated with symptoms of inattention and with symptoms of emotional/behavioural problems in the NF1 group. The SSVEP response generated by the lowest stimulation frequency (i.e., 6Hz) was rescued with the intake of psychostimulant medication.

**Conclusions:** Impaired processing of rhythmic visual stimulation was evidenced in children with NF1 through measures of SSVEP responses. Those responses seem to be more reduced in children with NF1 who exhibit more symptoms of inattention and emotional/behavioral problems in their daily life. SSVEPs are potentially sensitive electrophysiological markers that could be included in future studies investigating the impact of medication on brain activity and cognitive functioning in children with NF1.

**Keywords:** Neurofibromatosis type 1; Steady-state visual evoked potentials; Electroencephalography; Inattention symptoms; Psychostimulant medication.

## **BACKGROUND**

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is an autosomal dominant genetic disorder caused by pathogenic alterations in the NF1 gene. With an estimated prevalence of one in 3000, it is one of the most common inherited disorders affecting the human nervous system (1, 2). The NF1 gene encodes neurofibromin, a protein that is expressed in various cell types, and especially in neurons and glial cells (3). Neurofibromin acts as a negative regulator of Ras-mediated signaling pathways which control cell growth and proliferation (4). While NF1 affects multiple systems of the body, the most frequent complications experienced in childhood are cognitive dysfunction and behavioural problems (5). Although the causes of these complications are not fully understood, studies on animal models have helped elucidate how neurotransmitter imbalances related to disruptions in Ras molecular pathways contribute to the NF1 cognitive and behavioural phenotype. In mouse models of NF1, disrupted  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) and dopamine neurotransmission have been shown to be implicated in learning, memory and attention system deficits (6-8), and are thought to contribute to neurodevelopmental disorder risk in NF1 (9). However, how these perturbations in GABAergic and dopaminergic neurotransmission translate into altered neural activity in NF1 should be investigated to further our understanding of the cognitive deficits and develop effective biomarkers in this population.

Children with NF1 are at increased risk of developing several neurodevelopmental problems. Around 20% of children with NF1 meet diagnostic criteria for specific learning disorders (10), but up to 75% perform more than one standard deviation below their grade peers in reading, writing or mathematics-related skills (11). They are therefore much more likely to receive special education or remedial teaching throughout their schooling (11). The internalizing and externalizing behavior problems as well as the social difficulties experienced by children with NF1 can also impact their development and quality of life (12-14). In some cases, social difficulties are related to a comorbid diagnosis of autism spectrum disorder (ASD), the incidence of which is estimated at 25% of children with NF1 (15-17). Inattention and hyperactivity/impulsivity symptoms consistent with the attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) diagnosis are very common as well. Whether these symptoms result from ADHD as an independent comorbidity or are a consequence of NF1 is still a matter of debate (18). Nevertheless, between 38 and 67% of children with NF1 meet diagnostic criteria for ADHD (19,

20) and the comorbidity was shown to have a negative impact on the intellectual outcome and academic achievement (18, 21). As a result, a large proportion of children with NF1 are treated with methylphenidate, a psychostimulant medication often prescribed for ADHD due to its action on the dopaminergic and noradrenergic systems (22), or with other psychostimulant medications. Methylphenidate is thought to have beneficial effects on the cognitive performance of children with NF1 (23, 24), but the impact on measures of brain activity is still unknown.

Regarding specific domains of cognitive functioning, visuoperceptual deficits have been particularly studied and are considered a robust characteristic of the NF1 cognitive phenotype. Lower performances have been consistently found on the Judgement Orientation Line test (25), a standardized test of visuospatial perception measuring the ability to match the angle and orientation of lines in space (26). Deficits in the perceptual analysis of shapes and their spatial features (27), impairments in visual learning (28, 29) and abnormal reactivity to visual signals (30) have also been evidenced using various cognitive tasks. Moreover, children with NF1 exhibit reduced visuomotor integration (31) and a high prevalence of motor problems (32).

Structural and functional brain abnormalities evidenced in patients with NF1 have helped to understand the neurobiological basis of visuoperceptual deficits. In a functional magnetic resonance imaging (fMRI) study, Clements-Stephens, et al. (33) reported inefficient recruitment of the right hemisphere network and hypoactivation of the primary visual cortex in children with NF1 while performing the Judgment of Line Orientation task. Violante, et al. (34) also found reduced activation of the low-level visual cortex in both children and adults with NF1 during magnocellular and parvocellular stimulations. Moreover, the authors found a deficient deactivation of the default mode network in response to magnocellular stimulation, which was hypothesized to be related to the attentional deficits in this population. In an EEG study, Ribeiro, et al. (35) reported anomalies in the long-latency components of the visually-evoked potential in response to chromatic stimulation. They also found abnormal enhancement of alpha oscillations in the parieto-occipital cortex, which was related to increased attentional lapses in a visual detection task. A better understanding of the differences in the functioning of the occipital cortex in NF1 patients may therefore be useful in elucidating the visuoperceptual and attentional deficits in this population.

Electroencephalography (EEG) allows the investigation of visually evoked activity in a rapid and non-invasive way that is well suited for children. The periodic delivery of visual stimuli elicits a periodic neural response in the visual cortex, also known as steady-state visual evoked potentials (SSVEPs) (36). SSVEPs appear in the EEG signal as a clear peak (or power increase) at the stimulation frequency and its harmonics (36, 37). Since SSVEP responses have high signal-to-noise ratios (SNRs) and are robust to artifacts (38), they are particularly useful to study cerebral activity in young children (39). SSVEPs can be recorded in various ways (e.g., magnetoencephalography (MEG), positron emission tomography (PET), fMRI), but EEG remains the method of choice due to its precise temporal resolution and accessibility (40). The generating mechanism of the steady-state response is a matter of debate, especially concerning its relationship with spontaneous (or endogenous) oscillatory activity (41-43). Nevertheless, it is thought to emerge from the synchronization of neural activity to the stimulus frequency via phase alignment (44). SSVEP cortical sources are found mainly in the primary visual cortex, but depending on the frequency of stimulation, contributions have also been identified from the frontal cortex and from extracortical structures (40). Additionally, maturational changes of the SSVEP response occur during childhood. For example, increases in magnitude values of the 5 hertz (Hz) SSVEP were seen until 8-11 years old in the occipital region, while phase alignment values reached their maximum in adulthood (45). Considering the altered trajectory of brain development evidenced in NF1 (46, 47), those maturational changes could be delayed in children with NF1, thus reducing the overall magnitude of the SSVEP response.

Very limited studies have investigated SSVEPs in children with NF1. One study assessed the SSVEP response to the stimulation of the central and peripheral visual fields (at 8 Hz and 7.2 Hz, respectively) in a sample of 10 children with optic pathway gliomas, 7 of which were diagnosed with NF1, and compared to 33 healthy controls (ages 3 to 18 years). Results showed lower SNR of the SSVEP response in children with optic pathway gliomas in response to the central stimulation, but no group difference was observed in the peripheral visual field (48). Furthermore, in their study of visual evoked potentials and brain oscillations in a sample of 17 NF1 participants and 18 controls (ages 8 to 17 years), Ribeiro, et al. (35) reported higher amplitude of non-phase-locked alpha oscillations elicited by a 5 Hz achromatic stimulation, but did not specifically analyze the amplitude of the SSVEP response in terms of SNR. These results

indicate the need for further investigation of the SSVEP response in children with NF1 using larger sample sizes and across a wider range of stimulation frequencies.

Atypical steady-state responses have been found in various psychiatric disorders, including schizophrenia (49, 50) and depression (51), as well as in other neurodevelopmental disorders such as ADHD (52) and ASD (53). It is therefore relevant to investigate whether the possible SSVEP alterations in NF1 could be associated with behavioural symptoms of comorbid neurodevelopmental disorders or emotional problems. Psychostimulant medication, such as methylphenidate and amphetamines, could have an impact on the SSVEP response. Functional imaging studies revealed that such medication strengthens the connectivity between the dorsal attention network and the thalamus, as well as between the thalamus and sensory regions including the visual cortex, which suggests a modulation of sensory processing by psychostimulants (54). In a study examining the effects of methylphenidate on various electrophysiological markers of sustained attention in healthy adults, Dockree, et al. (55) found no significant effect on the SSVEP amplitude generated by a patterned stimulus flickering at a rate of 25 Hz. However, the effect of psychostimulant medication on SSVEPs generated by lower frequencies is still unknown, and so is the effect of psychostimulants on the SSVEP amplitude in children with ADHD or NF1. Other EEG correlates of methylphenidate's impact on brain activity have been identified in children with ADHD, such as normalization of the theta/beta ratio (56, 57) and of the P300 event-related potential component (58, 59). Whether children with NF1-ADHD differ from general ADHD samples in this regard has yet to be examined (9).

In this study, we investigated the synchronization of occipital activity in children with NF1 and neurotypical controls aged between 4 and 13 years old by measuring the SSVEP response to the rhythmic delivery of visual stimuli at different frequencies. We also explored possible relationships between SSVEP and measures of intellectual and behavioral functioning. Moreover, we looked at the impact of psychostimulant medication on the SSVEP amplitude in a subset of NF1 participants.

## **Objective and hypothesis**

Our main goal was to evaluate the integrity of the SSVEP response in children with NF1. The SSVEP response may reflect the underlying molecular mechanisms that are altered in NF1 and would likely be correlated with higher level cognitive functions, such as attention. This cortical response might therefore be a relevant marker to evaluate the effectiveness of treatments aimed at improving cognitive functioning in NF1.

First, we compared the SSVEP response between children with NF1 and typically developing children at three stimulation frequencies (6 Hz, 10 Hz, 15 Hz). We hypothesized that children with NF1 would show reduced SSVEP amplitude at all frequencies.

Secondly, we explored the associations between the SSVEP response and measures of intellectual and behavioural functioning. At the behavioural level, we looked more specifically at symptoms of ADHD, ASD and emotional problems. We hypothesized that lower SSVEP amplitude would be associated with increased symptomatology.

Thirdly, we investigated the impact of psychostimulant medication intake on the SSVEP response with the hypothesis that medication would increase SSVEP amplitude and thus normalize the EEG signal.

## **METHODS**

### **Participants**

Thirty-one children with NF1 were recruited in collaboration with the Neurofibromatosis clinic at CHU Sainte-Justine, all of which met the revised diagnostic criteria for NF1 from the International Consensus Group on Neurofibromatosis Diagnostic Criteria (60). Children with a history of neurosurgery or taking anticonvulsants were excluded. NF1 participants taking psychostimulant medication were recruited and offered to come back to the laboratory for a second EEG without medication (after a 24-hour washout), within one month following the first visit. Three participants did not perform this second EEG without medication and were thus excluded from the analyses. As a result, 28 children with NF1, ages 4 to 13 years old, were included in the EEG analyses.

Comorbidities and medication in the NF1 group are listed in Table 1. Amongst the 14 participants with the NF1-ADHD comorbidity, 8 were taking psychostimulant medication and were tested with and without medication, with a mean interval of 22 days (SD=6) between both EEG recordings. Three NF1 participants presented with optic pathway gliomas, identified by an ophthalmological evaluation. Non-parametric tests were performed to ensure that the EEG measures of these participants were not significantly different from the rest of the NF1 group and could be included in the analyses (see Additional File 1).

Table 1. Comorbidities and medication in the NF1 group

	<b>NF1 group</b>
<b>N</b>	28
<b>Comorbidities</b>	
History of seizures	1
Intellectual disability	2
Tourette’s syndrome	1
ASD	1
ADHD	14
<b>Medication</b>	
Methylphenidate	4
Lisdexamfetamine	3
Amphetamine	1
Dosage (mg) <i>Mean (SD)</i>	35 (12.09)
Time between the two EEG recordings (days) <i>Mean (SD)</i>	22 (6)

*Abbreviations: NF1, Neurofibromatosis type 1; ASD, Autism spectrum disorder; ADHD, Attention-deficit/hyperactivity disorder; mg, Milligram; EEG, Electroencephalography; SD, Standard deviation.*

Twenty-eight controls, also aged from 4 to 13 years old, were recruited through social media adds and posters in public libraries. Exclusion criteria included any neurological condition, psychological or developmental disorder and intake of medication.

Demographic, cognitive and behavioural characteristics of both groups are presented in Table 2. No significant differences were found between groups in terms of age and sex ratios, as well as in household income. As previously demonstrated (61), the NF1 group’s mean IQ scores was slightly below average and was significantly different from the control group’s mean IQ which was in the upper limit of the average range. Behavioural symptoms captured by parental questionnaires were significantly higher in the NF1 group for all selected scales and total scores. In the NF1 group, mean scores on the Conners 3 Inattention scale and Global Index fell above clinically significant cut-offs (above high average; T scores  $\geq 63$ ). As for the SRS-2 Total score and CBCL Total problems, NF1 participants’ mean scores fell in the high average range (T scores between 57 and 63).

Table 2. Demographic, cognitive and behavioural characteristics of the NF1 and control groups

	<b>NF1 group (N=28)</b>	<b>Control group (N=28)</b>	<b>Group comparison</b>	
	<i>Mean (SD or %)</i>	<i>Mean (SD or %)</i>	<i>T-Test or <math>X^2</math></i>	<i>p</i>
Age (years)	9.39 (2.41)	8.88 (2.41)	0.80	0.43
Sex (N females)	15 (53.57%)	13 (46.43%)	0.29	0.59
Household income (\$CAN)	85 608.70 (32 610.29)	124 652.17 (96 939.35)	-1.83	0.08
IQ	89.00 (10.96)	108.61 (13.32)	-6.02	0.0000002
Conners 3 Inattention Scale	68.23 (15.42)	53.52 (10.87)	3.89	0.0003
Conners 3 Global Index	65.31 (17.91)	53.43 (10.44)	2.83	0.007
SRS-2 Total Score	58.50 (11.80)	48.39 (7.12)	3.88	0.0003
CBCL Total Problems	57.32 (11.23)	47.30 (9.92)	3.50	0.001



*Abbreviations: NF1, Neurofibromatosis type 1; SD, Standard Deviation; IQ, Intellectual Quotient; Conners 3, Conners 3<sup>rd</sup> edition; SRS-2: Social Responsiveness Scale 2<sup>nd</sup> edition; CBCL, Child Behavior Checklist.*

*Note. IQ results are presented in standard scores. Results from the Conners 3, the SRS-2 and the CBCL questionnaires are presented in T-scores, with higher scores representing more symptoms.*

The study was approved by the hospital's research ethics board. All participants' parents provided written informed consent to participate and were free to withdraw at any point. Children also gave their verbal or written consent after receiving explanations of the study's purpose and procedures which were adapted to their level of understanding.

## **Experimental protocol**

### *Neuropsychological evaluation and parental questionnaires*

Participants' intellectual functioning was assessed during a neuropsychological evaluation conducted by a graduate student in Clinical Neuropsychology. The Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, Fourth Edition (WPPSI-IV) was administered for children between four and five years old and the Wechsler Intelligence Scale for Children, Fifth Edition (WISC-V) for those between six and 13 years old. The subtests were administered in the recommended order and breaks were scheduled during the session. NF1 participants taking psychostimulant medication did the neuropsychological evaluation with medication on their first visit.

Parents completed questionnaires prior to or during the testing in order to assess behavioural symptoms of ADHD, ASD and emotional problems. ADHD-related behaviours were assessed using the Conners 3rd Edition–Parent (Conners 3-P), ASD-related behaviours using the Social Responsiveness Scale, 2nd Edition (SRS-2) and emotional/behavioural problems using the Child Behavior Checklist (CBCL).

### *EEG acquisition*

EEG recordings were performed in a dark, electrically shielded and soundproof room at CHU Sainte-Justine, using 128 electrode nets (Electrical Geodesics System Inc., Eugene, OR, USA). Signals were acquired and stored in a G4 Macintosh computer using NetStation EEG Software (Version 4.5.4) and sampled at 1000 Hz. During recording, impedances were kept under 40 k $\Omega$  and Cz acted as the reference electrode. Visual stimuli were presented on a Tobii T120 Eye Tracking screen with 1024 x 1280-pixel resolution and a refresh rate at 60 Hz. The screen was located at 60 cm from the participants' eyes and subtended a visual angle of 31° in width and 25° in height. Children were instructed to remain calm, to limit movements, and to look at the screen throughout the task. An eye-tracking device (Tobii T120) was used to monitor the children's gaze during the experiment. A research assistant remained in the room with the participants and reminded them to look at the stimuli if the eye-tracking indicated that their gaze left the screen.

### *Visual task*

Visual stimuli consisted of 18 coloured icons (see Additional file 2) appearing and disappearing (onset/offset pattern) at the center of the screen at a frequency of 6 Hz, 10 Hz or 15 Hz. Coloured icons subtended a mean visual angle of 12.68° in height. Luminance has been normalized between the different icons and the mean luminance of the stimuli was 121.84 cd/m<sup>2</sup>. Stimuli were presented via E-Prime 2.0 (Psychology Software Tools Inc. Pittsburgh, PA, USA). Each 5 seconds trial displayed one icon at one frequency. Each block was composed of 6 trials (two at 6 Hz, two at 10 Hz, two at 15 Hz) presented in a pseudo-random order (see Figure 1). The task contained 9 blocks, with 5 seconds pause in between blocks showing a fixation cross, for a total duration of 5 minutes and 10 seconds. The visual stimuli were designed to be attractive and to enhance young children's attention during the task.

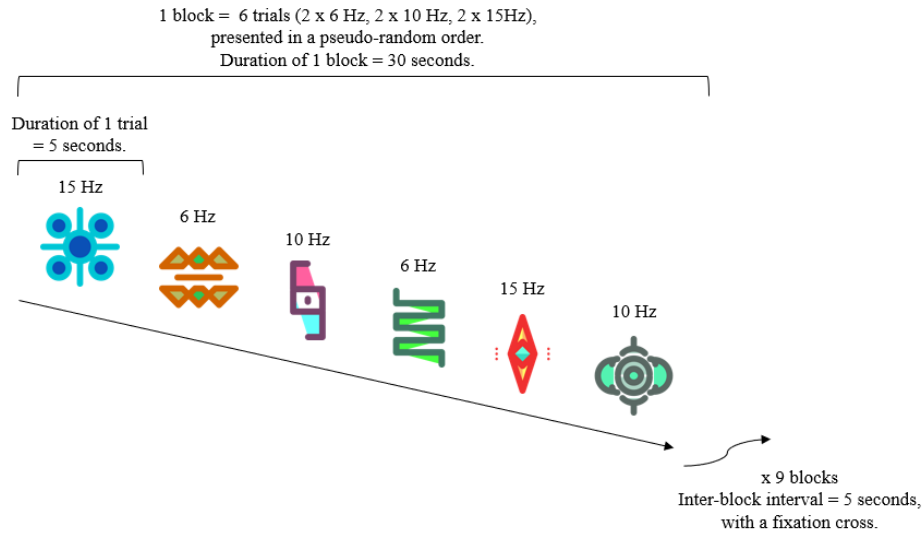


Figure 1. Design of the visual stimulation task.

## Analyses

### *Off-line EEG processing*

Off-line signal processing and analyses were carried out using MATLAB R2018b (Mathworks, Inc., Natick, MA) and the EEGLAB toolbox v14 (62). A 0.5-150 Hz bandpass filter and a notch at 60 Hz were applied. Twenty-eight electrodes located around the neck and containing muscular artifacts were removed. Remaining noisy electrodes were removed using a semi-automatic procedure. First, electrodes with a standard deviation lower than 2  $\mu\text{V}$  or higher than 200  $\mu\text{V}$  were automatically excluded. Secondly, a visual inspection was performed and electrodes with sporadic behaviour were manually removed. Data was re-referenced to an average reference. Eye movement artifacts (blinks and saccades) and cardiac artifacts were removed with a semi-automatic independent component analysis (ICA, runica algorithm), as implemented in the EEGLAB toolbox (62). Components were visually inspected and manually rejected if they showed prototypical patterns of blinks, saccades or cardiac activity. Data was then segmented into 5 seconds epochs (from the onset of the stimulation to 5 seconds post-onset) that were visually inspected and rejected if containing significant artifacts. All participants met the requirement of having a minimum of 6 remaining epochs (30 seconds) in each condition after artifact rejection. The average number of ICA components rejected, and the average number of artifact-free epochs kept in each stimulation frequency are shown in Tables 3 and 4. No

significant difference was found in these pre-processing indicators compared between the NF1 and control groups. Pre-processing indicators of NF1 participants who performed EEG recordings with and without medication could not be statistically compared given the small sample size but means and standard deviations are presented in Table 4.

Table 3. EEG pre-processing indicators and groups comparison between the NF1 and control groups

	<b>NF1 (N=28)</b>	<b>Controls (N=28)</b>	<b>Group comparison</b>	
	<i>Mean (SD)</i>	<i>Mean (SD)</i>	<i>T-test</i>	<i>p</i>
<b>ICA components rejected</b>	2.18 (1.19)	2.00 (0.86)	0.64	0.52
<b>Artifact-free epochs</b>				
<b>6 Hz</b>	13.68 (2.72)	12.89 (3.36)	0.96	0.34
<b>10 Hz</b>	13.43 (3.04)	12.89 (3.19)	0.64	0.52
<b>15 Hz</b>	13.29 (2.92)	12.75 (2.88)	0.69	0.49

*Abbreviations: NF1, Neurofibromatosis type 1; SD, Standard Deviation; ICA, Independent Component Analysis; Hz Hertz.*

Table 4. EEG pre-processing indicators in the subset of NF1 participants tested with and without medication

	<b>NF1 with medication (N=8)</b>	<b>NF1 without medication (N=8)</b>
	<i>Mean (SD)</i>	<i>Mean (SD)</i>
<b>ICA components rejected</b>	2.38 (0.52)	2.00 (0.54)
<b>Artifact-free epochs</b>		
<b>6 Hz</b>	12.25 (2.05)	11.38 (1.69)
<b>10 Hz</b>	11.63 (3.25)	10.63 (2.34)
<b>15 Hz</b>	12.25 (2.49)	10.88 (2.17)

*Abbreviations: NF1, Neurofibromatosis type 1; SD, Standard Deviation; ICA, Independent Component Analysis; Hz Hertz.*

### *SSVEP analysis*

Fast Fourier transforms (FFTs) were performed on each of the 5 second epochs and averaged for each stimulation frequency (6, 10 and 15 Hz). The resulting power spectrum had a frequency resolution of 0.5 Hz. SSVEP amplitude was compared between groups in terms of SNRs. To obtain SNRs, we calculated the ratio between the amplitude at the stimulation frequency and the mean amplitude of both adjacent frequencies in a 1 Hz range, and then applied a logarithmic transformation (36, 39, 40).

Our region of interest for SSVEP analysis consisted of seven electrodes in the Oz region (E70, E71, E74, E75, E76, E82, E83). Spectral amplitudes were calculated for each electrode and then averaged for statistical analyses. All participants had at least four remaining electrodes in the Oz region after pre-processing.

### *Behavioural measures*

Behavioural symptoms recorded from the three parental questionnaires (Conners 3, SRS-2 and CBCL) were compared between groups and correlations with SSVEP responses were performed. For the SRS-2 and CBCL questionnaires, analyses were carried out on Total scores. Specific scales from the questionnaires were not systematically investigated in order to limit the number of statistical tests and because their associations with SSVEP measures were not supported by specific hypotheses. Since the Conners 3 questionnaire does not include a Total score, analyses were carried out on the Global Index which includes 10 items and is known as a sensitive measure of response to treatment as well as a measure of general psychopathology (63). Given the known interaction between attentional processes and SSVEP amplitude (64), analyses were also performed on the Conners 3 Inattention scale.

### *Statistical analyses*

Statistical analyses were carried out using IBM SPSS, version 26 (IBM, Armonk, NY, USA). Normality of the distribution was verified using asymmetry and kurtosis values. Parametric tests were used since those values were all in acceptable ranges (i.e., asymmetry and kurtosis z-scores smaller than  $|1.96|$ ), except for the comparison of EEG measures between participants with optic

pathway gliomas and the rest of the NF1 group for which we used the non-parametric Mann-Whitney test (see Additional file 1). Homogeneity of variance was tested by Levene's test.

T-tests were performed to compare groups in terms of demographics, intellectual functioning and behavioural symptoms. Sex ratios were compared using the Chi-squared test. SNRs of the SSVEP response were compared between groups at the three stimulation frequencies using a mixed design ANCOVA, with group (NF1, control) as a between-subjects factor and frequency (6Hz, 10 Hz, 15 Hz) as a within-subjects factor. Knowing the effect of age on SSVEP amplitude (45), age was added in the analysis as a covariate. For the mixed ANCOVA, the assumption of homogeneity of regression slopes was verified and respected (i.e., no significant interaction between age and group). The assumption of sphericity was verified with Mauchly's sphericity test and respected since the test was non-significant. Significant effects from the mixed ANCOVA were investigated using follow-up ANCOVAs and post hoc comparisons with Bonferroni corrections for multiple testing. Pearson's correlations were performed to investigate whether SSVEP SNRs were associated with measures of intellectual functioning and behavioural symptoms. Given the large number of correlations performed and the exploratory nature of these analyses, false discovery rate (FDR) correction was applied to control for multiple comparisons in the correlational analyses (65). Paired t-tests were used to compare EEG measures in the conditions with and without medication. For this last analysis, we calculated the difference between the two conditions and verified the normality of the differences' distribution (66).

## **RESULTS**

### **SSVEP responses**

Averaged power spectra resulting from the FFTs are shown in Figure 2 for the NF1 and control groups at each visual stimulation frequency. Sharp peaks at the fundamental frequency (i.e., the stimulus frequency) and at its harmonics (i.e., multiples of the stimulus frequency) are evidenced in both groups. SSVEP responses were compared between groups with SNR measures, which take activity at the adjacent frequencies into account.

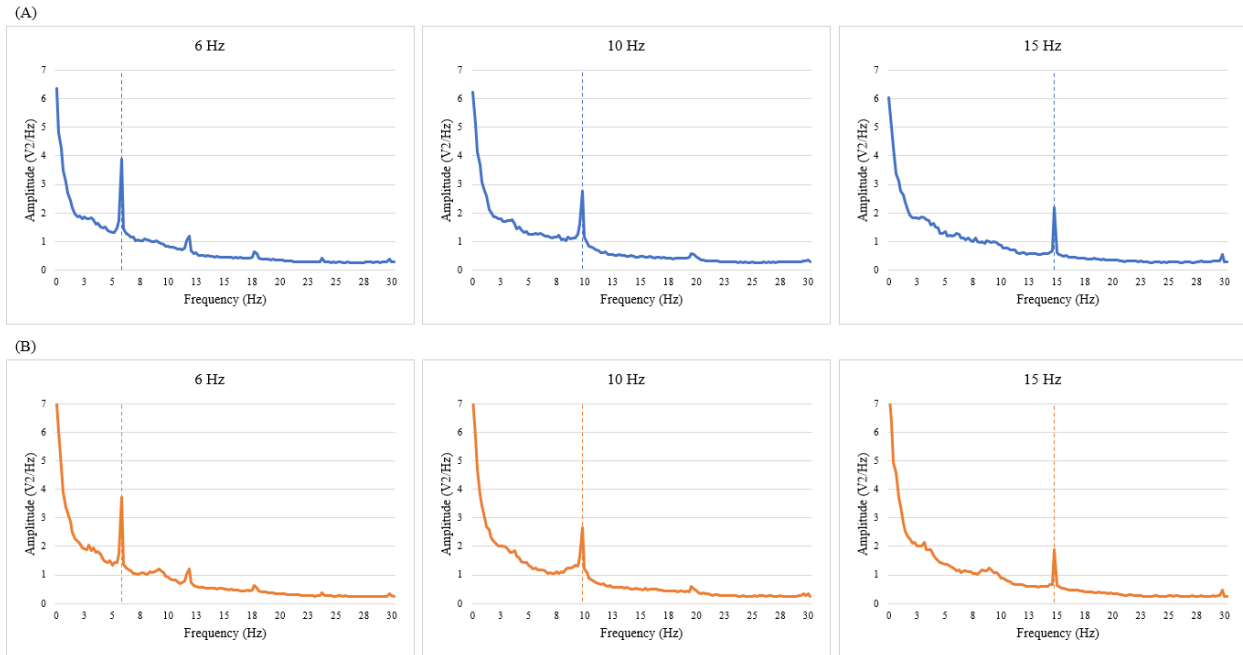


Figure 2. Averaged power spectrum resulting from the Fast Fourier Transforms in the control group (A) and NF1 group (B) for each stimulation frequency (6, 10 and 15 Hz). Dotted lines indicate the frequency of the visual stimulation at which the amplitude value was extracted.

The mixed design ANCOVA confirmed that the covariate age was significantly related to the SSVEP SNRs ( $F(1, 53) = 22.24, p = 0.000018$ ). After controlling for age, a main effect of group on SNR measures was found ( $F(2, 53) = 4.92, p = 0.031, \text{partial } \eta^2 = 0.085$ ), with higher SNR in controls (Figure 3). The partial  $\eta^2$  indicates a medium to large effect size.

No significant interaction was found between groups and stimulation frequencies ( $F(2, 106) = 1.90, p = 0.16, \text{partial } \eta^2 = 0.035$ ). Post-hoc ANCOVAs with Bonferroni adjustment were carried out to analyze the effect of group in each stimulation frequency individually. The covariate was significantly related to the SSVEP SNR in each stimulation frequency ( $p < 0.01$ ). A significant difference between groups was found in the 15 Hz stimulation only ( $F(2, 53) = 6.78, p = 0.012, \text{partial } \eta^2 = 0.11$ ), with lower SNR in the NF1 group.

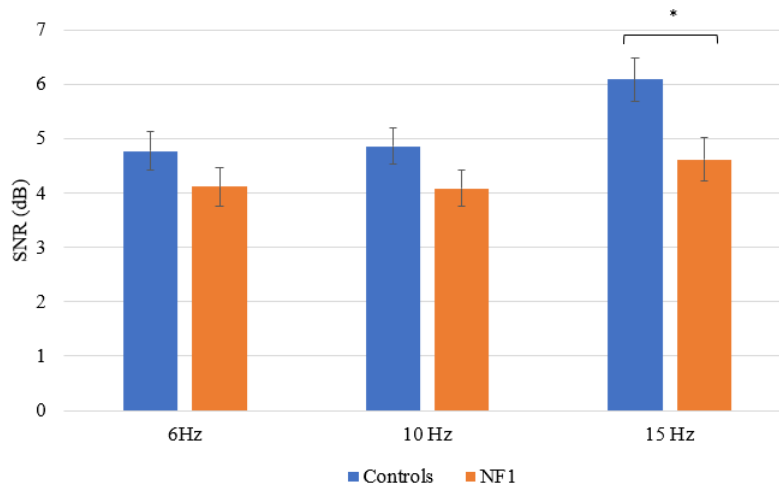


Figure 3. SSVEP SNR adjusted means (with standard errors as error bars) at each stimulation frequency by group. A main effect of group was found ( $p < 0.05$ ) with lower SNRs in the NF1 group. Post-hoc analyses in each stimulation frequency revealed a significant difference between groups for the 15 Hz stimulation.  $*p < 0.05$ .

Given the high prevalence of NF1-ADHD comorbidity in our sample, we investigated how the inclusion of NF1 patients with a comorbid ADHD diagnosis ( $N = 14$ ) could have affected our findings. To do so, we divided our cohort into three groups (controls, NF1 with ADHD, NF1 without ADHD) and performed our main analysis (mixed design ANCOVA). The main effect of group on SNR measures was still significant ( $F(2, 52) = 3.87, p = 0.027, \text{partial } \eta^2 = 0.130$ ) with a medium to large effect size. However, post hoc comparisons with Bonferroni adjustment revealed a significant difference solely between the control and NF1 with ADHD groups ( $p = 0.023$ ) with higher SSVEP SNRs in controls. The NF1 without ADHD group did not differ from controls ( $p > 0.05$ ), nor from NF1 participants with ADHD ( $p > 0.05$ ).

### Relationship with IQ and behavioural symptoms

Exploratory correlational analyses were performed to identify possible relationships between SSVEP responses and measures of intellectual functioning or behavioural symptoms (see Table 5).



Table 5. Pearson correlations between SSVEP responses and measures of intellectual functioning and behavioural symptoms

	NF1 group			Control group		
	SNR at 6Hz	SNR at 10 Hz	SNR at 15 Hz	SNR at 6Hz	SNR at 10 Hz	SNR at 15 Hz
<b>IQ</b>	0.02	0.07	0.05	0.06	0.02	0.07
<b>Conners 3 Inattention Scale</b>	-0.36	-0.49 <sup>a,*</sup>	-0.55 <sup>a,**</sup>	-0.20	-0.47*	-0.33
<b>Conners 3 Global Index</b>	-0.26	-0.46 *	-0.49 <sup>a,*</sup>	-0.03	-0.22	-0.06
<b>SRS-2 Total Score</b>	-0.12	-0.29	-0.32	0.22	-0.06	-0.02
<b>CBCL Total Problems</b>	-0.20	-0.32	-0.54 <sup>a,**</sup>	0.33	0.18	0.17

*Abbreviations: NF1, Neurofibromatosis type 1; SNR, signal-to-noise ratio; Hz, Hertz; Conners 3, Conners 3<sup>rd</sup> edition; SRS-2, Social Responsiveness Scale 2<sup>nd</sup> edition; CBCL, Child Behaviour Checklist; IQ, Intellectual Quotient.*

*<sup>a</sup> Significant after false discovery rate (FDR) corrections. \*  $p < 0.05$ . \*\*  $p < 0.01$ . \*\*\*  $p < 0.001$ .*

No significant correlation was found between SSVEP SNRs and IQ in both groups. As for associations with behavioural measures, no significant correlation (after FDR correction) was found in the control group. In the NF1 group, a negative correlation was found between SSVEP SNRs at 10 Hz and the Conners 3 Inattention scale ( $r = -0.49$ ,  $p = 0.011$ ) (Figure 4). Increased symptoms of inattention were therefore associated with reduced SNRs at 10 Hz. Similarly, SSVEP SNRs at 15 Hz were negatively correlated with the Conners 3 Inattention scale ( $r = -0.55$ ,  $p = 0.004$ ) (Figure 5), but also with the Conners 3 Global Index ( $r = -0.49$ ,  $p = 0.012$ ) (Figure 6). In addition, the SSVEP SNRs at 15 Hz had a negative relationship with the CBCL

Total problems ( $r = -0.54, p = 0.003$ ) (Figure 7). These correlations remained significant after FDR correction.

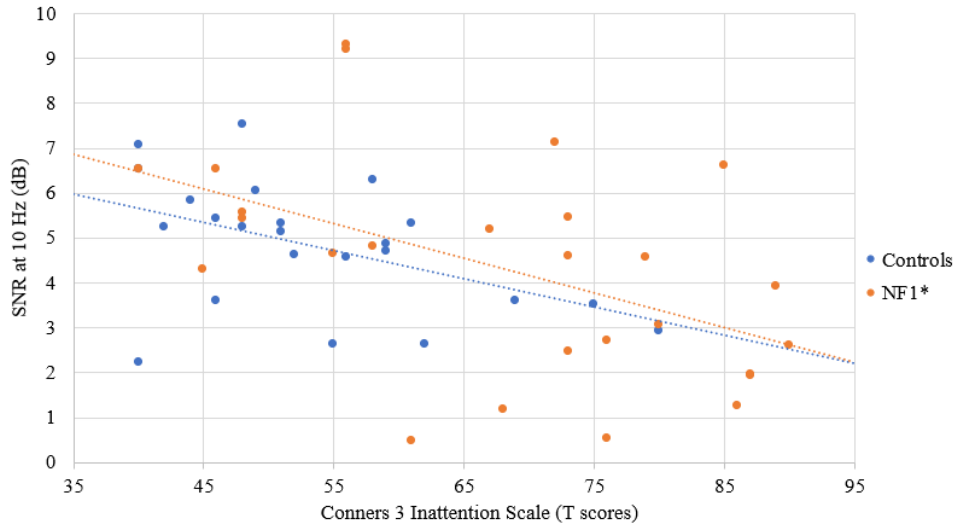


Figure 4. Relationship between the SSVEP SNR at 10 Hz and the Conners 3 Inattention scale .  
\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .

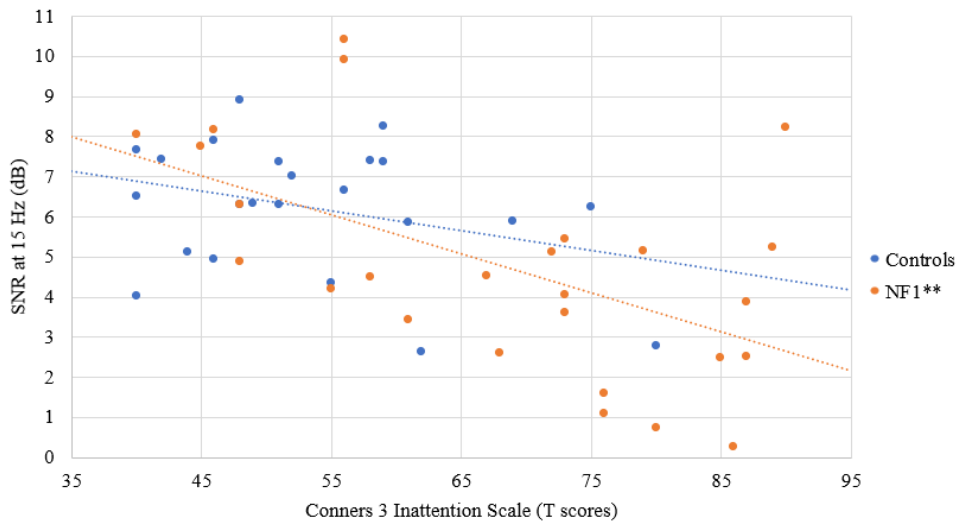


Figure 5. Relationship between the SSVEP SNR at 15 Hz and the Conners 3 Inattention scale. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .

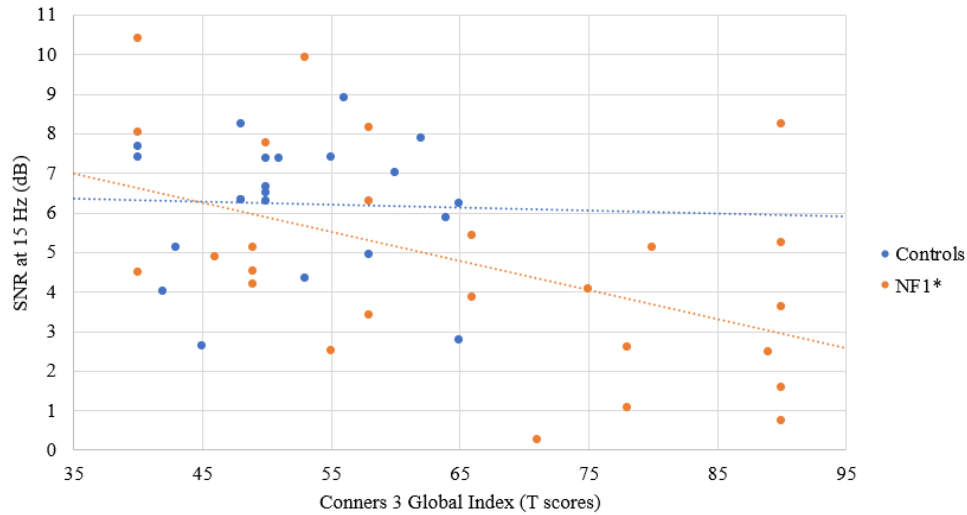


Figure 6. Relationship between the SSVEP SNR at 15 Hz and the Conners 3 Global Index.  $*p < 0.05$ ;  $**p < 0.01$ .

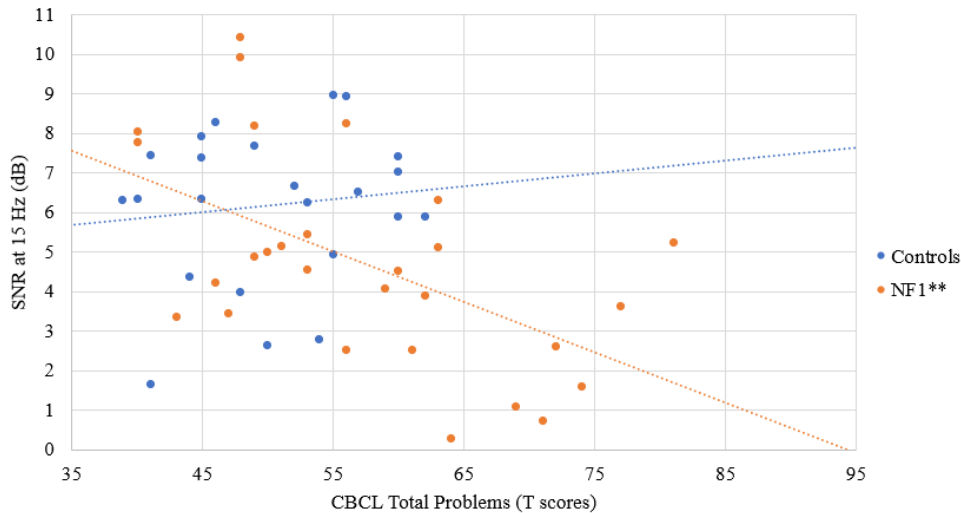


Figure 7. Relationship between the SSVEP SNR at 15 Hz and the CBCL Total problems scale in the NF1 group.  $*p < 0.05$ ;  $**p < 0.01$ .

### Impact of psychostimulant medication

Paired t-tests were used to compare SSVEP responses in children with NF1 that are taking psychostimulant medication and who did the EEG recording with and without medication (N=8). On average, children with NF1 showed higher SSVEP SNR at 6 Hz with psychostimulant medication (M=4.97, SE=0.41) than without medication (M=3.48, SE=0.57) ( $t(7) = 3.27, p =$

0.014,  $r = 0.78$ ). No significant impact of the psychostimulant medication intake was found for the 10 Hz ( $t(7) = -0.07$ ,  $p = 0.94$ ,  $r = 0.03$ ) and 15 Hz stimulations ( $t(7) = 1.68$ ,  $p = 0.14$ ,  $r = 0.54$ ) (Figure 8). The effect of medication on the SSVEP SNR at 6 Hz remains significant after Bonferroni adjustment for multiple comparisons which would set statistical significance at 0.017. However, this result should be interpreted with caution given the small sample size and the impossibility to control for age and number of epochs.

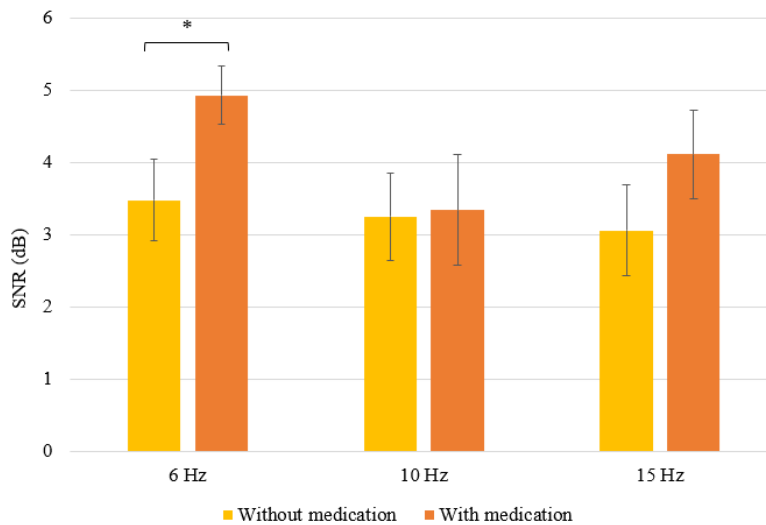


Figure 8. Mean SSVEP SNRs (with standard errors as error bars) in children with NF1 without and with psychostimulant medication (N=8) at each stimulation frequency.  $*p < 0.05$ .

Since the impact of psychostimulant medication was investigated with a limited number of participants, the data was also analyzed in a descriptive manner, as shown in Table 6. For the 6Hz and 15 Hz stimulations, SNRs systematically increased with the intake of medication, except for one participant who presented multiple diagnoses (i.e., intellectual disability, ADHD, and Tourette’s syndrome). At 10 Hz, the impact of psychostimulant medication was rather uncertain, with three participants showing decreased SNRs after the intake of medication.

Table 6. Individual SSVEP SNRs from the EEG recordings without (left column) and with (right column) medication in eight participants with NF1

Participants	SNR at 6 Hz (dB)		SNR at 10 Hz (dB)		SNR at 15 Hz (dB)	
	<i>Without medication</i>	<i>With medication</i>	<i>Without medication</i>	<i>With medication</i>	<i>Without medication</i>	<i>With medication</i>
<b>1</b>	2.94	4.65	3.07	1.38	0.72	2.01
<b>2</b>	4.88	3.73	3.92	1.62	5.23	3.69
<b>3</b>	4.61	6.52	2.70	1.14	1.58	2.23
<b>4</b>	5.08	6.37	4.80	4.93	4.50	4.93
<b>5</b>	4.52	6.02	1.18	1.53	2.60	3.27
<b>6</b>	0.36	3.93	0.52	2.92	1.08	6.02
<b>7</b>	2.72	4.06	4.66	5.76	4.20	4.38
<b>8</b>	2.71	4.47	5.19	6.41	4.53	6.95
<b>Mean</b>	3.48	4.97	3.25	3.21	3.05	4.18

*Abbreviations: SNR, Signal-to-Noise Ratio; Hz, Hertz; dB, Decibels.*

## DISCUSSION

The main objective of this study was to examine the SSVEP response in children with NF1 and neurotypical controls aged between 4 and 13 years old. We analyzed the SSVEP generated by coloured icons flickering at three different frequencies (6Hz, 10 Hz and 15 Hz). As exploratory objectives, we examined correlations with measures of intellectual functioning and behavioral symptoms, and investigated the impact of psychostimulant medication on the SSVEP response. Impairments in the generation of SSVEP could help elucidate neural mechanisms underlying visuoperceptual and attentional deficits in NF1 and eventually serve as a relevant marker of treatment efficacy (67).

Participants with NF1 showed clear peaks with maximal amplitude at the frequency of stimulation, but the SNRs of these peaks were decreased when compared to neurotypical controls. Moreover, our results show that the difference in SSVEP SNRs is increased in the subset of NF1 patients with comorbid ADHD. The SSVEP SNRs were not related to the level of intellectual functioning but were significantly correlated with behavioural symptoms captured by

parental questionnaires. As such, SNRs were predominantly correlated with inattention symptoms measured by the Conners 3, but also with emotional and behavioural problems measured by the CBCL. Finally, an increase in the SNR at 6 Hz was seen with the intake of psychostimulant medication in participants with NF1.

### **Reduced SSVEP responses in NF1**

The significant main effect of group indicating reduced SSVEP in children with NF1 when compared to neurotypical controls confirmed our hypothesis. However, while we expected children with NF1 to show reduced SSVEP amplitude at all frequencies, separating the analyses by stimulation frequency showed significantly reduced SSVEP only for the 15 Hz stimulation. Reduced SSVEP responses in the NF1 group could result from structural and molecular abnormalities that have been identified in brain regions that underlie visual perception. In a MRI study of 39 participants with NF1 and 60 non-affected individuals, Duarte, et al. (68) used a multivariate data-driven classification approach to identify the most relevant brain regions that allowed discrimination between groups. Among those regions were the visual cortex and thalamus which showed characteristic structural differences. Thalamic hypometabolism has also been evidenced in children with NF1 (69). While SSVEP originates in the primary visual cortex (40), the thalamus also plays an important role in visual processing by not only acting as a relay of visual information from the retina to the visual cortex, but also by influencing the spatial and temporal dynamics of the visual signal (70). Thus, our results which show altered occipital response to rhythmic visual stimulation are aligned with prior research in NF1, which indicated abnormal structure and function of brain regions that underlie visual processing. The reduced synchronization of occipital activity identified in our study could be associated with visuospatial processing deficits frequently reported in this population (71). To clarify this link, future studies should investigate whether reduced SSVEP response can predict lower performance in cognitive tasks of visuospatial abilities in children with NF1.

At the molecular level, reduced SSVEP responses in NF1 could also reflect improperly balanced excitation and inhibition resulting from deficient GABA levels. After having found reduced GABA levels in the visual cortex of children and adolescents with NF1 (72), Violante, et al. (73) showed that these deficits persist into adulthood, with lower concentration of GABA found in the

occipital cortex and frontal eye fields. In addition, decreased binding of GABA<sub>A</sub> receptors was found in the parieto-occipital cortex, midbrain, and thalamus of adults with NF1. GABA neuron-mediated inhibition plays an essential role in the synchronization of neural activity and generation of brain rhythms (74). Deficient GABAergic neurotransmission in NF1 could therefore be associated with the impaired synchronization of occipital activity found in this study, which can provide new insight into the emergence of visuo-perceptual deficits in this population (71).

To further examine the reduced SSVEP response found in the NF1 group, we investigated how the inclusion of NF1 participants with an ADHD comorbidity could affect our findings. Half of the children part of the NF1 group has previously received a medical or neuropsychological diagnosis of ADHD. This proportion is in line with the prevalence generally reported in the literature, with rates ranging from 38 to 67% of children with NF1 meeting diagnostic criteria for ADHD (19, 20). Our results showed that, when considering the ADHD comorbidity in NF1 participants, group differences in SSVEP responses are only found between the NF1 with ADHD subgroup and controls. This finding is consistent with the negative correlations found between the SSVEP amplitude and ADHD-related symptoms in the whole NF1 group.

A very limited number of studies have examined the steady-state response in children with ADHD. Khaleghi, et al. (52) investigated the auditory and visual steady-state response in adolescents with ADHD when performing a motor response inhibition task. In the visual modality, adolescents with ADHD showed higher SSVEP amplitudes at the prefrontal and frontal regions, but lower amplitudes at the temporal and occipital regions when compared to neurotypical controls. One way of interpreting their results was to suggest an abnormal connectivity between the anterior and posterior regions of the brain that could demonstrate deficits in the functional networks of frontoparietal and dorsal attention. While our experimental protocol did not require children to perform a specific task during the visual stimulation, our results are consistent with their findings with regards to the occipital region.

The ADHD comorbidity in children with NF1 has been shown to have an adverse influence on the cognitive profile (18) and adaptive functioning (75). Further investigations are necessary to determine whether the greater difference on our electrophysiological measures is strictly attributable to the presence of an ADHD comorbidity in our NF1 participants or whether it is a

consequence of more severe neurological deficits resulting from the NF1 mutation. However, given the high prevalence of ADHD in children with NF1, it is certainly relevant to include participants presenting this comorbidity in our analyses.

### **Relationship with IQ and behavioural symptoms**

The NF1 group's mean level of intellectual functioning was slightly below average and significantly lower compared to the control group. This result is congruent with the numerous studies showing a small downward shift in mean IQ scores, which are mostly found around the low average to average ranges (25). It is however unlikely that these different levels of intellectual functioning can explain the discrepancy evidenced in our electrophysiological measures. Indeed, our correlational analysis revealed no association between SSVEP SNRs and IQ in our sample. A comparable result was found in another EEG study investigating visual processing in NF1 that showed no correlation between IQ scores and electrophysiological measures which, in their case, were the amplitude of the visually evoked potentials and the amplitude of alpha oscillations (76).

Interestingly, our SSVEP measures were significantly related with behavioural symptoms measured through parental questionnaires in children with NF1. In the control group, no correlation remained significant after correction for multiple comparisons. These findings mainly confirmed our hypothesis stating that lower SSVEP amplitude would be associated with increased symptomatology. In NF1 participants, smaller SSVEP responses at 10 Hz and 15 Hz were correlated with higher inattention symptoms as measured by the Conners 3. Smaller SSVEP responses at 15 Hz were also correlated with higher scores on the Conners 3 global scale of ADHD-related symptoms (e.g., distractibility, agitation, impulsivity, emotional lability, etc.). Endogenous attention is known to modulate SSVEP amplitude and phase coherence. In experimental protocols where two stimuli flickering at different frequencies are presented simultaneously, the shift of attention towards one stimulus was shown to enhance the power of the SSVEP generated by the attended stimulus (64, 77-79). In our study, different stimulation frequencies were presented sequentially, rather than simultaneously, which did not require participants to voluntarily shift their attention during the task. However, the optimal processing of the different colored icons presented at varying frequencies requires effective adaptation of



the neural population's activity and synchronization, which appears to be more affected in children who show increased attentional problems in daily life.

In children with NF1, the SSVEP response resulting from the 15 Hz stimulation was also negatively related with symptoms of emotional/behavioural problems measured by the CBCL questionnaire and this correlation survived correction for multiple comparisons. The CBCL Total problems scale combines symptoms of internalizing and externalizing problems, as well as symptoms of attention, social and thought problems. In a study investigating emotional and behavioural problems in a large sample of children and adolescents with NF1 (N = 183), a mean score of 58.3 ( $\pm$  10.3) on the CBCL Total problems was reported, which is in line with our results indicating a mean score of 57.3 ( $\pm$  11.2) (80). Interestingly, in another study using the same questionnaire, these emotional/behavioural problems were found to be significantly increased in children presenting with the NF1-ADHD comorbidity when compared to NF1 children without ADHD (81). Our results thus suggest that the neural response to the 15 Hz stimulation covaries with a wide range of emotional/behavioral difficulties in children with NF1, which in turn might be related to the severity of ADHD symptomatology.

Finally, no correlation was found between the EEG measures and ASD-related symptoms in our sample. The severity of the ASD symptomatology in our NF1 group is consistent with most of the previous findings in the literature. In a population-based study of over 100 children with NF1 aged from four to 16 years, the mean total score reported on the SRS was between the high average and superior to average ranges (T score around 63) (82), while a mean score in the high average range (T score = 58.5) was found in our study. Given the sensory processing abnormalities and GABAergic dysfunction also evidenced in ASD, the integrity of the steady-state response has been studied in this population. Two studies have reported reduced SSVEP amplitudes in the occipital region of children with ASD, one regarding the SSVEP first harmonic (83) and the other, at the second harmonic (53). However, further investigation is needed to determine whether these markers of sensory processing alterations vary with the severity of ASD symptoms in NF1.

## **Impact of psychostimulant medication**

Studies have identified neurochemical alterations underlying the attentional system dysfunction in mouse models of NF1. Genetically engineered mouse models with a heterozygous knockout mutation of the neurofibromatosis gene (Nf1<sup>+/-</sup>) have shown reduced expression of the Nf1 gene and have been developed to study various aspects of the NF1 phenotype (84). In specific types of Nf1 <sup>+/-</sup> mice, decreased exploratory and attentional behaviours were found to be a consequence of reduced striatal dopamine, and both the neurochemical and behavioural deficits were reversed by treatment with methylphenidate (8, 85). In children with NF1, treatment with methylphenidate was shown to improve performance on a computerised attention task (81) and to reduce parent-reported ADHD symptoms (23). However, the impact of psychostimulant medication on markers of brain activity and sensory processing remains unknown in NF1. In our study, we explored how the psychostimulant medication, taken by a subset of the NF1 group (N=8), would affect the steady-state response.

Our results showed a significant increase in the SSVEP response generated by the 6 Hz stimulation with the intake of psychostimulant medication. This finding partially confirmed our hypothesis stating that the intake of psychostimulant would normalize the EEG signal since an improvement in SSVEP amplitude was found at the lowest stimulation frequency, but not at the higher frequencies, which seems to be more significantly impaired in the NF1 group. The absence of significant impact on the SNRs of the 10 Hz and 15 Hz SSVEPs could indicate that synchronization of neural activity at higher frequencies is more severely affected by the imbalances in neurotransmission found in NF1 and thus, less easily restored with psychostimulant medication. Interestingly, the 6 Hz SSVEP was also the only experimental condition where no correlation was found with any of the behavioural symptoms, which supports the idea that the neural responses to higher frequency stimulation are more closely related to the severity of the phenotype. It is also possible that the neural response to the 6 Hz stimulation is more sensitive to top-down attentional modulation and thus, more reactive to the intake of psychostimulant medication that strengthens the connectivity of the attentional networks (54). Although further experiments are needed to replicate our findings regarding the impact of psychostimulant medication, our results suggest that the SSVEP response could potentially serve as a relevant marker for therapeutic interventions in NF1. Future studies could determine if the

increased SSVEP response is associated with cognitive and behavioral improvements following treatment with psychostimulant medication.

### **Limitations and perspectives**

Limitations of this study include the relatively small sample size, especially for the investigation of the stimulant medication's impact on the EEG measures. More participants would be needed to increase the power of our analysis and robustly confirm the absence of effect from medication intake at higher frequencies. More participants would also be needed to determine if different types of medication (e.g., lisdexamfetamine vs methylphenidate) induce dissociable effects on the EEG measures. Furthermore, the absence of a group of non-NF1 participants with ADHD limits our ability to disentangle the implication of the NF1 and ADHD diagnoses in the altered SSVEP response evidenced in this study. Therefore, adding a group of participants with a diagnosis of ADHD only would be relevant to determine if their electrophysiological profile is dissociable from that of children with the NF1-ADHD comorbidity, and if the associations found between SSVEP responses and inattention symptoms are specific to the NF1 diagnosis. Also, our control group's mean IQ score was found in the upper limit of the average range and was significantly higher than the NF1 group's mean IQ. Considering that no correlation was found between SSVEP responses and IQ, it is unlikely that this discrepancy in intellectual functioning could explain our group differences in terms of EEG signal. However, to confirm that the altered processing of rhythmic visual stimuli is characteristic of NF1 (or of the NF1-ADHD comorbidity) regardless of IQ, it may be interesting to compare NF1 and controls' SSVEP responses with IQ matched samples. Another limit of the study is the absence of neuropsychological tests assessing the participants' visual attention abilities. We have shown that children's neural response was related to the severity of inattention symptoms exhibited in daily life, but it would be relevant to see if it also covaries with their performance on cognitive tests of attentional skills. Moreover, it would be interesting to see how the modulation of attention during the visual stimulation, with a Posner cueing paradigm for example, affects the steady-state response in children with NF1. A passive task with attractive visual stimuli, as we used in our study, is however well suited for young children and allowed us to obtain quality recordings with our participants as young as four years old. It bears repeating that no significant difference was found between groups in terms of pre-processing indicators (number of ICA components and

epochs rejected). Therefore, group differences in SSVEP responses can not be explained by reduced quality of the EEG recordings in one group or the other.

## **CONCLUSIONS**

In conclusion, visual processing abnormalities were identified in children with NF1 using SSVEP measures. The reduced SSVEP responses found in NF1 suggest decreased synchronization in the activity of neuronal populations in the visual cortex, which could be a consequence of neurochemical dysfunction, notably in the GABAergic system, and structural abnormalities in the visual cortex and thalamus. Our EEG measures seemed to be correlated with ADHD-related symptoms as well as with emotional/behavioural problems exhibited by children with NF1 in daily life. Moreover, the intake of psychostimulant medication in a subset of the NF1 group improved the SSVEP response resulting from the visual stimulation at the lowest frequency (i.e., 6 Hz). Taken together, these findings indicate that SSVEP measures can potentially be sensitive EEG biomarkers and be used in translational studies or clinical trials aimed at restoring alterations in brain activity resulting from pathogenic variants in the NF1 gene.

### **List of abbreviations**

NF1: Neurofibromatosis type 1

Nf1 +/-: Heterozygous knockout mutation of the neurofibromatosis gene (Nf1 +/-)

ADHD: Attention deficit hyperactivity disorder

ASD: Autism spectrum disorder

EEG: Electroencephalography

fMRI: Functional magnetic resonance imaging

MEG: Magnetoencephalography

PET: Positron emission tomography

GABA: Gamma-aminobutyric acid

SSVEP: Steady-state visual evoked potential

SNR : Signal-to-noise ratio

Hz: Hertz

FFT: Fast Fourier Transform

Conners 3-P: Conners 3<sup>rd</sup> Edition–Parent

SRS-2: Social responsiveness scale, 2<sup>nd</sup> edition

CBCL: Child behavior checklist

IQ: Intellectual quotient

FDR: False discovery rate

## **DECLARATIONS**

### **Ethics approval and consent to participate**

The research protocol was approved by the CHU Sainte-Justine Research Ethics Board. Procedures were explained to participants and their parents or guardians, and all provided written informed consent.

### **Consent for publication**

Not applicable.

### **Availability of data and materials**

NF1 participants' EEG data is available in the Additional file 1. Other data used and analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

## **Funding**

The research was supported by grants from the Fondation du Grand défi Pierre Lavoie and from the Association de la Neurofibromatose du Québec. EL was supported by the CHU Sainte-Justine Foundation and by the Fonds de recherche du Québec – Santé (FRQS).

## **Authors' contributions**

EL participated in the study design, coordinated the study, recruited the participants, carried out data collection and analysis, interpreted the data and drafted the manuscript. ARCP participated in the coordination of the study, recruitment of participants and data collection. KA helped implement the visual task, designed the EEG analysis tools, generated the EEG power spectra, and helped interpret the data. ISK participated in the study design and helped implement the visual task. EJ and LM conceived the visual task, reviewed the manuscript and contributed to the interpretation of the results. SP allowed the recruitment of patients from the Neurofibromatosis clinic at CHU Sainte-Justine and helped, as an expert on NF1, in understanding the clinical manifestations and other medical conditions of our NF1 participants. SL conceptualised and designed the study, helped interpret the data and draft the manuscript, and obtained fundings for the research. All authors have revised the manuscript and approved the final version.

## **Acknowledgements**

We would like to give a special thanks to all of our participants and their families. We also thank Marguerite Nolin for her assistance in the recruitment of participants and during EEG acquisitions, as well as all team members at the Neurosciences of Early Development Laboratory. Finally, we thank the team at the Neurofibromatosis clinic at CHU Sainte-Justine for their collaboration in the recruitment of participants. We also want to acknowledge the financial support of our funding sources cited in the Funding section.

## **REFERENCES**

1. Evans D, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson S, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: Estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A*. 2010;152(2):327-32.
2. Williams VC, Lucas J, Babcock MA, Gutmann DH, Korf B, Maria BL. Neurofibromatosis type 1 revisited. *Pediatrics*. 2009;123(1):124-33.

3. Daston MM, Scrable H, Nordlund M, Sturbaum AK, Nissen LM, Ratner N. The protein product of the neurofibromatosis type 1 gene is expressed at highest abundance in neurons, Schwann cells, and oligodendrocytes. *Neuron*. 1992;8(3):415-28.
4. Martin GA, Viskochil D, Bollag G, McCabe PC, Crosier WJ, Haubruck H, et al. The GAP-related domain of the neurofibromatosis type 1 gene product interacts with ras p21. *Cell*. 1990;63(4):843-9.
5. Lehtonen A, Howie E, Trump D, Huson SM. Behaviour in children with neurofibromatosis type 1: cognition, executive function, attention, emotion, and social competence. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55(2):111-25.
6. Costa RM, Federov NB, Kogan JH, Murphy GG, Stern J, Ohno M, et al. Mechanism for the learning deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Nature*. 2002;415(6871):526-30.
7. Cui Y, Costa RM, Murphy GG, Elgersma Y, Zhu Y, Gutmann DH, et al. Neurofibromin regulation of ERK signaling modulates GABA release and learning. *Cell*. 2008;135(3):549-60.
8. Brown JA, Emmett RJ, White CR, Yuede CM, Conyers SB, O'Malley KL, et al. Reduced striatal dopamine underlies the attention system dysfunction in neurofibromatosis-1 mutant mice. *Hum Mol Genet*. 2010;19(22):4515-28.
9. Kaczorowski JA, Smith TF, Shrewsbury AM, Thomas LR, Knopik VS, Acosta MT. Neurofibromatosis type 1 implicates Ras pathways in the genetic architecture of neurodevelopmental disorders. *Behav Genet*. 2020;50(4):191-202.
10. Hyman SL, Arthur E, North KN. Learning disabilities in children with neurofibromatosis type 1: subtypes, cognitive profile, and attention-deficit-hyperactivity disorder. *Dev Med Child Neurol*. 2006;48(12):973-7.
11. Krab LC, Aarsen FK, de Goede-Bolder A, Catsman-Berrevoets CE, Arts WF, Moll HA, et al. Impact of neurofibromatosis type 1 on school performance. *J Child Neurol*. 2008;23(9):1002-10.
12. Graf A, Landolt MA, Mori AC, Boltshauser E. Quality of life and psychological adjustment in children and adolescents with neurofibromatosis type 1. *J Pediatr*. 2006;149(3):348-53.
13. Barton B, North K. Social skills of children with neurofibromatosis type 1. *Dev Med Child Neurol*. 2004;46(8):553-63.

14. Domon-Archambault V, Gagnon L, Benoît A, Perreault S. Psychosocial features of neurofibromatosis type 1 in children and adolescents. *J Child Neurol*. 2018;33(3):225-32.
15. Garg S, Green J, Leadbitter K, Emsley R, Lehtonen A, Evans DG, et al. Neurofibromatosis type 1 and autism spectrum disorder. *Pediatrics*. 2013;132(6):e1642-e8.
16. Plasschaert E, Descheemaeker MJ, Van Eylen L, Noens I, Steyaert J, Legius E. Prevalence of autism spectrum disorder symptoms in children with neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2015;168(1):72-80.
17. Morris SM, Acosta MT, Garg S, Green J, Huson S, Legius E, et al. Disease burden and symptom structure of autism in neurofibromatosis type 1: a study of the International NF1-ASD Consortium Team (INFACT). *JAMA psychiatry*. 2016;73(12):1276-84.
18. Lidzba K, Granstroem S, Lindenau J, Mautner VF. The adverse influence of attention-deficit disorder with or without hyperactivity on cognition in neurofibromatosis type 1. *Dev Med Child Neurol*. 2012;54(10):892-7.
19. Hyman SL, Shores A, North KN. The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. *Neurology*. 2005;65(7):1037-44.
20. Smith TF, Kaczorowski JA, Acosta MT. An executive functioning perspective in neurofibromatosis type 1: from ADHD and autism spectrum disorder to research domains. *Childs Nerv Syst*. 2020;36(10):2321-32.
21. Pride NA, Payne JM, North KN. The impact of ADHD on the cognitive and academic functioning of children with NF1. *Dev Neuropsychol*. 2012;37(7):590-600.
22. Engert V, Pruessner JC. Dopaminergic and noradrenergic contributions to functionality in ADHD: the role of methylphenidate. *Curr Neuropharmacol*. 2008;6(4):322-8.
23. Lion-François L, Gueyffier F, Mercier C, Gérard D, Herbillon V, Kemlin I, et al. The effect of methylphenidate on neurofibromatosis type 1: a randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9(1):142.
24. Pride NA, Barton B, Hutchins P, Coghill DR, Korgaonkar MS, Hearps SJ, et al. Effects of methylphenidate on cognition and behaviour in children with neurofibromatosis type 1: a study protocol for a randomised placebo-controlled crossover trial. *BMJ open*. 2018;8(8):e021800.
25. Levine TM, Materek A, Abel J, O'Donnell M, Cutting LE, editors. *Cognitive profile of neurofibromatosis type 1*. Semin Pediatr Neurol; 2006: Elsevier.



26. Benton AL, Varney N, Hamsher Kd. Judgment of line orientation. 1983.
27. Bulgheroni S, Taddei M, Saletti V, Esposito S, Micheli R, Riva D. Visuoperceptual impairment in children with NF1: from early visual processing to procedural strategies. *Behav Neurol*. 2019;2019.
28. Lehtonen A, Garg S, Roberts SA, Trump D, Evans DG, Green J, et al. Cognition in children with neurofibromatosis type 1: data from a population-based study. *Dev Med Child Neurol*. 2015;57(7):645-51.
29. Payne JM, Barton B, Shores EA, North KN. Paired associate learning in children with neurofibromatosis type 1: implications for clinical trials. *J Neurol*. 2013;260(1):214-20.
30. Michael GA, Garcia S, Herbillon V, Lion-François L. Reactivity to visual signals in neurofibromatosis type 1: is everything ok? *Neuropsychology*. 2014;28(3):423.
31. Debrabant J, Plasschaert E, Caeyenberghs K, Vingerhoets G, Legius E, Janssens S, et al. Deficient motor timing in children with neurofibromatosis type 1. *Res Dev Disabil*. 2014;35(11):3131-8.
32. Rietman AB, Oostenbrink R, Bongers S, Gaukema E, van Abeelen S, Hendriksen JG, et al. Motor problems in children with neurofibromatosis type 1. *J Neurodev Disord*. 2017;9(1):19.
33. Clements-Stephens AM, Rimrodt SL, Gaur P, Cutting LE. Visuospatial processing in children with neurofibromatosis type 1. *Neuropsychologia*. 2008;46(2):690-7.
34. Violante IsR, Ribeiro MJ, Cunha G, Bernardino Is, Duarte JV, Ramos F, et al. Abnormal brain activation in neurofibromatosis type 1: a link between visual processing and the default mode network. *PLoS One*. 2012;7(6):e38785.
35. Ribeiro MJ, d'Almeida OC, Ramos F, Saraiva J, Silva ED, Castelo-Branco M. Abnormal late visual responses and alpha oscillations in neurofibromatosis type 1: a link to visual and attention deficits. *J Neurodev Disord*. 2014;6(1):4.
36. Norcia AM, Appelbaum LG, Ales JM, Cottareau BR, Rossion B. The steady-state visual evoked potential in vision research: A review. *J Vis*. 2015;15(6):4.
37. Lazarev V, Simpson D, Schubsky BM, deAzevedo L. Photic driving in the electroencephalogram of children and adolescents: Harmonic structure and relation to the resting state. *Braz J Med Biol Res*. 2001;34:1573-84.
38. Meigen T, Bach M. On the statistical significance of electrophysiological steady-state responses. *Doc Ophthalmol*. 1999;98(3):207-32.

39. Kabdebon C, Flo A, De Heering A, Aslin R. The power of rhythms: how steady-state evoked responses reveal early neurocognitive development. *NeuroImage*. 2022;254:119150.
40. Vialatte F-B, Maurice M, Dauwels J, Cichocki A. Steady-state visually evoked potentials: Focus on essential paradigms and future perspectives. *Prog Neurobiol*. 2010;90(4):418-38.
41. Lithari C, Sanchez-Garcia C, Ruhnau P, Weisz N. Large-scale network-level processes during entrainment. *Brain Res*. 2016;1635:143-52.
42. Obleser J, Kayser C. Neural entrainment and attentional selection in the listening brain. *Trends in cognitive sciences*. 2019;23(11):913-26.
43. Birca A, Carmant L, Lortie A, Lassonde M. Interaction between the flash evoked SSVEPs and the spontaneous EEG activity in children and adults. *Clin Neurophysiol*. 2006;117(2):279-88.
44. Moratti S, Clementz BA, Gao Y, Ortiz T, Keil A. Neural mechanisms of evoked oscillations: stability and interaction with transient events. *Hum Brain Mapp*. 2007;28(12):1318-33.
45. Birca A, Carmant L, Lortie A, Vannasing P, Sauerwein H, Robert M, et al. Maturation changes of 5 Hz SSVEPs elicited by intermittent photic stimulation. *Int J Psychophysiol*. 2010;78(3):295-8.
46. Barton B. The developmental trajectory of cognitive functioning in children with neurofibromatosis type 1 and plexiform neurofibromas. *Dev Med Child Neurol*. 2020;62(8):892.
47. Gutmann DH. Review Article : Neurofibromin in the Brain. *J Child Neurol*. 2002;17(8):592-601.
48. Rassi SZ, Ospina LH, Bochereau A, Samson Y, Perreault S, Saint-Amour D. Central and peripheral steady-state visual evoked potentials in children with optic pathway gliomas. *Doc Ophthalmol*. 2019;139(2):137-49.
49. Krishnan GP, Vohs JL, Hetrick WP, Carroll CA, Shekhar A, Bockbrader MA, et al. Steady state visual evoked potential abnormalities in schizophrenia. *Clin Neurophysiol*. 2005;116(3):614-24.
50. Silberstein RB, Line P, Pipingas A, Copolov D, Harris P. Steady-state visually evoked potential topography during the continuous performance task in normal controls and schizophrenia. *Clin Neurophysiol*. 2000;111(5):850-7.

51. Kemp AH, Gray MA, Silberstein RB, Armstrong SM, Nathan PJ. Augmentation of serotonin enhances pleasant and suppresses unpleasant cortical electrophysiological responses to visual emotional stimuli in humans. *Neuroimage*. 2004;22(3):1084-96.
52. Khaleghi A, Zarafshan H, Mohammadi MR. Visual and auditory steady-state responses in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2019;269(6):645-55.
53. Pei F, Baldassi S, Norcia AM. Electrophysiological measures of low-level vision reveal spatial processing deficits and hemispheric asymmetry in autism spectrum disorder. *J Vis*. 2014;14(11):3-.
54. Mueller S, Costa A, Keeser D, Pogarell O, Berman A, Coates U, et al. The effects of methylphenidate on whole brain intrinsic functional connectivity. *Hum Brain Mapp*. 2014;35(11):5379-88.
55. Dockree PM, Barnes JJ, Matthews N, Dean AJ, Abe R, Nandam LS, et al. The effects of methylphenidate on the neural signatures of sustained attention. *Biol Psychiatry*. 2017;82(9):687-94.
56. Loo SK, Hopfer C, Teale PD, Reite ML. EEG Correlates of Methylphenidate Response in ADHD: Association With Cognitive and Behavioral Measures. *J Clin Neurophysiol*. 2004;21(6):457-64.
57. Isiten HN, Cebi M, Sutcubasi Kaya B, Metin B, Tarhan N. Medication effects on EEG biomarkers in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin EEG Neurosci*. 2017;48(4):246-50.
58. Rubinson M, Horowitz I, Naim-Feil J, Gothelf D, Levit-Binnun N, Moses E. Effects of methylphenidate on the ERP amplitude in youth with ADHD: A double-blind placebo-controlled cross-over EEG study. *PLoS One*. 2019;14(5):e0217383.
59. Arnett AB, Rutter TM, Stein MA. Neural Markers of Methylphenidate Response in Children With Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Front Behav Neurosci*. 2022;16:887622.
60. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, Pancza P, Avery RA, Berman Y, et al. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genet Med*. 2021.
61. Torres Nupan MM, Velez Van Meerbeke A, López Cabra CA, Herrera Gomez PM. Cognitive and behavioral disorders in children with neurofibromatosis type 1. *Front Pediatr*. 2017;5:227.

62. Delorme A, Makeig S. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J Neurosci Methods*. 2004;134(1):9-21.
63. Conners CK. *Conners third edition (Conners 3)*. Los Angeles, CA: Western Psychological Services. 2008.
64. Gulbinaite R, Roozendaal DH, VanRullen R. Attention differentially modulates the amplitude of resonance frequencies in the visual cortex. *Neuroimage*. 2019;203:116146.
65. Benjamini Y, Drai D, Elmer G, Kafkafi N, Golani I. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. *Behav Brain Res*. 2001;125(1-2):279-84.
66. Field A. *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*: sage; 2013.
67. Calderone DJ, Lakatos P, Butler PD, Castellanos FX. Entrainment of neural oscillations as a modifiable substrate of attention. *Trends Cogn Sci*. 2014;18(6):300-9.
68. Duarte JV, Ribeiro MJ, Violante IR, Cunha G, Silva E, Castelo-Branco M. Multivariate pattern analysis reveals subtle brain anomalies relevant to the cognitive phenotype in neurofibromatosis type 1. *Hum Brain Mapp*. 2014;35(1):89-106.
69. Payne JM, Moharir MD, Webster R, North KN. Brain structure and function in neurofibromatosis type 1: current concepts and future directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81(3):304-9.
70. Usrey WM, Alitto HJ. Visual functions of the thalamus. *Annu Rev Vis Sci*. 2015;1:351-71.
71. Baudou E, Nemmi F, Biotteau M, Maziero S, Peran P, Chaix Y. Can the cognitive phenotype in Neurofibromatosis type 1 (NF1) be explained by neuroimaging? A review. *Front Neurol*. 2020;10:1373.
72. Violante IsR, Ribeiro MJ, Edden RA, Guimarães P, Bernardino I, Rebola J, et al. GABA deficit in the visual cortex of patients with neurofibromatosis type 1: genotype–phenotype correlations and functional impact. *Brain*. 2013;136(3):918-25.
73. Violante IR, Patricio M, Bernardino I, Rebola J, Abrunhosa AJ, Ferreira N, et al. GABA deficiency in NF1: a multimodal [11C]-flumazenil and spectroscopy study. *Neurology*. 2016;87(9):897-904.
74. Gonzalez-Burgos G, Lewis DA. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2008;34(5):944-61.

75. Payne JM, Haebich KM, MacKenzie R, Walsh KS, Hearps SJ, Coghill D, et al. Cognition, ADHD symptoms, and functional impairment in children and adolescents with neurofibromatosis type 1. *J Atten Disord*. 2019;1087054719894384.
76. Ribeiro MJ, Violante IR, Bernardino I, Ramos F, Saraiva J, Reviriego P, et al. Abnormal achromatic and chromatic contrast sensitivity in neurofibromatosis type 1. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(1):287-93.
77. Ding J, Sperling G, Srinivasan R. Attentional modulation of SSVEP power depends on the network tagged by the flicker frequency. *Cereb Cortex*. 2006;16(7):1016-29.
78. Kashiwase Y, Matsumiya K, Kuriki I, Shioiri S. Time courses of attentional modulation in neural amplification and synchronization measured with steady-state visual-evoked potentials. *J Cogn Neurosci*. 2012;24(8):1779-93.
79. Kim YJ, Grabowecky M, Paller KA, Muthu K, Suzuki S. Attention induces synchronization-based response gain in steady-state visual evoked potentials. *Nat Neurosci*. 2007;10(1):117-25.
80. Rietman AB, van der Vaart T, Plasschaert E, Nicholson BA, Oostenbrink R, Krab LC, et al. Emotional and behavioral problems in children and adolescents with neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2018;177(3):319-28.
81. Mautner V-F, Kluwe L, Thakker SD, Lark RA. Treatment of ADHD in neurofibromatosis type 1. *Dev Med Child Neurol*. 2002;44(3):164-70.
82. Garg S, Lehtonen A, Huson SM, Emsley R, Trump D, Evans DG, et al. Autism and other psychiatric comorbidity in neurofibromatosis type 1: evidence from a population-based study. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55(2):139-45.
83. Vilidaite G, Norcia AM, West RJH, Elliott CJH, Pei F, Wade AR, et al. Autism sensory dysfunction in an evolutionarily conserved system. *Proc Biol Sci*. 2018;285(1893):20182255.
84. Gutmann DH, Giovannini M. Mouse models of neurofibromatosis 1 and 2. *Neoplasia*. 2002;4(4):279-90.
85. Brown JA, Xu J, Diggs-Andrews KA, Wozniak DF, Mach RH, Gutmann DH. PET imaging for attention deficit preclinical drug testing in neurofibromatosis-1 mice. *Exp Neurol*. 2011;232(2):333-8.

Additional file 1. Inclusion of participants with optic pathway gliomas in the EEG analyses.

The non-parametric Mann-Whitney test was used to ensure that the EEG measures of the three NF1 participants with optic pathway gliomas did not differ from the rest of the group and could be included in the analyses. SNRs of the SSVEP responses were not significantly different when compared between participants with optic pathway gliomas (Mdn = 3.41, 3.07, 3.34 for the 6 Hz, 10 Hz, 15 Hz stimulation) and the rest of the NF1 group (Mdn = 4.52, 4.67, 4.53 for the 6 Hz, 10 Hz, 15 Hz stimulation) for either the 6 Hz stimulation ( $U = 31.00$ ,  $p = 0.67$ ), the 10 Hz stimulation ( $U = 18.00$ ,  $p = 0.17$ ) or the 15 Hz stimulation ( $U = 24.00$ ,  $p = 0.35$ ). To support the conclusion that these three participants with optic pathway gliomas can be included in the analyses, a table showing where the SNR measures of these participants lie in the NF1 distributions is provided below.

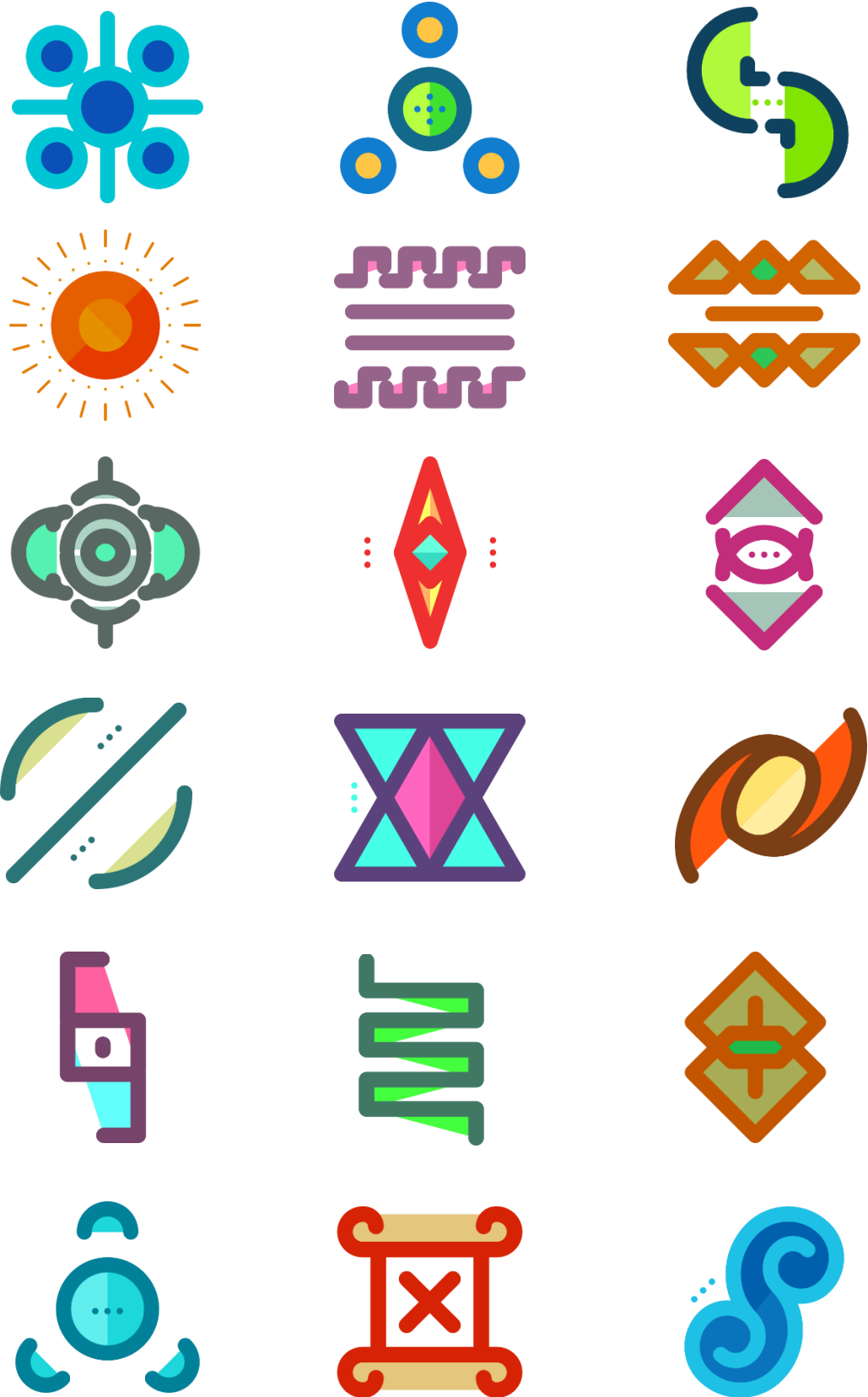
Rank of the SNR measures of participants with optic gliomas in the NF1 distributions for each stimulation frequency

SNR at 6 Hz (dB)	SNR at 10 Hz (dB)	SNR at 15 Hz (dB)
0,36	0,47	0,26
0,87	0,52	0,72
0,88	0,84	1,08
1,71	1,18	1,58
2,71	1,25	2,49
2,72	1,93	2,51
2,94	1,97	2,60
2,95	2,47	3,34
2,98	2,59	3,42
3,39	2,70	3,61
3,41	3,07	3,86
3,80	3,92	4,06
3,83	4,30	4,20
4,52	4,56	4,50
4,52	4,60	4,53
4,58	4,66	4,87
4,61	4,80	4,99
4,62	5,19	5,11
4,88	5,43	5,13
5,08	5,45	5,23
5,17	5,56	5,43
5,32	6,52	6,30
5,45	6,54	7,76
6,89	6,60	8,03
7,47	6,96	8,16

7,57	7,12	8,23
7,71	9,19	9,91
8,54	9,30	10,41

*Note. The SNR measures of participants with optic pathway gliomas are shown in red.*

Additional file 2. Coloured icons presented at 6Hz, 10 Hz or 15 Hz during the visual task.





**2. Article 2.** Time-frequency analyses of repetition suppression and change detection in children with neurofibromatosis type 1

**Authors:** Eve Lalancette<sup>1,2</sup>, Audrey-Rose Charlebois-Poirier<sup>1,2</sup>, Kristian Agbogba<sup>2</sup>, Inga Sophia Knoth<sup>2</sup>, Valérie Côté<sup>1,2</sup>, Sébastien Perreault<sup>3</sup> & Sarah Lippé<sup>1,2</sup>

**Affiliations:**

<sup>1</sup> Department of Psychology, University of Montreal, Marie Victorin Building, 90 Vincent-D'Indy Avenue, Montreal, Quebec, Canada, H2V 2S9

<sup>2</sup> CHU Sainte-Justine Research Center, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal, Qc., Canada, H3T 1C5

<sup>3</sup> Department of Neurosciences, Division of Child Neurology, CHU Sainte-Justine, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal, Qc., Canada, H3T 1C5

**Contact information for the corresponding author:** Sarah Lippé, CHU Sainte-Justine, Office A17.01, 3175 Côte Ste-Catherine, Montreal (Qc.), Canada, H3T 1C5, sarah.lippe@umontreal.ca

Publié dans *Brain Research* (2023), 1818, 148512.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2023.148512>

## **Abstract**

Children with neurofibromatosis type 1 (NF1) are at increased risk of developing cognitive problems, including attention deficits and learning difficulties. Alterations in brain response to repetition and change have been evidenced in other genetic conditions associated with cognitive dysfunctions. Whether the integrity of these fundamental neural responses is compromised in school-aged children with NF1 is still unknown.

In this study, we examined the repetition suppression (RS) and change detection responses in children with NF1 (n=36) and neurotypical controls (n=41) aged from 4 to 13 years old, using a simple sequence of vowels. We performed time-frequency analyses to compare spectral power and phase synchronization between groups, in the theta, alpha and beta frequency bands. Correlational analyses were performed between the neural responses and the level of intellectual functioning, as well as with behavioral symptoms of comorbid neurodevelopmental disorders measured through parental questionnaires.

Children with NF1 showed preserved RS, but increased spectral power in the change detection response. Correlational analyses performed with measures of change detection revealed a negative association between the alpha-band spectral power and symptoms of inattention and hyperactivity. These findings suggest atypical neural response to change in children with NF1. Further studies should be conducted to clarify the interaction with comorbid neurodevelopmental disorders and the possible role of altered inhibitory mechanisms in this enhanced neural response.

**Keywords:** Neurofibromatosis type 1; Electroencephalography; Repetition suppression; Change Detection; ADHD.

## 1. Introduction

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is a monogenic disorder with a prevalence of around 1 in 2500-3000, irrespectively of sex and ethnic background (Evans et al., 2010; Lammert et al., 2005). Mutations of the NF1 gene can have multisystemic implications, including cutaneous, ophthalmologic, orthopedic and neurological manifestations (Baudou & Chaix, 2020). The clinical heterogeneity and widespread symptoms that evolve with age require close monitoring throughout the development of affected individuals (Monroe et al., 2017). In children with NF1, cognitive impairments are highly prevalent, with deficits most often identified in visuospatial abilities, attention, executive functions, language, motor and social skills (Hyman et al., 2005; Lehtonen et al., 2015; Levine et al., 2006; Torres Nupan et al., 2017). Therefore, a significant proportion of children with NF1 meet diagnostic criteria for comorbid neurodevelopmental disorders, notably attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD), autism spectrum disorder (ASD) and specific leaning disorders (Kaczorowski et al., 2020).

Neuroimaging studies in NF1 have helped further our understanding of the neural basis of these cognitive deficits (Baudou et al., 2020). Electroencephalography (EEG) studies with NF1 patients have mainly focused on the sensory processing abnormalities, attention and executive function deficits observed in this population (Ali et al., 2020; Ammendola et al., 2006; Pobric et al., 2022; Ribeiro et al., 2014; Yerdelen et al., 2011). Major advantages of non-invasive EEG recordings include the possibility to study brain activity from early infancy, the good tolerability by children with sensory and behavioural difficulties and the translatability between human and animal studies. A valuable method to study sensory processing and basic learning mechanisms across the lifespan as well as across species using EEG is the measure of repetition suppression (RS) and change detection responses (Deguire et al., 2022; Fenckova et al., 2019). RS and change detection are fundamental neural mechanisms with a predictive value for neurodevelopment and are considered as prerequisites for more complex learning processes (López-Arango et al., 2021). These neural responses can be elicited with oddball paradigms in which a standard stimulus is repeated and followed by a deviant stimulus. RS refers to the reduction of neural activity in response to the repetition of the standard stimulus, while the change detection is reflected by a larger neural response that occurs when the deviant stimulus is presented (Garrido et al., 2009; Summerfield et al., 2008).

Atypical response to repeated stimulation has been found in other genetic syndromes associated with an increased risk of neurodevelopmental disorders, such as Fragile X syndrome (FXS) and Tuberous sclerosis complex (TSC). In patients with FXS, reduced or altered RS was evidenced in both the visual (Rigoulot et al., 2017) and auditory modality (Ethridge et al., 2016; Knoth et al., 2018). In a study comparing RS patterns between four genetic conditions associated with intellectual disability, Côté et al. (2021) found diverging results. In the FXS patient group, greater suppression of event-related potentials (ERP) was evidenced in response to the repeated pronunciation of the vowel /a/. This stronger RS response was correlated with increased ASD traits in patients with FXS. In the same study, an absence of RS was found in patients with TSC, which was however interpreted with caution due to low overall amplitudes and a possible confounding effect of the anticonvulsant medication in this patient group (Côté et al., 2021).

The electrophysiological response to auditory change reflects basic sensory memory processes and has been shown to be altered in various disorders associated with atypical cognitive functioning (Näätänen et al., 2014). A well-studied EEG correlate of change detection is the mismatch negativity (MMN), a frontocentral ERP component peaking between 100 and 250 ms post-stimulus and obtained by subtracting the averaged responses to standards from the deviants (Näätänen et al., 2005). Meta-analyses have concluded on reduced MMN amplitudes in children with ADHD (Cheng et al., 2016) and ASD (Chen et al., 2020), although different alterations have been evidenced depending on the type of stimuli (e.g. pure tones, speech-related sounds), deviant features (e.g. probability, pitch change, phoneme change) and clinical heterogeneity of the samples.

Recently, in the first study investigating RS and change detection in infants with NF1, Begum-Ali et al. (2021) showed preserved ability to detect auditory repetition and change (with pitch and vowel change). However, increased age-related changes were evidenced in typically developing infants, with the response to repetition and change becoming more frontocentrally focused between 5 and 10 months of age. In infants with NF1, the diminished evolution of the topographic profile and slower responses to repetition and change in the frontal region pointed towards less mature auditory processing. The response to the first stimulus and suppression to the second stimulus were also correlated positively with later ASD and ADHD traits in the NF1

group. How these neural responses to auditory sequences evolve throughout childhood and how they relate to cognitive functioning in school-aged children with NF1 is still unknown.

The main objective of this study was to investigate the integrity of the RS and change detection responses in children with NF1 aged from 4 to 13 years old, using time-frequency analyses. To study the underlying oscillatory activity involved in the generation of these responses is of great interest knowing that atypical power and synchronization of different brain oscillations were evidenced in previous studies of children with NF1 (Booth et al., 2022; Lalancette et al., 2022; Silva et al., 2016). We expected impaired modulation of oscillatory activity in response to repetition and change in the NF1 group, especially in the alpha frequency band considering previous reports of both excessive and reduced alpha power in attentional tasks in children with NF1 (Ribeiro et al., 2014; Silva et al., 2016). Given the important role of theta oscillatory activity in the repetition and change detection (Fuentemilla et al., 2008; Hsiao et al., 2009; Hsu et al., 2014; Rigoulot et al., 2017; Summerfield et al., 2008), we also expected impaired modulation of theta power and phase coherence in the NF1 group. A secondary objective of this study was to identify possible associations of the electrophysiological response with measures of cognitive functioning and symptoms of ADHD, ASD and emotional/behavioral problems. We hypothesized that brain responses would be related with behavioural symptoms, particularly with ASD and ADHD-related symptoms considering previous findings in infants with NF1 (Begum-Ali et al., 2021).

## **2. Results**

The response pattern to the entire sequence (/a/a/a/i/) for each time-frequency window (TFW) and each group is presented in the supplementary material, for both the event-related spectral perturbation (ERSP) and inter-trial coherence (ITC) measures (Additional figures 1 and 2). The overall response follows a U-shaped pattern as found previously in a normative sample (Deguire et al., 2022).

Age was added as a covariate in the following group comparisons with mixed-design ANCOVAs and was significantly related to the dependant variables (i.e., ERSP and ITC measures) in all the

analyses (all  $p < 0.05$ ). The results concerning the effect of the covariate age in each of the following analyses are shown in the supplementary material (Additional table 1).

### 2.1. Basic auditory response

Separate mixed-design ANCOVAs were performed with ERSP and ITC measures for the response to Standard 1. No significant group differences were found on ERSP ( $F(1, 74) = 0.04$ ,  $p = 0.85$ , partial  $\eta^2 = 0.0005$ ) nor ITC measures ( $F(1, 74) = 2.48$ ,  $p = 0.12$ , partial  $\eta^2 = 0.03$ ). A trend toward a significant effect of TFW was found on ERSP measures ( $F(2, 74) = 2.69$ ,  $p = 0.076$ , partial  $\eta^2 = 0.03$ ). Post-hoc comparisons with Bonferroni adjustment revealed higher power in the alpha frequency band when compared to the theta ( $p = 0.003$ ) and beta ( $p = 0.01$ ) frequency bands (see Figure 1). No main effect of TFW was found on ITC measures ( $F(2, 74) = 1.61$ ,  $p = 0.20$ , partial  $\eta^2 = 0.02$ ) and no interactions between group and TFW were found in both time-frequency analyses (ERSP:  $F(2, 74) = 0.24$ ,  $p = 0.78$ , partial  $\eta^2 = 0.003$ ; ITC:  $F(2, 74) = 0.36$ ,  $p = 0.70$ , partial  $\eta^2 = 0.005$ ).

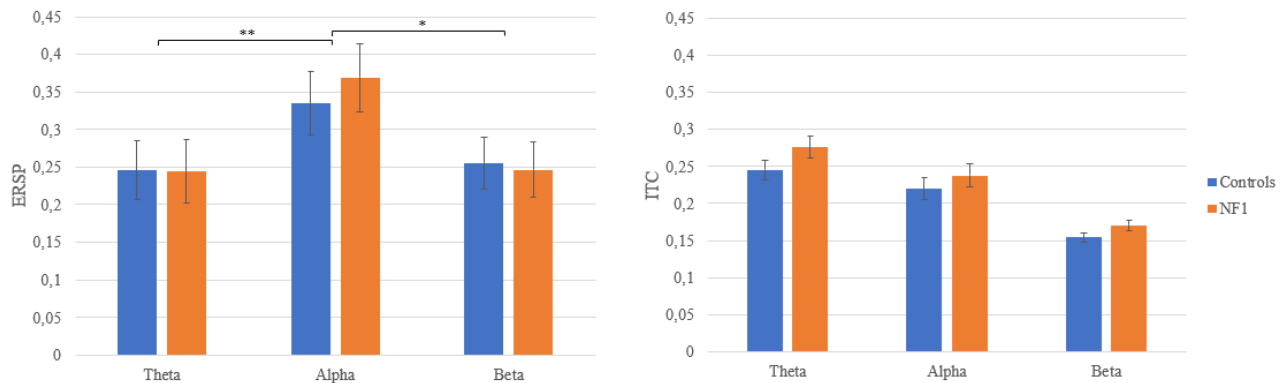


Figure 1. Basic auditory response: Event-related spectral perturbation (ERSP; on the left) and intertrial coherence (ITC; on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) in response to Standard 1 for each time-frequency window (TFW) by group. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

### 2.2. Repetition Suppression

The RS response (Standard 2 – Standard 1) did not differ significantly between groups for the ERSP ( $F(1, 74) = 0.25$ ,  $p = 0.62$ , partial  $\eta^2 = 0.003$ ) and ITC measures ( $F(1, 74) = 1.64$ ,  $p =$

0.20, partial  $\eta^2 = 0.02$ ). There was no main effect of TFW on ERSP ( $F(2, 74) = 0.53, p = 0.59$ , partial  $\eta^2 = 0.007$ ) and ITC measures ( $F(2, 74) = 1.46, p = 0.24$ , partial  $\eta^2 = 0.02$ ) and no interactions between group and TFW in both time-frequency analyses (ERSP:  $F(2, 74) = 0.18, p = 0.83$ , partial  $\eta^2 = 0.002$ ; ITC:  $F(2, 74) = 0.89, p = 0.41$ , partial  $\eta^2 = 0.01$ ). See supplementary material for the results regarding the difference between Standard 3 and Standard 1 (Additional figure 3).

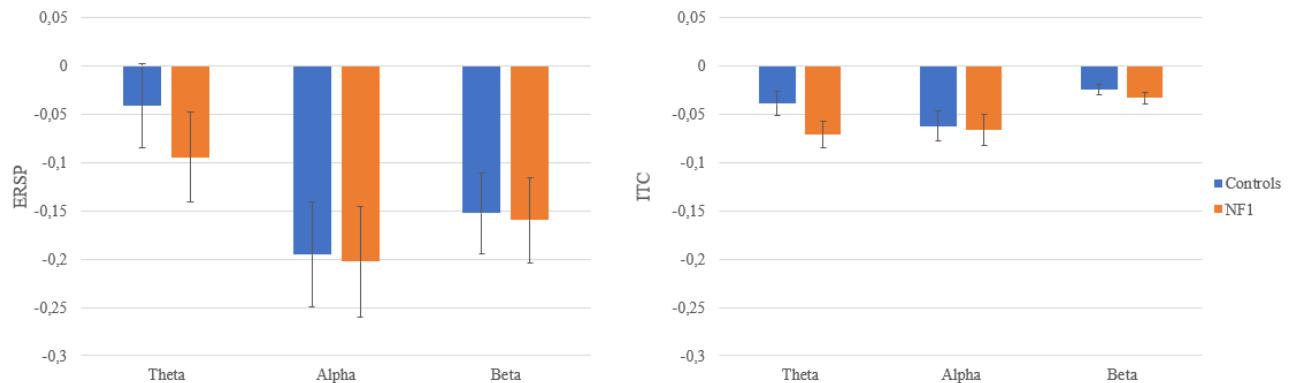


Figure 2. RS: Difference in event-related spectral perturbation (ERSP; on the left) and inter-trial coherence (ITC; on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) between Standard 2 and Standard 1 for each time-frequency window (TFW) by group.

### 2.3 Change detection

A significant main effect of group was found on ERSP measures of change detection (Deviant – Standards) ( $F(1, 74) = 5.07, p = 0.027$ , partial  $\eta^2 = 0.06$ ) with higher spectral power in the NF1 group. The partial  $\eta^2$  indicates a medium effect size. Post hoc ANCOVAs were carried out to analyze the effect of group in each TFW and revealed higher response to change in children with NF1 in the theta frequency band only ( $F(1, 74) = 4.29, p = 0.042$ , partial  $\eta^2 = 0.06$ ) (see Figure 3). No group differences were found on ITC measures ( $F(1, 74) = 0.45, p = 0.51$ , partial  $\eta^2 = 0.006$ ). A trend toward a significant effect of TFW was found on ERSP measures ( $F(2, 74) = 2.97, p = 0.054$ , partial  $\eta^2 = 0.04$ ). Post-hoc comparisons with Bonferroni adjustment revealed higher power in the theta frequency band when compared to the alpha ( $p = 0.004$ ) and beta ( $p = 0.01$ ) frequency bands. Similarly, a main effect of TFW was found on ITC measures of change

detection ( $F(2, 74) = 3.55, p = 0.031, \text{partial } \eta^2 = 0.05$ ), with higher intertrial synchronization in the theta frequency band when compared to the alpha ( $p = 0.003$ ) and beta ( $p = 0.001$ ) frequency bands. There were no interactions between group and TFW in both ERSP ( $F(2, 74) = 0.21, p = 0.81, \text{partial } \eta^2 = 0.003$ ) and ITC measures ( $F(2, 74) = 0.99, p = 0.37, \text{partial } \eta^2 = 0.01$ ).

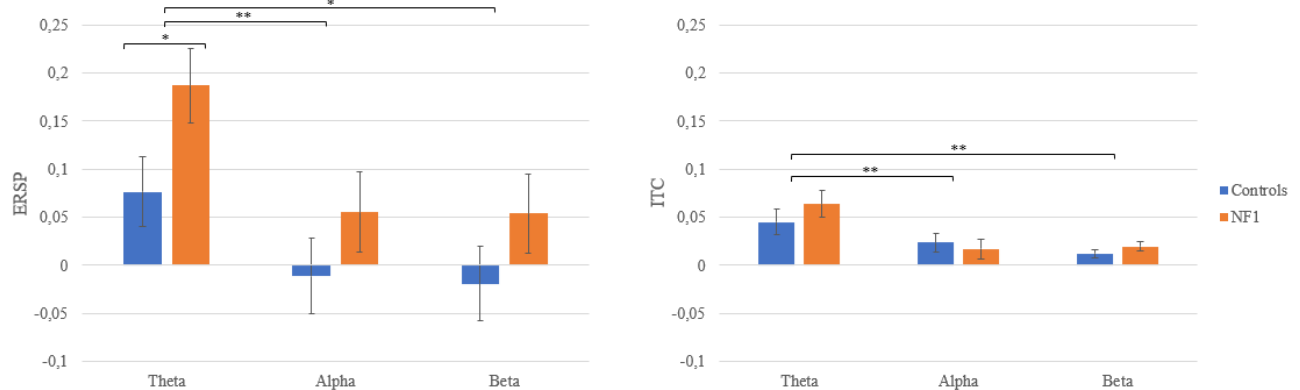


Figure 3. Change detection: Difference in event-related spectral perturbation (ERSP; on the left) and intertrial coherence (ITC; on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) between the Deviant and Standards for each time-frequency window (TFW) by group.  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

#### 2.4. Relationship with intellectual functioning and behavioural symptoms

The following correlational analyses were performed with EEG measures where significant between-groups differences were found (i.e., ERSP measures of change detection). Pearson correlations performed in the whole sample revealed no significant relation between ERSP measures of change detection in all frequency bands and IQ (Table 1). No significant correlations were neither found with ASD-related symptoms measured with the Social Responsiveness Scale 2nd edition (SRS-2) or with emotional/behavioural problems measured with the Child Behavior Checklist (CBCL). Significant negative correlations were found between ERSP measures of change detection in the alpha band frequency and symptoms of inattention ( $r = -0.40, p = 0.002$ ) and hyperactivity ( $r = -0.36, p = 0.006$ ) measured with the Conners 3 questionnaire. Those correlations remained significant after false discovery rate (FDR) correction with  $p$ -values of 0.028 and 0.048 for the Inattention and Hyperactivity scales



respectively. Figures 4 and 5 illustrate the contribution of each group in these significant correlations found in the whole sample. The correlational analyses performed in each group separately are presented in the supplementary material (Additional table 2).

Table 1. Pearson correlations between ERSP measures of change detection in each TFW and measures of intellectual functioning and behavioral symptoms in the whole sample

	ERSP measures of change detection		
	Theta	Alpha	Beta
<b>IQ</b>	-0.08	-0.09	-0.12
<b>Conners 3 Inattention Scale</b>	-0.03	-0.40*** <sup>a</sup>	0.03
<b>Conners 3 Hyperactivity Scale</b>	-0.19	-0.36*** <sup>a</sup>	-0.11
<b>SRS-2 Total Score</b>	0.04	-0.06	0.09
<b>CBCL Total Problems</b>	-0.01	-0.12	-0.02

Abbreviations: ERSP, event-related spectral perturbation; TFW, time-frequency window; NF1, neurofibromatosis type 1; Conners 3, Conners 3rd edition; SRS-2, Social Responsiveness Scale 2nd edition; CBCL, Child Behavior Checklist; IQ, intellectual quotient.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , <sup>a</sup> = significant after FDR correction.

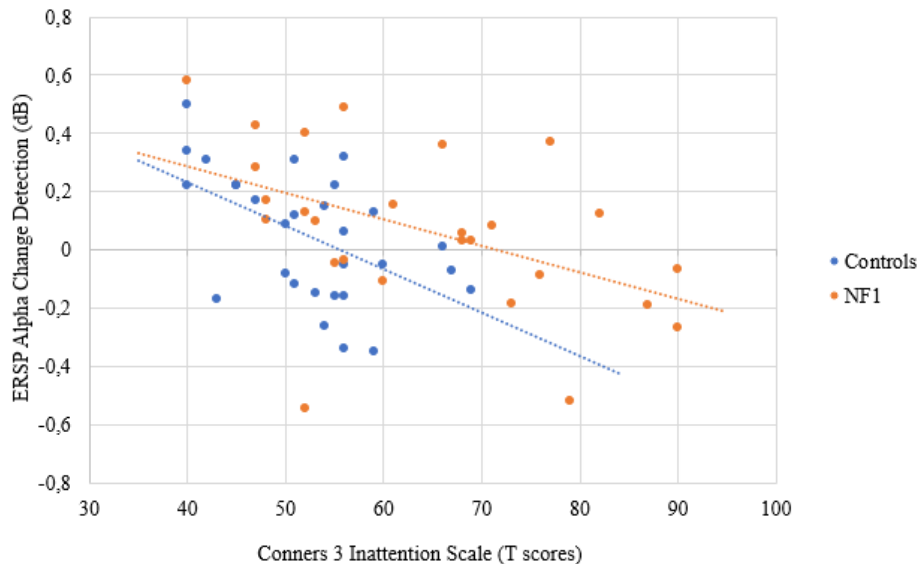


Figure 4. Relationship between the event-related spectral perturbation (ERSP) measures of alpha oscillations in response to change and inattention symptoms measured by the Conners 3 Inattention Scale.

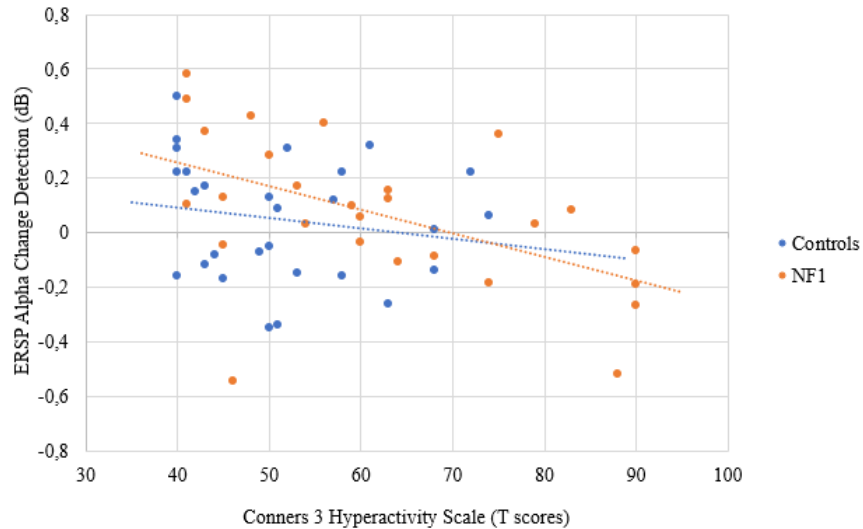


Figure 5. Relationship between the event-related spectral perturbation (ERSP) measures of alpha oscillations in response to change and hyperactivity symptoms measured by the Conners 3 Hyperactivity Scale.

### 3. Discussion

This study aimed to investigate the oscillatory activity in response to repetition and change in children with NF1 and neurotypical controls aged between 4 and 13 years old. We examined the spectral power (ERSP) and phase synchronization (ITC) in the theta, alpha and beta frequency bands in response to a simple sequence of vowels composed of three repeated standards (/a/) and one frequent deviant (/i/). Children with NF1 showed equivalent spectral power and phase synchronization when compared to typically developing children, for both the basic auditory response to the first standard stimulus and the suppression of the activity to the second standard stimulus. However, increased spectral power was found in the NF1 group in response to the deviant stimulus. Correlational analyses were performed with these measures of change detection

and revealed a negative association between the alpha-band spectral power and the Conners 3 Inattention and Hyperactivity scales.

### **3.1 Preserved repetition suppression**

Studies of the habituation response in animal models of NF1 have helped understand how alterations in the Ras signaling pathways might affect basic learning and memory processes (Fenckova et al., 2019; Wolman et al., 2014). Whether those molecular alterations and basic learning deficits translate into alterations of basic neural mechanisms in children with NF1 remains unknown. Our results indicate preserved electrophysiological response to repeated vowels in school-aged children with NF1, with a suppression of the activity between the first and second standard stimulus comparable to typically developing children in all the selected frequency bands (i.e., theta, alpha and beta). These results thus inquired our initial hypothesis positing impaired modulation of oscillations in response to repetition. In line with our study, Begum-Ali et al. (2021) analyzed ERP waveforms variations in infants with NF1 and found preserved ability to detect repetition in a sequence of vowels. However, they found a decreased maturation of the scalp profile with a response to repetition that was less centred in the frontocentral region in their infant population.

The nature of the task used in our study might contribute to the preserved RS found in the NF1 group. In a previous experiment using the same stimulation, the unexpected presence of RS was found in individual with Down Syndrome and FXS, which was mainly attributed to the multisensory design of the task (Côté et al., 2021). The presentation of faces congruent with the pronunciation of vowels provides visual support that is thought to facilitate the auditory processing of speech stimulus (Basirat et al., 2014; D'Souza et al., 2016). This visual input also maximizes children's attention, which supports the generation of expectations regarding the upcoming stimulus and thus enhances RS (Côté et al., 2021; Grotheer & Kovács, 2016). Our results suggest that children with NF1 benefit from the integration of these two sensory modalities and show preserved RS in these facilitating conditions.

### 3.2 Increased response to change

Distinct cortical activity was found in the NF1 group with regards to change detection, defined as the difference between the response to the deviant (vowel /i/) and the standard stimuli (vowel /a/ repeated three times). Children with NF1 showed equivalent phase synchronization when compared to neurotypical controls but increased spectral power in response to the deviant. Further analyses in each frequency band revealed a significant increase in the theta-band spectral power only, confirming our hypothesis of impaired modulation of theta oscillations in the change detection response. This higher spectral power in response to change in children with NF1 is not thought to reflect an overall hyperreactivity since no difference between groups was found regarding the basic auditory response to the first standard stimulus. An interesting result from our analyses is the increase in theta-band power and phase synchronization that was significantly larger than the other frequency bands in both groups. This is coherent with previous studies showing the specific contribution of theta power and phase alignment in the frontal component of the MMN in response to deviant trials (Fuentemilla et al., 2008; Hsiao et al., 2009).

The NF1 group's larger increase in spectral power in the change detection response, when compared to the control group, could reflect a more immature response. In a recent longitudinal study investigating the developmental course of RS and change detection from 3 months to 4 years of age in neurotypical children using the same sequence task as this study, Deguire et al. (2022) found stronger change detection response in young infants compared to older children in frontocentral regions. The authors proposed that older children seemed to have learned the standard sequence /a/a/a/i/ and thus to be expecting the frequent deviant, resulting in a reduced change detection response compared to young infants. Similarly, it is possible that the increase reactivity to change in children with NF1 reflects a less efficient learning of the standard sequence and a weaker sensory memory trace of the frequent deviant stimulus.

Altered inhibitory mechanisms in NF1 could also contribute to the increased spectral power found in response to deviant trials. GABAergic dysfunction is considered a key factor in the cognitive impairments resulting from the NF1 mutation (Costa et al., 2002; Cui et al., 2008; Lacroix et al., 2022; Ribeiro et al., 2015; Shilyansky et al., 2010; Violante et al., 2016). Recent studies have shown that different subclass of GABAergic inhibitory interneurons, notably the parvalbumin- and somatostatin-expressing interneurons, play crucial and distinctive roles in

cortical habituation and novelty detection over different timescales (Chaloner & Cooke, 2022; Hayden et al., 2021; Ross & Hamm, 2020). The ratio of these classes of GABAergic interneurons is thought to be altered in NF1 and recent results point towards a reduction of parvalbumin-expressing interneurons (Knowles et al., 2023). Although further work is needed to understand these modified inhibitory dynamics in NF1, investigation of specific subclasses of GABAergic interneurons could help understand the differential impact observed in RS and change detection.

### **3.3. Associations with IQ and behavioural symptoms**

Correlational analyses were performed with the spectral power measures of change detection to determine if these are associated with the level of intellectual functioning or severity of comorbid behavioural symptoms. No associations were found with IQ, ASD-related symptoms, and symptoms of emotional problems in our sample. However, increased ADHD-related symptoms, in both the Inattention and Hyperactivity scales, was associated with a reduction of alpha-band spectral power in response to deviants. These results partially confirmed our hypothesis proposing an association between behavioural symptoms and electrophysiological responses. However, our results further suggest that the increased spectral power found in the NF1 group in response to change can not be directly attributed to the severity of ADHD symptomatology since elevated symptoms were associated with reduced alpha spectral power. Previous studies of change detection in ADHD samples did show reduced amplitude of the MMN ERP component in response to deviants (Cheng et al., 2016). Knowing that alpha spectral power, along with theta oscillatory activity, is a substantial contributor to the frontal MMN amplitude (Fuentemilla et al., 2008; Hong et al., 2012), the reduced alpha power associated with higher ADHD symptoms remains coherent with previous findings in ADHD samples. The fact that the correlations with ADHD symptomatology are found specifically in the alpha frequency band is also relevant given the known role of alpha oscillations in the modulation of attention and inhibitory control (Foxe & Snyder, 2011; Jensen & Mazaheri, 2010; Payne & Sekuler, 2014; Weisz et al., 2013). Finally, the increased response to change found in the NF1 group could reflect a compensatory mechanism exhibited by children with NF1 who require higher investment of cognitive resources to adequately process the deviant stimulus. Children with NF1 and more severe ADHD

symptoms might not be able to maintain such a compensatory mechanism, resulting in a reduced alpha spectral power in response to change. The different impact of the NF1 diagnosis and ADHD symptoms on the change detection response highlights the need for larger, stratified samples to disentangle the variables affecting brain activity in NF1, which in turn, might offer a better understanding of the heterogeneity in the cognitive and behavioural phenotype in this population (Baudou et al., 2020).

### **3.4. Limitations and perspectives**

Time-frequency analyses performed in this study allowed the investigation of underlying oscillatory mechanisms involved in the RS and change detection responses, that cannot be revealed through measures of peak amplitude in averaged waveforms (Bishop et al., 2011). Although no significant between-group difference was found in the response to the first standard stimulus, it would be important to investigate the possible impact of differences in resting-state activity on our results, considering that higher resting-state power in low frequencies was recently reported in NF1 (Booth et al., 2022). While the potential confounding effect of psychostimulant medication on EEG measures was controlled by including only recordings performed without medication, results on parental questionnaires might be influenced by the subgroup of NF1 patients taking psychostimulants in their daily life (N=9). This limitation should be considered in the interpretation of our correlational results between EEG measures of change detection and ADHD-related symptoms. Further investigations of the RS process with more complex language stimuli, such as words and pseudowords, would also be important to determine if the habituation is preserved as the complexity increases. Complex oddball paradigms with different types of deviant stimuli and varying probability should also be tested in children with NF1 to determine if an increased change detection response is elicited by less frequent deviant stimuli.

### **3.5. Conclusions**

In this study, we investigated electrophysiological correlates of habituation and change detection in school-age children with NF1 using a simple sequence of vowels. Children with NF1 showed

preserved oscillatory activity in response to repetition but increased spectral power in response to the deviant vowel presented frequently throughout the experiment. This increased change detection response was negatively correlated with the severity of ADHD-related symptoms, thus suggesting a possible impact of the NF1 pathophysiology on this neural mechanism, independently of the ADHD comorbidity. Future studies with stratified samples will be needed to confirm this atypical auditory processing of deviant stimuli in NF1 and its interplay with comorbid neurodevelopmental disorders.

## **4. Experimental Procedure**

### **4.1. Participants**

Thirty-six participants with NF1 and 41 controls, ages 4 to 13 years old, were included in this study. All participants with NF1 met the revised diagnostic criteria from the International Consensus Group on Neurofibromatosis Diagnostic Criteria (Legius et al., 2021) and were recruited in collaboration with the Neurofibromatosis Clinic at CHU Sainte-Justine. A history of neurosurgery and the intake of anticonvulsants or MEK-inhibitor treatment represented exclusion criteria. For NF1 participants taking psychostimulant medication, an EEG recording without medication (after a 24-h washout) was required to be included in this study. Other medical conditions and comorbidities associated with NF1 were reviewed in patients recruited. Six NF1 participants presented with optic pathway gliomas and two had a history of seizures in early childhood, which subsequently resolved. One participant was diagnosed with intellectual disability, two with ASD and 15 children in the NF1 group were diagnosed with ADHD. Nine NF1 patients taking psychostimulants and having performed the EEG recording without medication were included. Controls were recruited through social media ads and posters in public libraries. Any neurological condition, psychiatric or neurodevelopmental disorder, as well as the intake of medication represented exclusion criteria. Normal hearing was also required for all participants. The study protocol was approved by the hospital's research ethics board. All participants' parents provided written informed consent to participate and were free to withdraw at any point. Children also gave their verbal or written consent after receiving adapted explanations of the study's purpose and procedures.

Groups characteristics and comparisons in terms of demographics, intellectual functioning and behavioral symptoms are presented in Table 2. Comparisons were performed using *t* tests, except for sex ratios which were compared using the chi-squared test. Mean age and sex ratios were not significantly different between groups, while household income was significantly lower in NF1 participants' families. The NF1 group's mean IQ scores was slightly below average and was also significantly lower from the control group's mean IQ which was in the upper limit of the average range. This result is in line with previous studies that have documented this downward shift in IQ distribution of approximately one standard deviation in the NF1 population (Hyman et al., 2005; Torres Nupan et al., 2017; Vogel et al., 2017). Behavioral symptoms captured by parental questionnaires were significantly higher in the NF1 group for all selected scales and total scores. In the NF1 group, almost half of the sample meet the clinical cutoff for inattention problems and around a third for hyperactivity problems, both measured with the Conners 3. This profile is coherent with the prevalence of ADHD in the NF1 population which is estimated between 38 and 67%, with the predominantly inattentive presentation being more frequent than the predominantly hyperactive subtype (Hachon-Le Camus et al., 2012; Hyman et al., 2005; Smith et al., 2020). The proportion of control participants with perceived hyperactivity symptoms above clinical threshold is larger than expected, although no control had an ADHD diagnosis. Clinically significant ASD symptoms (T score  $\geq 60$ ) were found in around 39% of the NF1 group, while 11% reached the severe range (T score  $\geq 75$ ) associated with categorical ASD diagnosis. These results correspond to the distribution of ASD traits found in an internationally compiled sample of children with NF1 (N = 531) where 39.2% of individuals exhibited above-threshold scores (T score  $\geq 60$ ) and 13.2% scored in the most severe range (T score  $\geq 75$ ) (Morris et al., 2016).

Table 2. Demographic, intellectual, and behavioral profile of the NF1 and control groups

	NF1 group		Control group		Group comparison	
	Mean (SE or %)	N (%) with impaired scores <sup>a</sup>	Mean (SE or %)	N (%) with impaired scores <sup>a</sup>	T-Test or X <sup>2</sup>	p
<b>Age (years)</b>	8.81 (0.50)		8.30 (0.38)		-0,82	0.42



<b>Sex (N females)</b>	18 (50.00%)		18 (43.90%)		0.29	0.59
<b>Household income (\$CAN)<sup>b</sup></b>	89 333.33 (6 736.13)		141 593.75 (15 568.32)		3.01	0.004
<b>IQ</b>	88.31 (1.83)		109.98 (1.80)		8.42	< 0.001
<b>Conners 3 Inattention Scale</b>	63.81 (2.77)	13 (48.15)	52.35 (1.43)	3 (9.68)	-3.82	0.0003
<b>Conners 3 Hyperactivity Scale</b>	61.81 (3.20)	9 (33.33)	52.29 (1.93)	6 (19.35)	-2.63	0.01
<b>SRS-2 Total Score</b>	58.11 (2.03)	14 (38.89)	47.33 (1.19)	2 (6.06)	-4.49	0.00003
<b>CBCL Total Problems</b>	57.89 (1.89)	8 (22.66)	47.34 (1.52)	1 (2.44)	-4.39	0.00004

*Abbreviations: NF1, Neurofibromatosis type 1; SE, Standard Error; IQ, Intellectual Quotient; Conners 3, Conners 3<sup>rd</sup> edition; SRS-2: Social Responsiveness Scale 2<sup>nd</sup> edition; CBCL, Child Behavior Checklist.*

*Note. IQ results are presented in standard scores. Results from the Conners 3, the SRS-2 and the CBCL questionnaires are presented in T-scores, with higher scores representing more symptoms.*

<sup>a</sup> Impaired scores are based on clinically significant threshold defined for each questionnaire : Conners 3 (T score  $\geq 65$  ), SRS-2 (T score  $\geq 60$ ), CBCL (T score  $\geq 65$ ).

<sup>b</sup> The average total household income in Quebec was 90 500\$ in 2020 (*Institut de la statistique du Québec, 2022*).

## **4.2. Experimental Protocol**

### **4.2.1. Neuropsychological evaluation and parental questionnaires**

Participants' intellectual functioning was assessed during a neuropsychological evaluation conducted by a graduate student in Clinical Neuropsychology. The Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, Fourth Edition (WPPSI-IV) was administered for children between 4 and 5 years old and the Wechsler Intelligence Scale for Children, Fifth Edition (WISC-V) for those between 6 and 13 years old. The subtests were administered in the

recommended order and breaks were scheduled during the session. NF1 participants taking psychostimulant medication did the neuropsychological evaluation with medication. Parents completed questionnaires prior to or during the testing in order to assess behavioral symptoms of ADHD, ASD, and emotional problems. ADHD-related behaviors were assessed using the Conners 3rd Edition–Parent (Conners 3-P), ASD-related behaviors using the Social Responsiveness Scale, 2nd Edition (SRS-2) and emotional/behavioral problems using the Child Behavior Checklist (CBCL).

#### **4.2.2. EEG recordings**

EEG recordings took place in a dark, electrically shielded and soundproof room at CHU Sainte-Justine, using 128 electrode nets (Electrical Geodesics System Inc., Eugene, OR, USA). Signals were acquired and stored in a G4 Macintosh computer using NetStation EEG Software (Version 4.5.4) and sampled at 1000 Hz. During recording, impedances were kept under 40 k $\Omega$  and Cz acted as the reference electrode. Children were instructed to remain calm, to limit movements, and to look at the screen throughout the task. A research assistant remained in the room with the participants and reiterated the instructions if necessary.

The EEG task presented to the participants was previously described by López-Arango et al. (2021) and Deguire et al. (2022). It was adapted from Basirat et al. (2014) and designed to investigate learning of a standard sequence of vowels. The task followed a local/global paradigm consisted of 96 trials, with 80 trials presenting the sequence /a/a/a/i/ and 16 trials presenting the sequence /a/a/a/a/. RS and change detection responses were assessed only with respect to the sequence (/a/a/a/i/), with the three repetitions of the vowel /a/ considered as standards and the vowel /i/ considered as the frequent (or local) deviant. Only /a/a/a/i/ sequences that did not directly follow a /a/a/a/a/ sequence were analyzed, for a total of 64 trials. The auditory presentation of vowels was accompanied with pictures of a female or male face showing the mouth movements associated with the pronunciation of each vowel. The sounds were delivered at a sound pressure level of 70 dB through two speakers located laterally at 30 cm from the children's ears, while the pictures were presented on a Tobii T120 screen with 1,024  $\times$  1,280-pixel resolution. This audio-visual design was used to maximize the children's attention throughout the task. For a complete description of the task, see the published work of López-Arango et al. (2021) and Deguire et al. (2022).

### 4.3. Analyses

#### 4.3.1. Off-line EEG preprocessing

Off-line signal processing and analyses were carried out using MATLAB R2018b (Mathworks, Inc., Natick, MA) and the EEGLAB toolbox v14 (Delorme & Makeig, 2004). A 0.5–150 Hz bandpass filter and a notch at 60 Hz were applied. Twenty-eight electrodes located around the neck and containing muscular artifacts were removed. Remaining noisy electrodes were removed using a semi-automatic procedure. First, electrodes with a standard deviation lower than 2  $\mu\text{V}$  or higher than 200  $\mu\text{V}$  were automatically excluded. Secondly, a visual inspection was performed and electrodes with sporadic behavior were manually removed. Data was re-referenced to an average reference. Eye movement artifacts (blinks and saccades) and cardiac artifacts were removed with a semi-automatic independent component analysis (ICA, runica algorithm), as implemented in the EEGLAB toolbox (Delorme & Makeig, 2004). Components were visually inspected and manually rejected if they showed prototypical patterns of blinks, saccades or cardiac activity. Data was then segmented into 800 ms epochs (200 ms before to 600 ms after stimulus onset) that were visually inspected and rejected if containing significant artifacts. The average number of removed ICA components and epochs in each group are presented in Table 3. No significant difference between groups was found in these preprocessing indicators.

Table 3. EEG pre-processing indicators and comparison between the NF1 and control groups

	<b>NF1 (N=36)</b>	<b>Controls (N=41)</b>	<b>Group comparison</b>	
	<i>Mean (SE)</i>	<i>Mean (SE)</i>	<i>T-test</i>	<i>p</i>
<b>ICA components rejected</b>	2.08 (0.17)	2.39 (0.13)	1.47	0.15
<b>Epochs rejected</b>				
<b>Standard 1</b>	12.69 (1.33)	10.59 (1.28)	-1.14	0.26
<b>Standard 2</b>	13.19 (1.46)	10.98 (1.35)	-1.12	0.27
<b>Standard 3</b>	13.53 (1.52)	11.05 (1.38)	-1.21	0.23
<b>Frequent deviant</b>	10.22 (1.13)	8.05 (1.02)	-1.43	0.16

Abbreviations: *NF1*, Neurofibromatosis type 1; *SE*, Standard Error; *ICA*, Independent Component Analysis.

### 4.3.2. Region of Interest

We performed a principal component analysis (PCA) to determine which cluster of electrodes was the most contributing and relevant to the task (Rigoulot et al., 2008; Spencer et al., 2001). The spatial PCA was carried out using a Varimax Rotation on IBM SPSS, Version 27 (IBM, Armonk, NY). The observations consisted of the three presentations of the /a/ and the last /i/ in all participants, while the 99 channels were the dependent variables. A total of 15 factors emerged from the spatial PCA, with the first factor explaining 55% of data variance. This first factor included a cluster of 23 electrodes located in the frontocentral region, between Cz and Fz (see Figure 6). This cluster of electrodes was selected as our region of interest (ROI) to perform subsequent time-frequency analyses as it accounted for most of the variance and is consequent with the study of auditory responses that are mainly distributed in central and frontal regions (Luck, 2014). The leftward lateralization our cluster of electrodes is also consistent with the processing of speech related stimuli (Ressel et al., 2008; Spironelli & Angrilli, 2010).

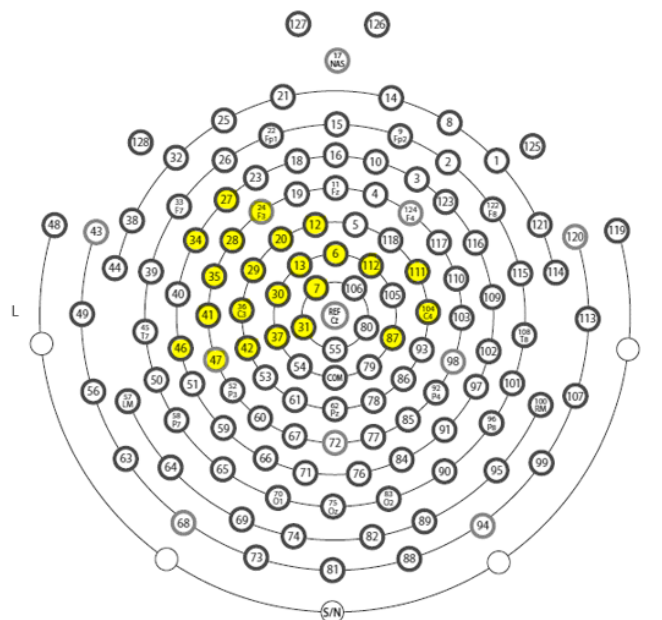


Figure 6. Region of interest identified through spatial PCA on the Geodesics 128 electrode net. Electrodes identified in yellow represent the first factor that explained 55% of the variance and constitute the frontocentral ROI in our analyses.

### 4.3.3. Time-frequency analyses

A complex Gaussian Morlet's wavelet transform was performed to analyze the signal in the time and frequency domain (Tallon-Baudry & Bertrand, 1999). To ensure an optimal number of points to apply the Morlet's wavelet transform and to avoid overlap between segments, a padding technique was performed, in which the first spectral power value of each segment was added for the 800-ms period before and the last spectral power value for the 800-ms period after the segment, thus increasing its length to 2400 ms. For the electrodes of the chosen frontocentral ROI, the following wavelet convolution was applied to obtain the time-frequency power of the signal:

$$M(t, f) = W * S = \int_i W(t - a/b, f) S(t). dt$$

where  $M(t, f)$  is a matrix of complex values given for time ( $t$ ) and frequency ( $f$ ),  $S$  is the EEG signal as a function of time,  $W$  is the complex Morlet's wavelet, and  $a$  and  $b$  are the translation and dilatation parameters. Each stimulus presentation was then represented by an Event-Related Spectral Perturbation (ERSP) plot using the amplitude and phase given by Morlet's wavelet transformation as shown in the following formula:

$$P(t, f) = 10 \log_{10}(|M(t, f)|^2)$$

$P(t, f)$  denotes TF power in terms of decibels (dB). ERSP maps show mean log deviations from baseline power, averaged across participants for each group. Investigated frequencies ranged from 3 to 50 Hz. Baseline correction was achieved by computing separately the mean power of each stimulus presentation ( $/a1/a2/a3/i/$ ). This mean was subtracted from each time and frequency point to show variations in EEG activity.

Intertrial coherence (ITC), analogous to phase-locking value (PLV), was also calculated to investigate the consistency of the oscillatory phase across trials in the time and frequency

domains (Makeig et al., 2004). The ITC computation uses the phase of the complex values given by Morlet's wavelet transform and is defined as follows:

$$ITC = \frac{1}{N} \left| \sum_{n=1}^N \exp(j\theta(f,t,n)) \right|$$

where  $\Theta$  represents the phase for a given frequency ( $f$ ), time point ( $t$ ), and trial ( $n$ ). ITC values are reported between 0 and 1, with 0 indicating random phase coherence across trials and 1 representing perfect intertrial phase coherence alignment of the neural oscillations (Lachaux et al., 1999).

ERSP and ITC measures in the frontocentral ROI were averaged across trials for each stimulus presentation (a1/a2/a3/i), and then averaged across participants to illustrate mean activity by group (Additional figures 4 and 5).

Mean ITC maps by group were used to define time-frequency windows (TFWs) of interest since they represent evoked activity (i.e., that is phase-locked to the stimulus onset). TFWs that showed greater synchronization in response to the first standard stimulus were selected and reported on ERSP maps. These TFWs were consistent between groups and captured the greatest variation in ERSP measures from the initial stimulus to the following presentations, thus confirming their relevance. ERSP and ITC maps of each stimulus presentation in each group with the selected TFWs are presented in the supplementary material (Additional figures 4 and 5). The three TFWs selected are defined as follows: theta (4-8 Hz, 0-300 ms), alpha (8-12 Hz, 0-250 ms), beta (12-30 Hz, 0-200 ms). For subsequent statistical analyses, the sum of all values contained in each TFW was used as total ERSP and ITC values for each stimulus presentation in each participant.

#### 4.3.4. Neural response analyses

ERSP and ITC measures of each TFW were used to compare neural responses to the a/a/a/i sequence between groups. To examine the basic auditory response in each group, we looked at the response to the first standard (a1). RS was defined as the difference between the first two standards (a2 - a1), while the change detection response was defined as the difference between the frequent deviant and the standards' mean (i - (a1 + a2 + a3)/3). To examine the effect of

subsequent repetition on the RS response, we also analyzed the difference between the first and third standard ( $a_3 - a_1$ ) (see Supplementary Material).

#### **4.3.5. Statistical analyses**

Statistical analyses were carried out using IBM SPSS, version 26 (IBM, Armonk, NY, USA). Normality of the distribution was verified using asymmetry and kurtosis values. Parametric tests were used since those values were all in acceptable ranges (i.e., asymmetry and kurtosis z-scores smaller than  $|1.96|$ ). Homogeneity of variance was tested by Levene's test. Group differences in ERSP and ITC measures of basic auditory processing, RS and change detection were examined with mixed design ANCOVAs. A separate mixed design ANCOVA, with TFW (theta, alpha, beta) as a within-subjects factor, and group (NF1, controls) as a between-subjects factor, was performed for each neural response (response to the first standard, RS, change detection) and each time-frequency analysis (ERSP, ITC). Given the developmental aspect of the neural responses studied (Bishop et al., 2011; Deguire et al., 2022), age was added as a covariate in these analyses. The assumption of homogeneity of regression slopes was verified and respected (i.e., no significant interaction between age and group). The assumption of sphericity was verified with Mauchly's sphericity test and respected since the test was non-significant. Significant effects from the mixed ANCOVAs were investigated using follow-up ANCOVAs and post hoc comparisons, with Bonferroni corrections for multiple testing. For EEG measures where significant group differences were found, Pearson's correlations were performed to investigate their relationship with measures of intellectual functioning and behavioral symptoms. Given the large number of correlations performed and the exploratory nature of these analyses, false discovery rate (FDR) correction was applied to control for multiple comparisons in the correlational analyses (Benjamini et al., 2001).

#### **Declaration of interest**

None.

#### **Acknowledgments**

We would like to give a special thanks to the participants and their families. We also thank Marguerite Nolin for her assistance in the recruitment of participants and EEG acquisitions, as well as all team members at the Neurosciences of Early Development Laboratory. Finally, we thank the Neurofibromatosis clinic at CHU Sainte-Justine for their collaboration in the recruitment of participants.

## **Funding**

This work was supported by the Fondation du Grand défi Pierre Lavoie and the Association de la Neurofibromatose du Québec. Eve Lalancette was supported by the CHU Sainte-Justine Foundation and the Fonds de recherche du Québec – Santé (FRQS).

## **CRedit authorship contribution statement**

**Eve Lalancette:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Writing - Original Draft. **Audrey-Rose Charlebois-Poirier:** Investigation, Writing - Review & Editing. **Kristian Agbogba:** Software, Formal analysis. **Inga Sophia Knoth:** Methodology, Data Curation. **Valérie Côté:** Conceptualization, Methodology. **Sébastien Perreault:** Resources, Validation. **Sarah Lippé:** Conceptualization, Resources, Writing - Review & Editing, Supervision, Funding acquisition.

## **References**

- Ali, J. B., Kolesnik, A., Quiroz, I., Mason, L., Garg, S., Green, J., Johnson, M. H., & Jones, E. J. (2020). Early Differences in Auditory Processing Relate to Autism Spectrum Disorder Traits in Infants with Neurofibromatosis Type 1.
- Ammendola, A., Ciccone, G., & Ammendola, E. (2006). Utility of multimodal evoked potentials study in neurofibromatosis type 1 of childhood. *Pediatric Neurology*, *34*(4), 276-280.
- Basirat, A., Dehaene, S., & Dehaene-Lambertz, G. (2014). A hierarchy of cortical responses to sequence violations in three-month-old infants. *Cognition*, *132*(2), 137-150.
- Baudou, E., & Chaix, Y. (2020). The value of screening tests in children with neurofibromatosis type 1 (NF1). *Child's Nervous System*, *36*(10), 2311-2319.  
<https://doi.org/10.1007/s00381-020-04711-6>



- Baudou, E., Nemmi, F., Biotteau, M., Maziero, S., Peran, P., & Chaix, Y. (2020). Can the cognitive phenotype in Neurofibromatosis type 1 (NF1) be explained by neuroimaging? A review. *Frontiers in Neurology*, *10*, 1373.
- Begum-Ali, J., Kolesnik-Taylor, A., Quiroz, I., Mason, L., Garg, S., Green, J., Johnson, M. H., Jones, E. J. H., Holman, R., Kalwarowsky, S., Pirazzoli, L., Taylor, C., Vassallo, G., Burkitt-Wright, E., Eelloo, J., Evans, D. G., West, S., Hupton, E., Lewis, L., . . . Teams, E. (2021). Early differences in auditory processing relate to Autism Spectrum Disorder traits in infants with Neurofibromatosis Type I. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, *13*(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s11689-021-09364-3>
- Benjamini, Y., Drai, D., Elmer, G., Kafkafi, N., & Golani, I. (2001). Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. *Behavioural Brain Research*, *125*(1-2), 279-284.
- Bishop, D. V., Hardiman, M. J., & Barry, J. G. (2011). Is auditory discrimination mature by middle childhood? A study using time-frequency analysis of mismatch responses from 7 years to adulthood. *Developmental science*, *14*(2), 402-416.
- Booth, S. J., Garg, S., Brown, L. J., Green, J., & Taylor, J. R. (2022). Aberrant oscillatory activity in Neurofibromatosis Type 1: An EEG study of resting state and working memory. *medRxiv*.
- Chaloner, F. A., & Cooke, S. F. (2022). Multiple Mechanistically Distinct Timescales of Neocortical Plasticity Occur During Habituation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *16*.
- Chen, T.-C., Hsieh, M. H., Lin, Y.-T., Chan, P.-Y. S., & Cheng, C.-H. (2020). Mismatch negativity to different deviant changes in autism spectrum disorders: A meta-analysis. *Clinical Neurophysiology*, *131*(3), 766-777.
- Cheng, C.-H., Chan, P.-Y. S., Hsieh, Y.-W., & Chen, K.-F. (2016). A meta-analysis of mismatch negativity in children with attention deficit-hyperactivity disorders. *Neuroscience Letters*, *612*, 132-137.
- Costa, R. M., Federov, N. B., Kogan, J. H., Murphy, G. G., Stern, J., Ohno, M., Kucherlapati, R., Jacks, T., & Silva, A. J. (2002). Mechanism for the learning deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Nature*, *415*(6871), 526-530.
- Côté, V., Lalancette, È., Knoth, I. S., Côté, L., Agbogba, K., Vannasing, P., Major, P., Barlaam, F., Michaud, J., & Lippé, S. (2021). Distinct patterns of repetition suppression in

- Fragile X syndrome, down syndrome, tuberous sclerosis complex and mutations in SYNGAP1. *Brain Research*, 1751, 147205.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147205>
- Cui, Y., Costa, R. M., Murphy, G. G., Elgersma, Y., Zhu, Y., Gutmann, D. H., Parada, L. F., Mody, I., & Silva, A. J. (2008). Neurofibromin regulation of ERK signaling modulates GABA release and learning. *Cell*, 135(3), 549-560.
- D'Souza, D., D'Souza, H., Johnson, M. H., & Karmiloff-Smith, A. (2016). Audio-visual speech perception in infants and toddlers with Down syndrome, fragile X syndrome, and Williams syndrome. *Infant Behavior and Development*, 44, 249-262.
- Deguire, F., López-Arango, G., Knoth, I. S., Côté, V., Agbogba, K., & Lippé, S. (2022). Developmental course of the repetition effect and change detection responses from infancy through childhood: a longitudinal study. *Cerebral Cortex*.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhac027>
- Delorme, A., & Makeig, S. (2004). EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 134(1), 9-21.
- Ethridge, L. E., White, S. P., Mosconi, M. W., Wang, J., Byerly, M. J., & Sweeney, J. A. (2016). Reduced habituation of auditory evoked potentials indicate cortical hyper-excitability in Fragile X Syndrome. *Translational Psychiatry*, 6(4), e787-e787.  
<https://doi.org/10.1038/tp.2016.48>
- Evans, D., Howard, E., Giblin, C., Clancy, T., Spencer, H., Huson, S., & Laloo, F. (2010). Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: Estimates from a UK family genetic register service. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 152(2), 327-332.
- Fenckova, M., Blok, L. E., Asztalos, L., Goodman, D. P., Cizek, P., Singgih, E. L., Glennon, J. C., IntHout, J., Zweier, C., & Eichler, E. E. (2019). Habituation Learning is a Widely Affected Mechanism in Drosophila Models of Intellectual Disability and Autism Spectrum Disorders. *Biological Psychiatry*.
- Foxe, J., & Snyder, A. (2011). The Role of Alpha-Band Brain Oscillations as a Sensory Suppression Mechanism during Selective Attention [Review]. *Frontiers in Psychology*, 2.  
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00154>

- Fuentemilla, L., Marco-Pallarés, J., Münte, T., & Grau, C. (2008). Theta EEG oscillatory activity and auditory change detection. *Brain Research, 1220*, 93-101.
- Garrido, M. I., Kilner, J. M., Kiebel, S. J., Stephan, K. E., Baldeweg, T., & Friston, K. J. (2009). Repetition suppression and plasticity in the human brain. *Neuroimage, 48*(1), 269-279.
- Grotheer, M., & Kovács, G. (2016). Can predictive coding explain repetition suppression? *Cortex, 80*, 113-124. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cortex.2015.11.027>
- Hachon-Le Camus, C., Iannuzzi, S., Béraud-Majorel, C., & Chaix, Y. (2012). Phénotype cognitif des enfants atteints de neurofibromatose de type 1. Revue de la littérature. *Développements, 10*(1), 37-44. <https://doi.org/10.3917/devel.010.0037>
- Hayden, D. J., Montgomery, D. P., Cooke, S. F., & Bear, M. F. (2021). Visual recognition is heralded by shifts in local field potential oscillations and inhibitory networks in primary visual cortex. *Journal of Neuroscience, 41*(29), 6257-6272.
- Hong, L. E., Moran, L. V., Du, X., O'Donnell, P., & Summerfelt, A. (2012). Mismatch negativity and low frequency oscillations in schizophrenia families. *Clinical Neurophysiology, 123*(10), 1980-1988. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clinph.2012.03.011>
- Hsiao, F.-J., Wu, Z.-A., Ho, L.-T., & Lin, Y.-Y. (2009). Theta oscillation during auditory change detection: an MEG study. *Biological Psychology, 81*(1), 58-66.
- Hsu, Y.-F., Hämäläinen, J. A., & Waszak, F. (2014). Repetition suppression comprises both attention-independent and attention-dependent processes. *Neuroimage, 98*, 168-175. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.04.084>
- Hyman, S. L., Shores, A., & North, K. N. (2005). The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. *Neurology, 65*(7), 1037-1044.
- Institut de la statistique du Québec. (2022, December 20). *Revenu médian et revenu moyen des ménages et des particuliers de 16 ans et plus, Québec*. Gouvernement du Québec. Retrieved 2023, May 14 from <https://statistique.quebec.ca/>
- Jensen, O., & Mazaheri, A. (2010). Shaping functional architecture by oscillatory alpha activity: gating by inhibition. *Frontiers in Human Neuroscience, 4*, 186.
- Kaczorowski, J. A., Smith, T. F., Shrewsbury, A. M., Thomas, L. R., Knopik, V. S., & Acosta, M. T. (2020). Neurofibromatosis type 1 implicates Ras pathways in the genetic architecture of neurodevelopmental disorders. *Behavior Genetics, 50*(4), 191-202.

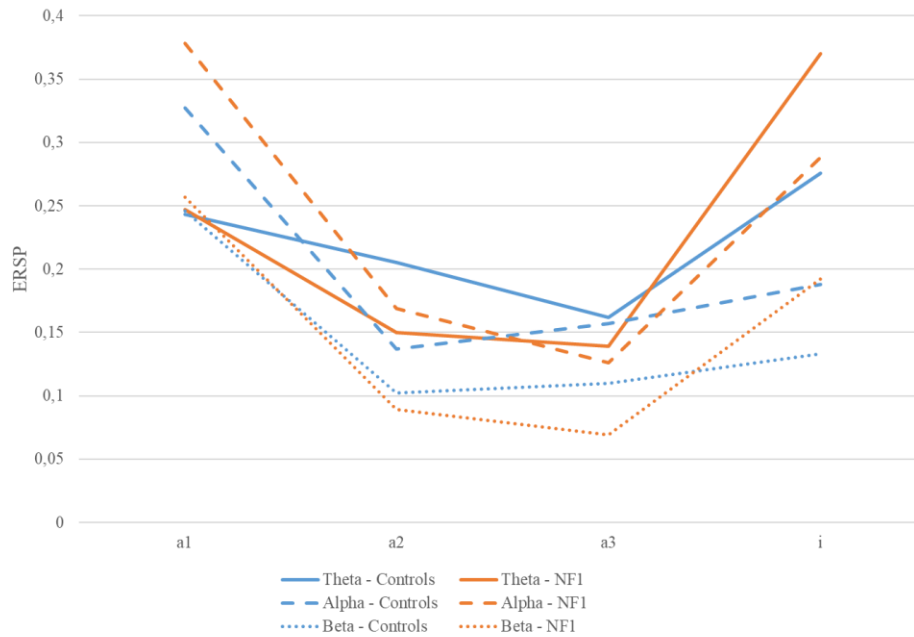
- Knoth, I. S., Lajnef, T., Rigoulot, S., Lacourse, K., Vannasing, P., Michaud, J. L., Jacquemont, S., Major, P., Jerbi, K., & Lippé, S. (2018). Auditory repetition suppression alterations in relation to cognitive functioning in fragile X syndrome: a combined EEG and machine learning approach. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, *10*(1), 4.
- Knowles, S. J., Stafford, A. M., Zaman, T., Angara, K., Williams, M. R., Newbern, J. M., & Vogt, D. (2023). Distinct hyperactive RAS/MAPK alleles converge on common GABAergic interneuron core programs. *Development*, dev. 201371.
- Lachaux, J. P., Rodriguez, E., Martinerie, J., & Varela, F. J. (1999). Measuring phase synchrony in brain signals. *Human Brain Mapping*, *8*(4), 194-208.
- Lacroix, A., Proteau-Lemieux, M., Côté, S., Near, J., Hui, S. C. N., Edden, R. A. E., Lippé, S., Çaku, A., Corbin, F., & Lepage, J. F. (2022). Multimodal assessment of the GABA system in patients with fragile-X syndrome and neurofibromatosis of type 1. *Neurobiology of Disease*, *174*, 105881. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105881>
- Lalancette, E., Charlebois-Poirier, A.-R., Agbogba, K., Knoth, I. S., Jones, E. J. H., Mason, L., Perreault, S., & Lippé, S. (2022). Steady-state visual evoked potentials in children with neurofibromatosis type 1: associations with behavioral rating scales and impact of psychostimulant medication. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, *14*(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s11689-022-09452-y>
- Lammert, M., Friedman, J. M., Kluwe, L., & Mautner, V. F. (2005). Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrollment. *Archives of Dermatology*, *141*(1), 71-74.
- Legius, E., Messiaen, L., Wolkenstein, P., Pancza, P., Avery, R. A., Berman, Y., Blakeley, J., Babovic-Vuksanovic, D., Cunha, K. S., Ferner, R., Fisher, M. J., Friedman, J. M., Gutmann, D. H., Kehrer-Sawatzki, H., Korf, B. R., Mautner, V.-F., Peltonen, S., Rauen, K. A., Riccardi, V., . . . International Consensus Group on Neurofibromatosis Diagnostic, C. (2021). Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genetics in Medicine*. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01170-5>
- Lehtonen, A., Garg, S., Roberts, S. A., Trump, D., Evans, D. G., Green, J., & Huson, S. M. (2015). Cognition in children with neurofibromatosis type 1: data from a population-based study. *Developmental Medicine and Child Neurology*, *57*(7), 645-651.

- Levine, T. M., Materek, A., Abel, J., O'Donnell, M., & Cutting, L. E. (2006). Cognitive Profile of Neurofibromatosis Type 1. *Seminars in Pediatric Neurology*, *13*(1), 8-20.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.spen.2006.01.006>
- López-Arango, G., Deguire, F., Côté, V., Barlaam, F., Agbogba, K., Knoth, I. S., & Lippé, S. (2021). Infant repetition effects and change detection: Are they related to adaptive skills? *European Journal of Neuroscience*, *54*(9), 7193-7213.
- Luck, S. J. (2014). *An introduction to the event-related potential technique*. MIT press.
- Makeig, S., Debener, S., Onton, J., & Delorme, A. (2004). Mining event-related brain dynamics. *Trends in Cognitive Sciences*, *8*(5), 204-210.
- Monroe, C. L., Dahiya, S., & Gutmann, D. H. (2017). Dissecting clinical heterogeneity in neurofibromatosis type 1. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, *12*, 53-74.
- Morris, S. M., Acosta, M. T., Garg, S., Green, J., Huson, S., Legius, E., North, K. N., Payne, J. M., Plasschaert, E., & Frazier, T. W. (2016). Disease burden and symptom structure of autism in neurofibromatosis type 1: a study of the International NF1-ASD Consortium Team (INFACT). *Jama Psychiatry*, *73*(12), 1276-1284.
- Näätänen, R., Jacobsen, T., & Winkler, I. (2005). Memory-based or afferent processes in mismatch negativity (MMN): A review of the evidence. *Psychophysiology*, *42*(1), 25-32.
- Näätänen, R., S. Sussman, E., Salisbury, D., & L. Shafer, V. (2014). Mismatch Negativity (MMN) as an Index of Cognitive Dysfunction. *Brain Topography*, *27*(4), 451-466.  
<https://doi.org/10.1007/s10548-014-0374-6>
- Payne, L., & Sekuler, R. (2014). The importance of ignoring: Alpha oscillations protect selectivity. *Current directions in psychological science*, *23*(3), 171-177.
- Pobric, G., Taylor, J. R., Ramalingam, H. M., Pye, E., Robinson, L., Vassallo, G., Jung, J., Bhandary, M., Szumanska-Ryt, K., Theodosiou, L., Evans, D. G., Eelloo, J., Burkitt-Wright, E., Hulleman, J., Green, J., & Garg, S. (2022). Cognitive and Electrophysiological Correlates of Working Memory Impairments in Neurofibromatosis Type 1. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, *52*(4), 1478-1494.  
<https://doi.org/10.1007/s10803-021-05043-3>

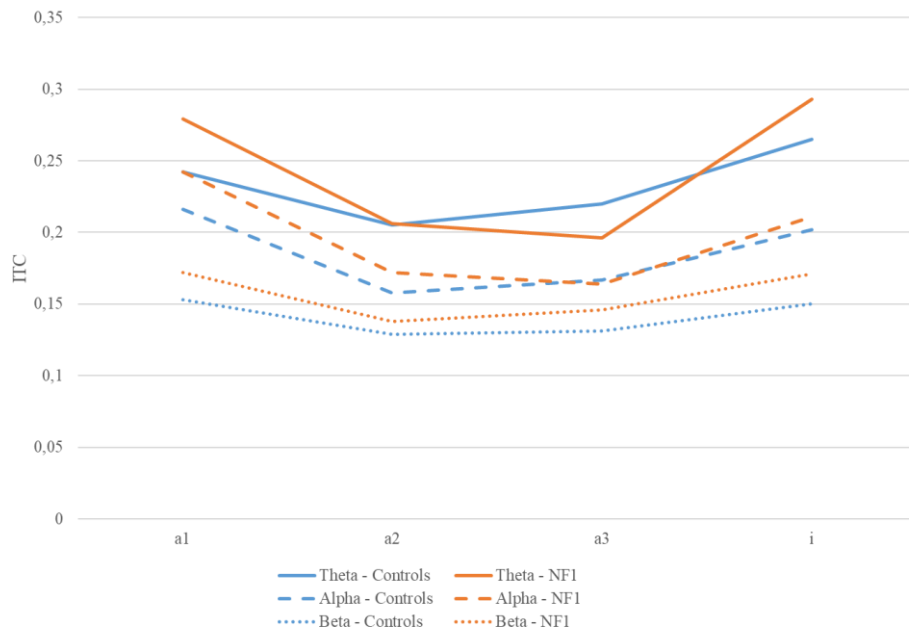
- Ressel, V., Wilke, M., Lidzba, K., Lutzenberger, W., & Krägeloh-Mann, I. (2008). Increases in language lateralization in normal children as observed using magnetoencephalography. *Brain and Language, 106*(3), 167-176.
- Ribeiro, M. J., d'Almeida, O. C., Ramos, F., Saraiva, J., Silva, E. D., & Castelo-Branco, M. (2014). Abnormal late visual responses and alpha oscillations in neurofibromatosis type 1: a link to visual and attention deficits. *Journal of Neurodevelopmental Disorders, 6*(1), 4.
- Ribeiro, M. J., Violante, I. R., Bernardino, I., Edden, R. A., & Castelo-Branco, M. (2015). Abnormal relationship between GABA, neurophysiology and impulsive behavior in neurofibromatosis type 1. *Cortex, 64*, 194-208.
- Rigoulot, S., Delplanque, S., Desprez, P., Defoort-Dhellemmes, S., Honoré, J., & Sequeira, H. (2008). Peripherally presented emotional scenes: a spatiotemporal analysis of early ERP responses. *Brain Topography, 20*(4), 216-223.
- Rigoulot, S., Knoth, I. S., Lafontaine, M.-P., Vannasing, P., Major, P., Jacquemont, S., Michaud, J. L., Jerbi, K., & Lippé, S. (2017). Altered visual repetition suppression in Fragile X Syndrome: New evidence from ERPs and oscillatory activity. *International Journal of Developmental Neuroscience, 59*, 52-59.
- Ross, J. M., & Hamm, J. P. (2020). Cortical microcircuit mechanisms of mismatch negativity and its underlying subcomponents. *Frontiers in Neural Circuits, 14*, 13.
- Shilyansky, C., Karlsgodt, K. H., Cummings, D. M., Sidiropoulou, K., Hardt, M., James, A. S., Ehninger, D., Bearden, C. E., Poirazi, P., & Jentsch, J. D. (2010). Neurofibromin regulates corticostriatal inhibitory networks during working memory performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 107*(29), 13141-13146.
- Silva, G., Ribeiro, M. J., Costa, G. N., Violante, I., Ramos, F., Saraiva, J., & Castelo-Branco, M. (2016). Peripheral attentional targets under covert attention lead to paradoxically enhanced alpha desynchronization in neurofibromatosis type 1. *PloS One, 11*(2), e0148600.
- Smith, T. F., Kaczorowski, J. A., & Acosta, M. T. (2020). An executive functioning perspective in neurofibromatosis type 1: from ADHD and autism spectrum disorder to research domains. *Child's Nervous System, 36*(10), 2321-2332.

- Spencer, K. M., Dien, J., & Donchin, E. (2001). Spatiotemporal analysis of the late ERP responses to deviant stimuli. *Psychophysiology*, *38*(2), 343-358.
- Spironelli, C., & Angrilli, A. (2010). Developmental aspects of language lateralization in delta, theta, alpha and beta EEG bands. *Biological Psychology*, *85*(2), 258-267.
- Summerfield, C., Trittschuh, E. H., Monti, J. M., Mesulam, M.-M., & Egner, T. (2008). Neural repetition suppression reflects fulfilled perceptual expectations. *Nature Neuroscience*, *11*(9), 1004-1006.
- Tallon-Baudry, C., & Bertrand, O. (1999). Oscillatory gamma activity in humans and its role in object representation. *Trends in Cognitive Sciences*, *3*(4), 151-162.
- Torres Nupan, M. M., Velez Van Meerbeke, A., López Cabra, C. A., & Herrera Gomez, P. M. (2017). Cognitive and behavioral disorders in children with neurofibromatosis type 1. *Frontiers in Pediatrics*, *5*, 227.
- Violante, I. R., Patricio, M., Bernardino, I., Rebola, J., Abrunhosa, A. J., Ferreira, N., & Castelo-Branco, M. (2016). GABA deficiency in NF1: a multimodal [11C]-flumazenil and spectroscopy study. *Neurology*, *87*(9), 897-904.
- Vogel, A. C., Gutmann, D. H., & Morris, S. M. (2017). Neurodevelopmental disorders in children with neurofibromatosis type 1. *Developmental Medicine and Child Neurology*, *59*(11), 1112-1116.
- Weisz, N., Müller, N., Jatzev, S., & Bertrand, O. (2013). Oscillatory Alpha Modulations in Right Auditory Regions Reflect the Validity of Acoustic Cues in an Auditory Spatial Attention Task. *Cerebral Cortex*, *24*(10), 2579-2590. <https://doi.org/10.1093/cercor/bht113>
- Wolman, M. A., de Groh, E. D., McBride, S. M., Jongens, T. A., Granato, M., & Epstein, J. A. (2014). Modulation of cAMP and ras signaling pathways improves distinct behavioral deficits in a zebrafish model of neurofibromatosis type 1. *Cell Reports*, *8*(5), 1265-1270.
- Yerdelen, D., Koc, F., Durdu, M., & Karakas, M. (2011). Electrophysiological findings in neurofibromatosis type 1. *Journal of the Neurological Sciences*, *306*(1), 42-48.

## Appendix A. Supplementary data



Additional figure 1. Mean event-related spectral perturbation (ERSP) variations in response to the entire sequence (/a1/a2/a3/i/) for each time-frequency window (TFW) in each group.



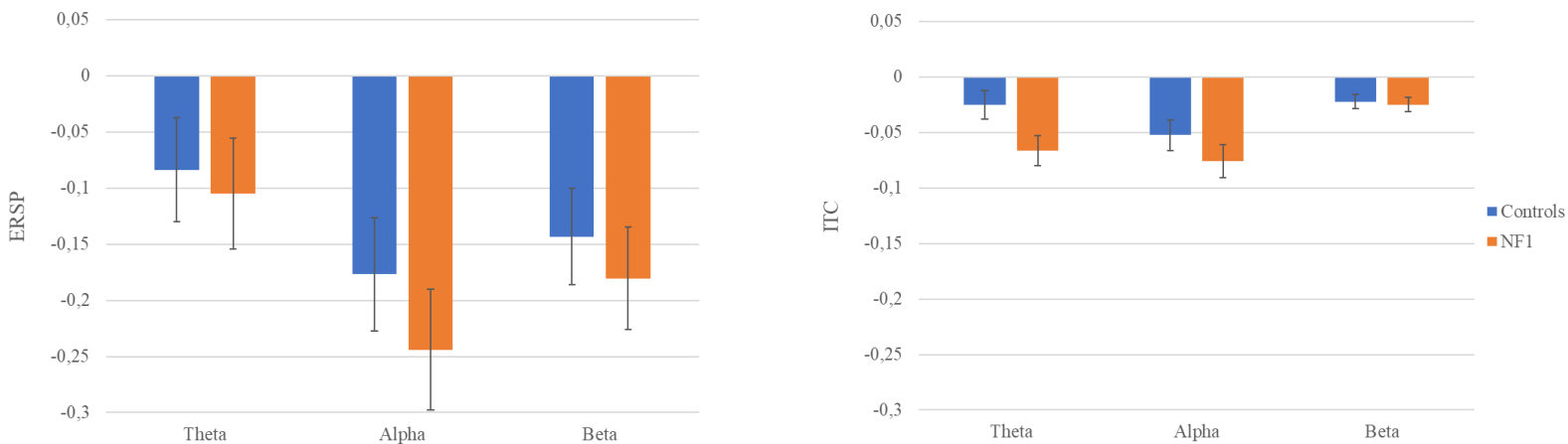
Additional figure 2. Figure 1. Mean intertrial coherence (ITC) variations in response to the entire sequence (/a1/a2/a3/i/) for each time-frequency window (TFW) in each group.



	<b>F (df)</b>	<b>p-value</b>	<b>partial <math>\eta^2</math></b>
<b>Basic auditory response (Standard 1)</b>			
<b>ERSP</b>	$F(1, 74) = 12.53$	$p = 0.001$	partial $\eta^2 = 0.14$
<b>ITC</b>	$F(1, 74) = 16.95$	$p = 0.0001$	partial $\eta^2 = 0.19$
<b>Repetition suppression (Standard 2 – Standard 1)</b>			
<b>ERSP</b>	$F(1, 74) = 6.69$	$p = 0.01$	partial $\eta^2 = 0.08$
<b>ITC</b>	$F(1, 74) = 16.80$	$p = 0.0001$	partial $\eta^2 = 0.19$
<b>Change detection (Deviant – Standards)</b>			
<b>ERSP</b>	$F(1, 74) = 4.78$	$p = 0.032$	partial $\eta^2 = 0.06$
<b>ITC</b>	$F(1, 74) = 6.72$	$p = 0.011$	partial $\eta^2 = 0.08$

Additional table 1. Effect of the covariate age in each mixed-design ANCOVA performed in the main analyses, with time-frequency window (TFW; theta, alpha, beta) as a within-subjects factor, and group (NF1, controls) as a between-subjects factor.

Abbreviations: ERSP, event-related spectral perturbation; ITC, inter-trial coherence.



Additional figure 3. RS: Difference in event-related spectral perturbation (ERSP; on the left) and intertrial coherence (ITC; on the right) adjusted means (with standard errors as error bars) between Standard 3 and Standard 1 for each time-frequency window (TFW) by group.

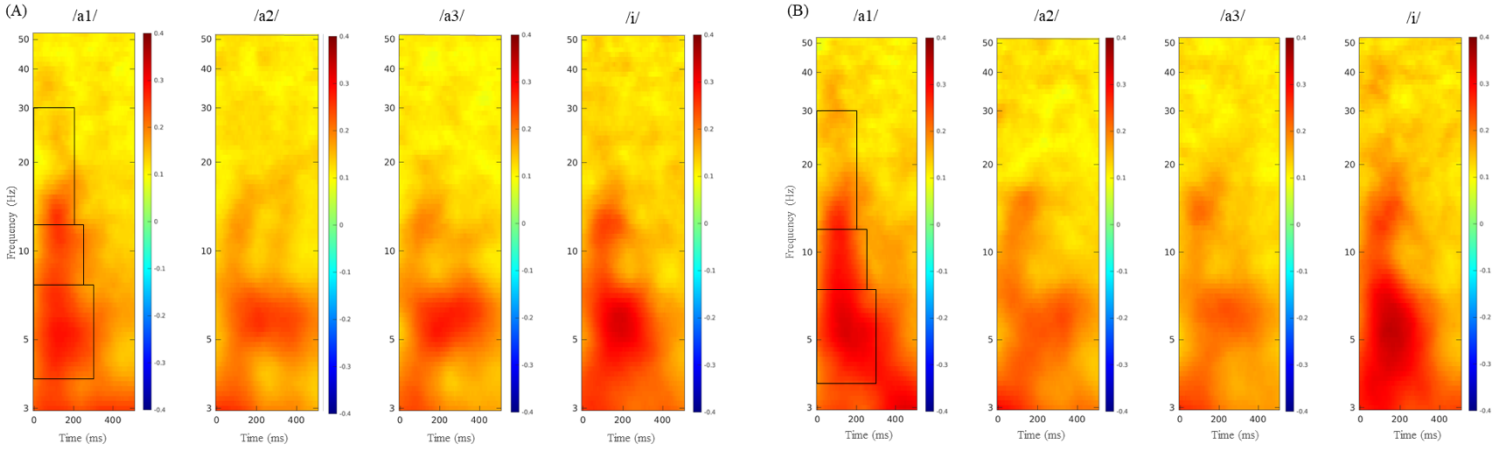
No group differences were found on the RS response between Standard 3 and Standard 1 for both ERSP ( $F(1, 74) = 0.79$ ,  $p = 0.38$ , partial  $\eta^2 = 0.011$ ) and ITC measures ( $F(1, 74) = 3.45$ ,  $p = 0.07$ , partial  $\eta^2 = 0.05$ ).

	NF1 group			Control group		
	ERSP measures of change detection					
	Theta	Alpha	Beta	Theta	Alpha	Beta
<b>IQ</b>	0.07	0.03	0.002	0.18	-0.04	-0.03
<b>Conners 3 Inattention Scale</b>	-0.24	-0.47*	-0.04	-0.12	-0.51** <sup>t</sup>	-0.05
<b>Conners 3 Hyperactivity Scale</b>	-0.43*	-0.52** <sup>t</sup>	-0.22	-0.21	-0.19	-0.11
<b>SRS-2 Total Score</b>	-0.11	-0.13	0.05	-0.08	-0.26	0.02
<b>CBCL Total Problems</b>	-0.03	-0.08	0.04	-0.25	-0.34*	-0.23

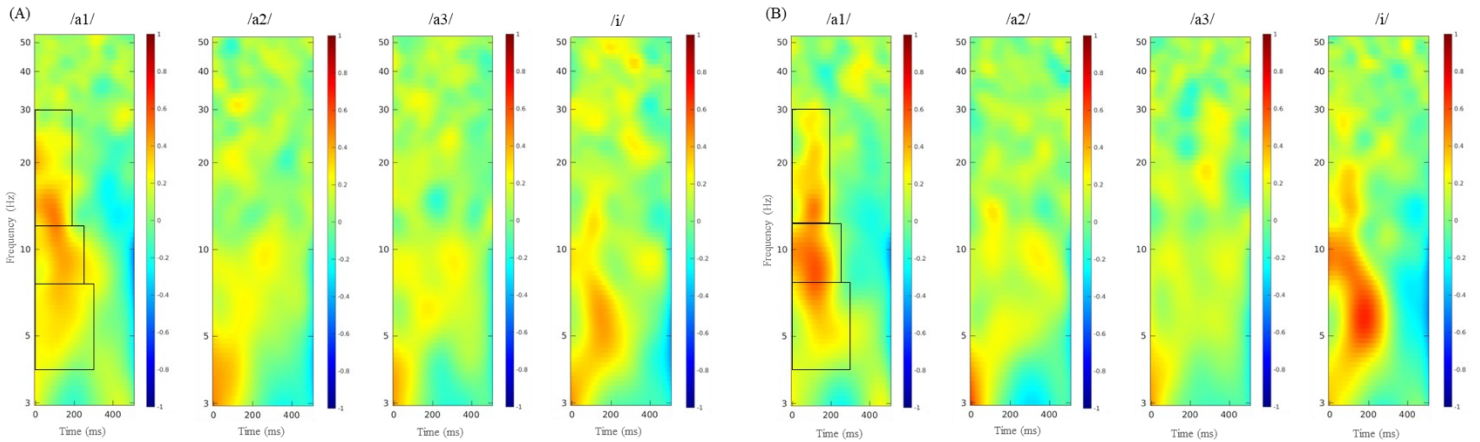
Additional table 2. Pearson correlations between ERSP measures of change detection in each TFW and measures of intellectual functioning and behavioral symptoms in each group.

*Abbreviations: ERSP, event-related spectral perturbation; TFW, time-frequency window; NF1, neurofibromatosis type 1; Conners 3, Conners 3rd edition; SRS-2, Social Responsiveness Scale 2nd edition; CBCL, Child Behavior Checklist; IQ, intellectual quotient.*

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .  $t$  = trend toward significance after FDR correction ( $0.05 < p < 0.09$ )



Additional figure 4. Averaged intertrial coherence (ITC) maps for each stimulus presentation (/a1/a2/a3/i/) in the control group (A) and NF1 group (B) illustrating the selected time-frequency windows: theta (4-8 Hz, 0-300 ms), alpha (8-12 Hz, 0-250 ms), beta (12-30 Hz, 0-200 ms).



Additional figure 5. Averaged event-related spectral perturbation (ERSP) maps for each stimulus presentation (/a1/a2/a3/i/) in the control group (A) and NF1 group (B) illustrating the selected time-frequency windows: theta (4-8 Hz, 0-300 ms), alpha (8-12 Hz, 0-250 ms), beta (12-30 Hz, 0-200 ms).

## **Chapitre III : Discussion**

### **1. Résumé et retour sur les principaux résultats**

L'objectif général de cette thèse était d'étudier l'activité électroencéphalographique chez les enfants atteints de la NF1 afin d'évaluer l'intégrité de mécanismes neuronaux de base du traitement sensoriel. Le premier article de la thèse avait pour objectif d'étudier la réponse de synchronisation neuronale lors de stimulations visuelles périodiques, alors que le second article visait à évaluer la réponse de suppression neuronale et de détection du changement. L'intérêt d'étudier de tels mécanismes neuronaux dans la NF1 émerge entre autres des recherches animales ayant démontré une perturbation de la neurotransmission GABAergique et dopaminergique ainsi qu'une atteinte de la plasticité synaptique découlant de l'hyperactivité Ras (Kaczorowski et al., 2020; Miller & Halloran, 2022; Shilyansky et al., 2010b). Les répercussions de ces déséquilibres sur l'activité cérébrale chez les individus ayant la NF1 demeurent peu comprises à ce jour. L'intérêt d'étudier la synchronisation neuronale, la suppression neuronale et la détection du changement dans ce syndrome génétique réside également dans la recherche de marqueurs physiologiques des atteintes répertoriées sur le plan cognitif et comportemental. En ce sens, l'objectif secondaire des deux articles de la thèse était de déterminer si les particularités relevées dans l'activité neuronale sont associées au phénotype cognitif et comportemental chez les enfants ayant la NF1. Un troisième objectif exploratoire de la thèse était de décrire l'impact de la médication psychostimulante sur les réponses neuronales étudiées.

La discussion qui suit présentera d'abord un survol des principaux résultats obtenus dans chacun des articles. Ensuite, les considérations théoriques permettant de faire des liens entre les résultats de la thèse et les données des études récentes seront abordées. S'en suivront les considérations méthodologiques permettant de soulever les forces et limites découlant des choix méthodologiques dans chacun des articles. Une réflexion sur les répercussions possibles de la thèse sur le plan clinique sera ensuite présentée, avant de clore avec les limites de la thèse, les directions futures dans ce domaine de recherche et la conclusion générale de la thèse.

#### **1.1 Retour sur les résultats de l'article 1**

L'article 1 s'est penché sur le phénomène de synchronisation neuronale lors de stimulations visuelles de différentes fréquences, également connu sous le nom de réponse SSVEP. L'objectif était de déterminer si des altérations sont présentes dans la réponse SSVEP

chez le groupe d'enfants ayant la NF1. Conformément à notre hypothèse initiale, une réduction de la puissance de la réponse SSVEP a été observée, particulièrement dans la condition de stimulation à 15 Hz. Ce résultat est à mettre en lien avec les atteintes neurochimiques (Lacroix et al., 2022; Violante et al., 2013b) et fonctionnelles (Bulgheroni et al., 2019; Clements-Stephens et al., 2008; Violante et al., 2012) du cortex visuel identifiées dans la population NF1. Ensuite, les résultats ont démontré une réduction de la réponse SSVEP plus importante dans le sous-groupe d'enfants ayant un diagnostic de TDAH comorbide à la NF1. Dans le même sens, des corrélations significatives ont été observées avec les symptômes comportementaux du TDAH, indiquant qu'une plus faible réponse SSVEP est associée à une symptomatologie accrue. Enfin, les analyses ont révélé une amélioration de la réponse de synchronisation neuronale avec la prise de médication psychostimulante, spécifiquement à la plus basse fréquence de stimulation (*c.-à-d.*, 6Hz).

Globalement, ces résultats indiquent une atteinte du mécanisme de synchronisation neuronale en stimulation visuelle dans la NF1, lequel apparaît d'autant plus atteint chez les enfants présentant un profil clinique ou comportemental compatible avec la présence d'un TDAH comorbide. La réponse de synchronisation neuronale (ou réponse SSVEP) serait donc une mesure à investiguer davantage dans la NF1 et qui pourrait nous aider à comprendre les bases neurobiologiques des déficits visuo-perceptifs et attentionnels qui sont fréquents dans ce syndrome génétique. La réponse de synchronisation neuronale pourrait également représenter une mesure sensible à des traitements pharmacologiques visant l'amélioration du fonctionnement cognitif, particulièrement pour la médication agissant sur les circuits dopaminergiques.

## **1.2 Retour sur les résultats de l'article 2**

Dans l'article 2, l'objectif était d'évaluer l'intégrité du mécanisme de suppression neuronale et de détection du changement chez les enfants ayant la NF1. Une atteinte de ces mécanismes était attendue étant donné les déficits d'habituation identifiées dans les modèles animaux de NF1 (Fenckova et al., 2019; Wolman et al., 2014) ainsi que dans d'autres syndromes génétiques associés à des troubles du neurodéveloppement (Côté et al., 2021; Knoth et al., 2018; Rigoulot et al., 2017). Les résultats de l'article 2 ont infirmé l'hypothèse initiale en ce qui a trait à la suppression neuronale, en révélant une variation normale des oscillations cérébrales, dans les bandes de fréquences thêta, alpha et bêta, en réponse à la répétition des stimuli audio-visuels. En

effet, la diminution de puissance et de synchronisation des oscillations cérébrales au fil de la répétition des stimuli standards s'est avérée équivalente entre le groupe NF1 et le groupe contrôle. Ces résultats indiquent donc un mécanisme de suppression neuronale préservé dans le groupe d'enfants ayant la NF1, lors de cette tâche d'apprentissage d'une séquence de voyelles.

Une variation atypique des oscillations cérébrales a toutefois été observée en ce qui a trait à la réponse de détection du changement. Dans le groupe d'enfants atteints de la NF1, la présentation du stimulus déviant dans la séquence de voyelles a généré une augmentation de la puissance spectrale supérieure à celle du groupe d'enfants neurotypiques, particulièrement dans la bande de fréquence thêta. Ce résultat indique donc une réponse accrue au stimulus déviant dans le groupe NF1. Les résultats ont démontré qu'il est peu probable que cette réponse accrue soit due à un profil d'hyperexcitabilité dans la NF1 étant donné la réponse au premier stimulus standard qui est équivalente entre les deux groupes. Cette augmentation de la réponse au stimulus déviant est à mettre en lien avec la perturbation des circuits GABAergiques et l'altération des mécanismes d'inhibition, dont il sera question plus en détails dans la section 2.1. Les analyses corrélationnelles ont révélé que les symptômes comportementaux du TDAH sont associés à une plus faible puissance des oscillations alpha dans la réponse de détection du changement. Cette association entre les oscillations alpha et les symptômes du TDAH est intéressante étant donné le rôle connu de la bande de fréquences alpha dans la modulation de l'attention et du contrôle inhibiteur (Foxye & Snyder, 2011; Jensen & Mazaheri, 2010; Payne & Sekuler, 2014). Toutefois, contrairement aux résultats obtenus dans l'article 1 sur la réponse de synchronisation neuronale, la présence d'un TDAH comorbide ne semble pas contribuer à la différence observée entre les groupes NF1 et contrôle. La puissance accrue des oscillations cérébrales dans la réponse de détection du changement serait donc plus spécifique au diagnostic de NF1. Les possibles liens avec les altérations neurochimiques sous-jacentes et avec le fonctionnement cognitif dans la NF1 demeurent à établir et seront discutés dans la section qui suit.

## 2. Considérations théoriques

### 2.1 Liens avec les altérations neurochimiques dans la NF1

L'hypothèse d'un déséquilibre dans la dynamique d'excitation-inhibition neuronale demeure centrale pour expliquer les déficits cognitifs dans la NF1 (Miller & Halloran, 2022). Pour tester cette hypothèse dans un modèle de souris *Nf1*<sup>+/-</sup>, Gonçalves et al. (2017) ont évalué deux composantes importantes de l'équilibre excitation-inhibition, soit la concentration de neurotransmetteurs (ratio GABA/glutamate) et les niveaux de récepteurs GABA<sub>A</sub>, dans l'hippocampe, le striatum et le cortex préfrontal. Leurs résultats ont démontré une augmentation du ratio GABA/glutamate dans le cortex et le striatum, alors qu'une expression accrue des récepteurs GABA<sub>A</sub> a été trouvée au niveau post-synaptique dans l'hippocampe. L'augmentation de l'activité inhibitrice a donc été confirmée et associée à des mécanismes physiologiques distincts selon les régions (Gonçalves et al., 2017). Afin de mieux comprendre comment les mutations du gène NF1 affectent spécifiquement les neurones inhibiteurs dans le système nerveux central, Ryu et al. (2019) ont comparé le niveau d'expression du gène NF1 dans les neurones excitateurs et inhibiteurs, chez la souris et chez l'humain. Leurs résultats ont démontré que l'expression du gène NF1 est enrichie dans les neurones inhibiteurs spécifiquement, tant dans le cortex de souris que chez l'humain. Cela suggère que l'expression différentielle du gène NF1 est conservée à travers les espèces et que le rôle attribué à l'hyper-inhibition GABAergique pour expliquer les déficits cognitifs dans les modèles de souris pourrait être transposé chez l'humain.

Cela dit, les données accumulées chez l'humain en ce qui a trait à l'activité inhibitrice des neurones GABAergiques demeurent pour l'instant difficilement réconciliables avec les données issues des modèles animaux. En effet, les études récentes indiquent plutôt une activité réduite du système GABAergique dans le cortex humain, que ce soit par les mesures du niveau de concentration de GABA (Lacroix et al., 2022; Ribeiro et al., 2015; Violante et al., 2013b), de la liaison aux récepteurs GABA<sub>A</sub> (Violante et al., 2016) ou de la fonction des récepteurs GABA<sub>B</sub> post-synaptiques (Lacroix et al., 2022). La perturbation de l'activité GABAergique, bien que sa nature exacte demeure à préciser, demeure malgré tout une piste intéressante pour interpréter les résultats obtenus dans cette thèse considérant le rôle crucial des interneurons GABAergiques dans la génération d'oscillations cérébrales (Xing, 2016). L'inhibition GABAergique permettrait

un contrôle précis de la synchronisation des réseaux neuronaux et contribuerait ainsi à générer des oscillations rythmiques (Tang et al., 2021). Différents sous-types d'interneurons GABAergiques ont d'ailleurs été associés à l'activité de différentes bandes de fréquence. Par exemple, dans le cortex visuel primaire de souris, l'activation des interneurons à somatostatine (SST) entraînent préférentiellement les oscillations beta (15-30 Hz) alors que l'activation des interneurons à parvalbumine (PV) est plutôt associée aux oscillations gamma (30-80 Hz) (Chen et al., 2017). Dans l'article 1 de cette thèse, la diminution de puissance de la réponse de synchronisation neuronale, particulièrement lors de la stimulation visuelle à 15 Hz, pourrait être en lien avec un débalancement dans l'activité de ces différents interneurons. Une étude très récente a d'ailleurs relevé un débalancement dans le ratio d'interneurons SST et PV, qui représentent environ 70% de l'ensemble des neurones GABAergiques du cortex, en lien avec la mutation du gène NF1 (Knowles et al., 2023). Un lien intéressant est aussi à établir avec les résultats de l'article 2, ayant révélé une réponse préservée de suppression neuronale mais une réponse atypique en ce qui a trait à la détection du changement dans le groupe d'enfants ayant la NF1. Les interneurons SST et PV ont attiré l'attention dans les études des dernières années sur l'habituation et la détection du changement et seraient impliquées de manière distincte dans ces deux mécanismes (Chaloner & Cooke, 2022; Hayden et al., 2021; Ross & Hamm, 2020). Une meilleure compréhension de la dynamique de ces sous-types d'interneurons dans la NF1 pourrait donc contribuer à expliquer les résultats distincts obtenus sur le plan de la suppression neuronale et de la détection du changement.

Le résultat de l'article 1 concernant l'impact de la médication psychostimulante sur la réponse de synchronisation neuronale permet également d'établir un lien intéressant avec un autre système de neurotransmission atteint dans la NF1, soit le système dopaminergique. Des niveaux réduits de dopamine ont été identifiés dans le cerveau de souris Nf1 génétiquement modifiées et associés aux déficits d'apprentissage ainsi qu'aux dysfonctions du système attentionnel (Anastasaki et al., 2015; Brown et al., 2010a; Costa et al., 2002; Diggs-Andrews et al., 2013). Chez les patients atteints de la NF1, quelques études ont démontré l'efficacité clinique de la médication psychostimulante, agissant entre autres sur le système dopaminergique, pour réduire les symptômes associés au TDAH (Lion-François et al., 2014; Mautner et al., 2002). Cela dit, davantage de données sont nécessaires pour bien comprendre le fonctionnement du système dopaminergique chez les enfants ayant la NF1 et l'impact de la médication psychostimulante sur



l'activité neuronale dans cette population. En ce sens, le résultat de l'article 1, rapportant une amélioration de la synchronisation neuronale avec la médication psychostimulante dans la condition de stimulation visuelle à 6 Hz, représente une piste à explorer davantage. En effet, ce résultat suggère que la réponse de synchronisation neuronale, du moins dans les plus basses fréquences, est sensible au mécanisme d'action de la médication psychostimulante et au renforcement de la connectivité des réseaux attentionnels qui en découle (Mueller et al., 2014). Une prudence est toutefois de mise dans l'interprétation de ce résultat étant donné que les analyses ont été effectuées sur un petit sous-groupe de notre échantillon NF1 et demeurent donc préliminaires.

## **2.2 Liens avec les résultats obtenus dans d'autres syndromes génétiques**

Les mesures EEG étudiées dans les articles de cette thèse ont également fait l'objet d'études dans d'autres syndromes génétiques associés à des troubles du neurodéveloppement. Plusieurs de ces études cherchent à déterminer si les mesures électrophysiologiques du traitement sensoriel peuvent servir d'outils translationnels et être utilisées de manière fiable dans les essais cliniques. Par exemple, une récente étude sur les mutations *SYNGAPI* s'est penchée sur différentes mesures EEG du traitement visuel et auditif enregistrées à la fois dans les modèles de souris ainsi que chez les humains atteints de cette condition génétique (Carreño-Muñoz et al., 2021). Les mutations dans le gène *SYNGAPI*, tout comme les mutations du gène NF1, mènent à une dérégulation de la voie Ras, une voie cellulaire importante dans certaines formes de plasticité synaptique qui sous-tendent l'apprentissage (Berryer et al., 2013; Xing, 2016). Ces deux conditions génétiques partagent donc des atteintes sur le plan cellulaire et moléculaire, qui peuvent contribuer aux déficits cognitifs qui en découlent. Dans le cas de *SYNGAPI*, les mutations causent une déficience intellectuelle et représenteraient en fait une des formes les plus fréquentes de déficience intellectuelle non syndromique (Hamdan et al., 2009). Les mutations *SYNGAPI* sont également associées au TSA ainsi qu'à une forme d'épilepsie. L'étude du traitement sensoriel dans les modèles de souris *SYNGAPI* a révélé des altérations qui sont à mettre en lien avec les résultats obtenus dans cette thèse auprès de la population NF1. En effet, l'étude Carreño-Muñoz et al. (2021) a entre autres révélé des atypies dans la réponse d'entraînement neuronal lors de stimulations visuelles ainsi que dans la réponse de détection d'un stimulus auditif déviant (détection du changement). Un déficit des circuits GABAergiques a été identifié comme une potentielle contribution à ces altérations sensorielles étant donné

l'expression de la protéine *SYNGAPI* dans au moins une sous-population d'interneurones GABAergiques (Carreño-Muñoz et al., 2021; Xing, 2016).

L'une des mesures dont le potentiel translationnel apparaît robuste dans la mutation *SYNGAPI*, ainsi que dans d'autres syndromes génétiques, est la mesure de suppression neuronale. L'article 2 de cette thèse a toutefois révélé une réponse de suppression neuronale équivalente entre notre échantillon d'enfants ayant la NF1 et d'enfants neurotypiques. Ce résultat a donc infirmé notre hypothèse initiale basée entre autres sur les données des modèles animaux de NF1 ayant identifié un déficit des mécanismes d'habituation (Fenckova et al., 2019; Wolman et al., 2014). Le type de stimulation utilisée pour générer une réponse de suppression neuronale, soit la répétition de stimuli standards simples (*c.-à-d.*, la voyelle /a/) présentés simultanément dans les modalités visuelle et auditive, a pu contribuer aux résultats obtenus. Cette tâche a été développée dans un projet récent mené par notre groupe de recherche qui avait pour but de comparer le patron de suppression neuronale entre différents syndromes génétiques associés à la déficience intellectuelle et au TSA, soit le syndrome X Fragile, le syndrome de Down, la sclérose tubéreuse de Bourneville et les mutations *SYNGAPI* (Côté et al., 2021). Les résultats ont révélé une suppression efficace de l'activité neuronale dans les groupes de participants atteints du syndrome X Fragile et du syndrome de Down, ce qui était inattendu considérant les résultats des études antérieures. Il a été proposé que l'aspect multisensoriel de la tâche, avec la présentation de visages, est un facteur qui contribue à soutenir l'attention des participants et qui pourrait ainsi faciliter le traitement efficace des stimuli standards. En somme, les résultats de l'article 2 indiquent que la réponse de suppression neuronale n'apparaît pas comme un marqueur électrophysiologique robuste dans la NF1. Cela dit, une prochaine étape serait de valider si la réponse de suppression neuronale demeure équivalente entre les enfants ayant la NF1 et les enfants neurotypiques avec la présentation de stimuli langagiers plus complexes ou de stimuli présentés dans une seule modalité sensorielle.

### **2.3 Liens avec le fonctionnement cognitif et comportemental dans la NF1**

Un des objectifs de cette thèse était d'investiguer les relations entre les réponses neuronales mesurées en EEG et les mesures du fonctionnement cognitif ou comportemental des enfants vivant avec la NF1. Identifier de telles relations pourrait nous renseigner sur les mécanismes impliqués dans les dysfonctions cognitives chez les enfants ayant la NF1 et nous

permettre de cibler des mesures à utiliser pour évaluer l'efficacité de traitements visant à améliorer le fonctionnement cognitif dans cette condition. Dans les deux articles de cette thèse, aucune corrélation significative n'a été établie entre le niveau de fonctionnement intellectuel et les réponses neuronales mesurées. Le niveau moyen de fonctionnement intellectuel dans le groupe NF1 est situé à la limite supérieure de la moyenne faible (score de QI moyen d'environ 89), ce qui concorde avec le profil dépeint dans les études antérieures (Crow et al., 2022; Torres Nupan et al., 2017). Bien que ce score soit significativement inférieur à celui du groupe contrôle, cela ne semble pas contribuer aux différences de groupes en termes de réponses neuronales. Des corrélations significatives ont toutefois été établies avec les mesures des symptômes comportementaux du TDAH rapportés par les parents. Dans l'article 1, une association a été identifiée entre la sévérité des symptômes du TDAH et la diminution de puissance de la synchronisation neuronale dans les conditions de stimulation visuelle à 10 Hz et à 15 Hz. Nos résultats suggèrent que la réponse de synchronisation neuronale est diminuée dans la NF1 et particulièrement chez les enfants présentant une comorbidité NF1-TDAH. Dans l'article 2, une association a également été trouvée entre la sévérité des symptômes comportementaux du TDAH et la réponse de détection du changement. Contrairement aux résultats de l'article 1, la présence de symptômes associés au TDAH ne semble pas contribuer aux différences initialement trouvées entre le groupe NF1 et le groupe contrôle. Alors que la puissance des oscillations cérébrales est accrue dans le groupe NF1 par rapport au groupe contrôle dans la réponse de détection du changement, la sévérité des symptômes du TDAH a été associée à une diminution de la puissance des oscillations dans la bande de fréquences alpha (8-12 Hz).

Ces résultats illustrent l'importance de tenir compte de la présence de troubles comorbides dans l'interprétation des résultats sur le plan de l'activité cérébrale, mais illustrent également la complexité d'identifier des marqueurs électrophysiologiques dans la NF1 étant donné l'hétérogénéité du profil cognitif. D'un autre côté, ces résultats soulignent l'importance d'investiguer davantage l'activité des réseaux neuronaux qui peuvent sous-tendre les déficits attentionnels dans la NF1. Une récente revue de littérature et méta-analyse portant sur les oscillations cérébrales évoquées dans le TDAH a identifié à travers les études une modulation atypique des oscillations alpha (8-12 Hz) et beta (14-30 Hz), avec une taille d'effet de niveau léger à modéré (Michelini et al., 2022). Un parallèle intéressant est à établir avec les résultats de cette thèse où des associations entre les symptômes du TDAH et les oscillations dans ces bandes

de fréquence ont été trouvées dans chacun des articles. Les mécanismes neuronaux mis de l'avant pour expliquer la modulation atypique des oscillations alpha du cortex occipital dans le TDAH, qui revient de manière récurrente à travers les études, concernent les interactions thalamo-occipitales ainsi que les interactions fronto-pariétales exerçant une influence *top-down* sur l'activité occipitale (Lenartowicz et al., 2018). Ces voies pourraient être impliquées dans les réponses neuronales observées dans notre échantillon d'enfants ayant la NF1 et seraient donc à investiguer davantage pour faire progresser notre compréhension des liens entre la NF1 et le TDAH.

### **3. Considérations cliniques**

#### **3.1 Les troubles neurodéveloppementaux comorbides dans la NF1**

En tant que condition monogénique associée à des troubles neurodéveloppementaux, la NF1 présente un potentiel pour développer notre compréhension des liens gène-cerveau-comportement et pour élucider les voies et marqueurs neurobiologiques contribuant au risque d'apparition de ces troubles (Acosta et al., 2012; Kaczorowski et al., 2020). Dans notre échantillon d'enfants ayant la NF1, la sévérité des symptômes de TDAH est compatible avec le profil dépeint dans la littérature. Tel que décrit dans l'article 2, près de la moitié du groupe NF1 atteint le seuil clinique pour les problèmes d'attention et environ un tiers pour les problèmes d'hyperactivité/impulsivité, mesurés par le questionnaire Connors 3. Étant donné les liens établis entre ces symptômes comportementaux et certaines réponses neuronales mesurées dans cette thèse, une prochaine étape serait d'investiguer les liens de ces mêmes réponses neuronales avec le fonctionnement cognitif des enfants ayant la NF1, notamment sur le plan attentionnel et exécutif. Cela peut représenter un défi sachant que les fonctions attentionnelles et exécutives dans la NF1 ne prédisent pas nécessairement la symptomatologie liée au TDAH (Payne et al., 2019). En effet, Payne et al. (2019) ont démontré, dans un échantillon de 141 enfants et adolescents ayant la NF1, que les variables cognitives ne prédisent ni la symptomatologie du TDAH ni les impacts fonctionnels mesurés par la qualité de vie et le fonctionnement adaptatif. C'est plutôt la sévérité des symptômes de TDAH dans cet échantillon qui prédit les impacts fonctionnels. Une étude récente menée par notre groupe de recherche a démontré que la réponse de suppression neuronale et de détection du changement mesurée dans la première année de vie

prédit le fonctionnement adaptatif à l'âge de 4 ans (Deguire et al., 2023). Il serait donc pertinent d'évaluer la valeur prédictive des réponses neuronales étudiées dans cette thèse, notamment la réponse de synchronisation neuronale et la modulation des oscillations alpha, sur le fonctionnement adaptatif et le développement ultérieur du TDAH chez les enfants ayant la NF1. Somme toute, les résultats de cette thèse soulignent l'importance de prendre en charge les symptômes du TDAH chez les enfants ayant la NF1 et appuient l'idée que la NF1 puisse contribuer à identifier des marqueurs associés au développement de ce trouble.

La sévérité des symptômes du TSA dans notre échantillon d'enfants ayant la NF1 correspond également aux distributions des études antérieures. Dans un échantillon de 531 enfants ayant la NF1, 39,2% présentaient un score cliniquement significatif (score  $T \geq 60$ ) et 13,2% présentaient un score dans la zone sévère (score  $T \geq 75$ ) au questionnaire *Social Responsiveness Scale, second edition* (SRS-2) (Morris et al., 2016). La distribution de scores obtenus à ce même questionnaire dans notre échantillon est très similaire, avec environ 39% des enfants présentant un score  $T \geq 60$  et environ 11% présentant un score  $T \geq 75$ . Cependant, contrairement à notre hypothèse initiale, nos analyses n'ont pas permis d'établir de lien entre ces symptômes et les réponses neuronales mesurées. Des atypies dans les patrons EEG de traitement sensoriel ont été identifiées dans le TSA et pourraient sous-tendre l'hypo/hypersensibilité ainsi que certaines difficultés comportementales dans cette condition (Marco et al., 2011; Sinclair et al., 2017). Dans la seule autre étude ayant analysé la réponse de suppression neuronale et de détection du changement dans la NF1, Begum-Ali et al. (2021) ont démontré que la réponse au premier stimulus standard ainsi que la suppression de l'activité en réponse au deuxième stimulus standard chez les bébés ayant la NF1 âgés de 10 mois sont corrélées au développement de traits associés au TSA à 14 mois. Bien que l'association semble plus forte avec les traits TSA, les réponses neuronales étaient également associées au développement ultérieur de traits du TDAH. Il est possible que les mesures du traitement sensoriel de base dans la première année de vie des enfants ayant la NF1 soient de marqueurs plus sensibles au développement ultérieur de symptôme du TSA que ces mesures prises dans l'enfance. En somme, nos résultats confirment la présence élevée de comportements associés au TSA chez les enfants ayant la NF1, mais n'ont pas permis d'approfondir notre compréhension des mécanismes neuronaux qui peuvent sous-tendre cette symptomatologie dans la NF1.

### 3.2 Les perspectives de traitement dans la NF1

Différents essais cliniques ont été réalisés pour tenter de traiter les atteintes cognitives dans la NF1, avec des médications visant différents mécanismes touchés par la perte de neurofibromine. Deux études se sont penchées sur l'utilisation du méthylphénidate, un psychostimulant agissant sur la recapture de dopamine et noradrénaline, pour adresser les symptômes du TDAH et ont démontré des résultats positifs (Lion-François et al., 2014; Mautner et al., 2002). Ce type de médication est largement utilisé dans la NF1, mais n'intervient pas directement sur les mécanismes pathophysiologiques de la NF1. Une autre classe de médicaments dont le potentiel thérapeutique a été étudiée sont les statines, des inhibiteurs de la HMG-CoA réductase. Des résultats prometteurs ont été obtenus dans un modèle de souris, soient une réduction de l'hyperactivité Ras, un rétablissement des déficits de PLT et une amélioration des déficits d'attention et d'apprentissage (Li et al., 2005). Les résultats de l'impact des statines sur les mesures du fonctionnement cognitif et comportemental des individus ayant la NF1 ont toutefois été inconcluants (Krab et al., 2008b; Payne et al., 2016; van der Vaart et al., 2013). Dans un récent article, Bernardino et al. (2022) suggèrent que les difficultés à trouver des mesures sensibles et comparables à celles utilisés dans les études animales pourraient en partie expliquer le manque de transfert des résultats positifs chez l'humain. Ils ont donc opté pour une mesure alternative aux mesures cognitives et comportementales typiquement utilisées dans les essais pour évaluer l'effet de la lovastatine et ont démontré, en utilisant la spectroscopie par résonance magnétique et la stimulation magnétique transcrânienne, une modulation de l'inhibition corticale par la médication (Bernardino et al., 2022). Enfin, un autre type de traitement ayant suscité un intérêt pour son potentiel impact sur la cognition dans la NF1 sont les inhibiteurs de MEK (*mitogen-activated protein kinase kinase*). Ces médicaments ont d'abord été testés dans la NF1 pour le traitement des gliomes de bas grade et des neurofibromes plexiformes et ont permis d'atténuer ces tumeurs associées à la NF1 (Dombi et al., 2016; Gross et al., 2020; Mueller et al., 2020; Perreault et al., 2019; Perreault et al., 2021; Weiss et al., 2021). Une première étude s'est ensuite penchée sur les changements cognitifs de patients NF1 traités avec des inhibiteurs de MEK et a révélé une amélioration de la mémoire de travail ainsi que des comportements associés au fonctionnement exécutif (Walsh et al., 2021). Une seconde étude a été réalisée en collaboration avec notre groupe de recherche, dans le contexte d'une étude canadienne multicentrique évaluant l'efficacité du trametinib, un inhibiteur de MEK, pour le

traitement des gliomes de bas grade et des neurofibromes plexiformes (NCT03363217). Nos analyses ont révélé une amélioration cliniquement significative des habiletés visuo-motrices, de la vitesse de traitement et du raisonnement verbal (voir Annexe 1) et supportent donc le potentiel bénéfique des inhibiteurs de MEK pour le fonctionnement cognitif des enfants ayant la NF1. Des essais randomisés contrôlés devront être réalisés afin de confirmer ces résultats préliminaires et pourraient d'ailleurs inclure des mesures des réponses neuronales afin de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent cette amélioration sur le plan cognitif.

## **4. Considérations méthodologiques**

### **4.1 Forces et limites des mesures EEG utilisées**

Dans l'article 1, le recours à la méthode SSVEP représente une force dans la méthodologie de l'étude étant donné le ratio signal-bruit élevé et la faible contamination de la mesure par les artefacts (Kabdebon et al., 2022). De plus, la méthode SSVEP permet de définir de façon spécifique et objective la réponse ciblée qui correspond exactement à la fréquence de stimulation. Il est difficile d'obtenir un niveau de précision comparable dans les méthodes d'analyse dans le domaine temporel, tel que les potentiels évoqués dont la latence peut varier au cours du développement. La spécificité de la réponse analysée sur le plan spectral, avec la méthode SSVEP, permet de réduire les dimensions des données analysées et ainsi d'augmenter la puissance statistique des analyses subséquentes (Kabdebon et al., 2022). C'est d'ailleurs ce qui a permis dans l'article 1 d'explorer l'impact de la médication psychostimulante sur la réponse SSVEP malgré une petite taille d'échantillon. Cela n'a d'ailleurs pas été possible dans l'article 2 étant donné le grand nombre de dimensions ou de variables à analyser pour rendre compte de la réponse de suppression neuronale et de détection du changement. Cela dit, le fait d'avoir contrôlé pour la prise de médication dans les deux études de cette thèse, en incluant uniquement les enregistrements EEG réalisés sans médication, est une force sur le plan méthodologique.

Dans l'article 2, le choix d'investiguer la suppression neuronale et la détection du changement avec des analyses en temps-fréquence a permis de s'intéresser à l'activité oscillatoire qui contribue à ces réponses initialement étudiées sur le plan temporel. Un résultat intéressant sur le plan méthodologique est la réponse accrue dans la bande de fréquence  $\theta$ , par rapport aux autres bandes fréquences étudiées, dans la condition de détection du changement

pour les deux groupes. Cela est cohérent avec les études ayant démontré une contribution spécifique des oscillations thêta dans la composante de potentiel évoqué en modalité auditive analysée pour évaluer la réponse aux stimuli déviants, soit le *mismatch negativity* (MMN) (Fuentemilla et al., 2008; Herrmann et al., 2014; Hsiao et al., 2009). Une limite de l'étude réside toutefois dans le fait de ne pas avoir analysé les bandes des plus hautes fréquences, telles que les oscillations gamma qui joueraient également un rôle dans la détection du changement et qui interagiraient avec les oscillations thêta (Herrmann et al., 2014). Une analyse de cette interaction pourrait nous permettre de mieux comprendre la puissance accrue des oscillations thêta dans le groupe NF1 dans la réponse de détection du changement.

Enfin, les réponses neuronales des deux articles de la thèse ont été enregistrées lors de tâches passives, en ce sens qu'aucune réponse n'était requise par les participants. Ce type de paradigme permet d'inclure des participants de bas âge et de niveau de fonctionnement intellectuel plus faible. Cela permet également de comparer les résultats obtenus dans d'autres conditions génétiques associées à la déficience intellectuelle et/ou au TSA. Un autre avantage de ce type de paradigme est la valeur translationnelle des mesures qui en découlent et qui peuvent donc être mis en relations avec les données des études animales. Cependant, des paradigmes venant directement solliciter la mémoire de travail, l'inhibition ou l'allocation de l'attention pourraient permettre d'établir plus facilement des liens avec les résultats aux tests cognitifs et de nous renseigner sur les mécanismes qui sous-tendent les déficits cognitifs.

#### **4.2 Forces et limites des mesures cognitives et comportementales utilisées**

Sur le plan cognitif, l'administration de la batterie d'évaluation intellectuelle a permis de valider que notre échantillon d'enfants ayant la NF1 est représentatif du niveau moyen de fonctionnement intellectuel rapporté dans la littérature (Crow et al., 2022; Torres Nupan et al., 2017). Aucune corrélation significative n'a toutefois été établie entre le QI global et les mesures EEG dans chacun des articles de la thèse. Sachant que les habiletés visuo-perceptives, attentionnelles et exécutives sont particulièrement touchées dans la NF1 (Lehtonen et al., 2013; Torres Nupan et al., 2017), l'absence de tests évaluant spécifiquement ces habiletés a limité notre exploration des liens possibles entre l'activité neuronale et le fonctionnement cognitif dans la NF1. De manière similaire, l'utilisation de questionnaires remplis par les parents pour décrire le profil comportemental des participants a permis de confirmer les données antérieures concernant



la sévérité des symptômes TDAH et de TSA associés à la NF1. Cependant, le fait de se baser uniquement sur la perception des parents représente une limite en raison du possible manque d'objectivité de ces mesures. En ce sens, un entretien clinique avec des professionnelles formées serait un moyen d'obtenir un profil plus complet et d'approfondir notre compréhension des liens entre les mesures EEG et les symptômes comportementaux, particulièrement pour le TSA.

## **5. Directions futures**

Pour faire suite aux articles de cette thèse, une prochaine étape consisterait à répliquer les résultats obtenus avec de plus grands échantillons, ce qui représente un défi dans le cadre de conditions génétiques rares. Cela soulève donc le besoin de collaborer avec différentes cliniques spécialisées dans la prise en charge de la NF1 afin de mettre sur pied des études multicentriques. Afin d'approfondir l'interprétation des résultats de la thèse, il serait pertinent d'inclure un groupe d'enfants présentant un diagnostic de TDAH idiopathique, ce qui permettrait de déterminer si les associations trouvées entre les mesures EEG et les symptômes du TDAH sont spécifiques à la NF1 et si les profils électrophysiologiques de ces deux populations sont dissociables. Mieux comprendre les signatures électrophysiologiques dans chacune de ces conditions permettrait éventuellement guider les interventions et le suivi de l'efficacité des traitements de manière ciblée (Michelini et al., 2022).

Les études futures devraient également investiguer les associations entre l'activité oscillatoire au repos, l'activité oscillatoire lors de tâches de traitement sensoriel et lors de tâches sollicitant les fonctions cognitives de plus haut niveau. Une récente étude réalisée auprès d'enfants ayant la NF1 a révélé une puissance plus élevée des oscillations au repos, particulièrement dans les basses fréquences, dans le groupe NF1 (Booth et al., 2022). Bien que ce résultat devrait être reproduit dans un plus gros échantillon, il souligne l'importance de considérer l'impact des oscillations intrinsèques dans le traitement sensoriel et la modulation des oscillations en fonction des demandes externes. De plus, pour approfondir notre compréhension des mécanismes qui sous-tendent les réponses atypiques mesurées en EEG chez les enfants ayant la NF1, il apparaît essentiel de diriger les études futures vers des analyses multimodales (Baudou et al., 2020). Combiner l'EEG à différentes méthodes d'imagerie, telles que la spectroscopie par résonance magnétique et l'IRMf, permettrait d'intégrer les connaissances accumulées aux

différents niveaux d'analyse et de clarifier les associations avec le phénotype cognitif de la NF1. Cela permettrait par exemple de valider les hypothèses en lien avec l'impact de la transmission GABAergique sur l'activité neuronale et de mieux comprendre le rôle des réseaux attentionnels dans la modulation du traitement sensoriel dans la NF1.

Compte tenu de l'hétérogénéité du profil cognitif dans la NF1, les études futures devront continuer à investiguer l'impact de la variabilité génétique et les interactions avec les facteurs environnementaux pour mieux cibler les prédicteurs du fonctionnement cognitif et de la réponse aux traitements. En effet, bien que les corrélations génotype-phénotype dans la NF1 ne soient pas encore bien établies, certains types de mutation ont été associés à des atteintes cognitives plus sévères (Bettegowda et al., 2021; Ottenhoff et al., 2020). La variabilité génétique pourrait mener à des atteintes distinctes dans les circuits neuronaux (Miller & Halloran, 2022; Violante et al., 2013b) et donc se traduire par des patrons d'activité EEG distincts dans leur nature ou leur sévérité. Les rôle des facteurs environnementaux est également à prendre en compte dans le développement cognitif et comportemental des enfants ayant la NF1 (Geoffroy et al., 2021). Une plus grande attention portée à ces variables dans les études d'imagerie cérébrale pourrait permettre d'améliorer les modèles explicatifs du phénotype cognitif et comportemental de la NF1.

## **6. Conclusion**

Cette thèse a permis d'évaluer l'intégrité de mécanismes de base du traitement sensoriel chez les enfants atteints de la NF1. La réponse de suppression neuronale apparaît préservée chez les enfants ayant la NF1, alors que des patrons électrophysiologiques distincts ont été identifiés dans la réponse de synchronisation neuronale ainsi que dans la détection du changement. Des études multimodales seront sans doute nécessaires pour élucider les mécanismes en jeu dans ces réponses sensorielles atypiques, particulièrement concernant le rôle de transmission GABAergique et dopaminergique ainsi que la modulation des réponses par les réseaux attentionnels et inhibiteurs. Les résultats suggèrent toute de même que les mesures EEG du traitement sensoriel peuvent être des marqueurs sensibles aux déséquilibres de la neurotransmission retrouvés dans cette condition et peuvent servir de mesures translationnelles pour faciliter le transfert des connaissances obtenues dans les modèles animaux de NF1. Établir

les bases neuronales des déficits cognitifs dans la NF1 représente un défi de taille étant donné l'hétérogénéité du profil cognitif qui résulte sans doute d'interactions complexes entre les facteurs génétiques et environnementaux. Cela dit, les résultats de la thèse ont permis de confirmer les associations préalablement décrites avec les symptômes du TDAH et du TSA dans la population pédiatrique de NF1. Les corrélations établies entre les réponses neuronales et les symptômes comportementaux du TDAH soulignent également le potentiel de ces mesures pour guider le développement de traitements et interventions visant à améliorer le fonctionnement cognitif des enfants ayant la NF1.

## Bibliographie

- Acosta, M. T., Bearden, C. E., Castellanos, X. F., Cutting, L., Elgersma, Y., Gioia, G., Gutmann, D. H., Lee, Y. S., Legius, E., & Muenke, M. (2012). The Learning Disabilities Network (LeaDNet): using neurofibromatosis type 1 (NF1) as a paradigm for translational research. *American Journal of Medical Genetics Part A*, *158*(9), 2225-2232.
- Ammendola, A., Ciccone, G., & Ammendola, E. (2006). Utility of multimodal evoked potentials study in neurofibromatosis type 1 of childhood. *Pediatric Neurology*, *34*(4), 276-280.
- Anastasaki, C., Woo, A. S., Messiaen, L. M., & Gutmann, D. H. (2015). Elucidating the impact of neurofibromatosis-1 germline mutations on neurofibromin function and dopamine-based learning. *Human Molecular Genetics*, *24*(12), 3518-3528.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv103>
- Antônio, J. R., Goloni-Bertollo, E. M., & Tridico, L. A. (2013). Neurofibromatosis: chronological history and current issues. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, *88*(3), 329-343.
- Asati, V., Mahapatra, D. K., & Bharti, S. K. (2016). PI3K/Akt/mTOR and Ras/Raf/MEK/ERK signaling pathways inhibitors as anticancer agents: Structural and pharmacological perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *109*, 314-341.
- Aydin, S., Kurtcan, S., Alkan, A., Guler, S., Filiz, M., Yilmaz, T. F., Sahin, T. U., & Aralasmak, A. (2016). Relationship between the corpus callosum and neurocognitive disabilities in children with NF-1: diffusion tensor imaging features. *Clinical Imaging*, *40*(6), 1092-1095.
- Balcer, L. J., Liu, G. T., Heller, G., Bilaniuk, L., Volpe, N. J., Galetta, S. L., Molloy, P. T., Phillips, P. C., Janss, A. J., & Vaughn, S. (2001). Visual loss in children with neurofibromatosis type 1 and optic pathway gliomas: relation to tumor location by magnetic resonance imaging. *American Journal of Ophthalmology*, *131*(4), 442-445.

- Bánki, A., Brzozowska, A., Hoehl, S., & Köster, M. (2022). Neural Entrainment vs. Stimulus-Tracking: A Conceptual Challenge for Rhythmic Perceptual Stimulation in Developmental Neuroscience. *Frontiers in Psychology, 13*, 878984-878984.
- Baudou, E., Nemmi, F., Biotteau, M., Maziero, S., Peran, P., & Chaix, Y. (2020). Can the cognitive phenotype in Neurofibromatosis type 1 (NF1) be explained by neuroimaging? A review. *Frontiers in Neurology, 10*, 1373.
- Beaussart, M.-L., Barbarot, S., Mauger, C., & Roy, A. (2018a). Systematic review and meta-analysis of executive functions in preschool and school-age children with neurofibromatosis type 1. *Journal of the International Neuropsychological Society, 24*(9), 977-994.
- Beaussart, M.-L., Barbarot, S., & Roy, A. (2018b). Chapitre 17. Approche neuropsychologique de la neurofibromatose de type 1. In *Neuropsychologie de l'enfant* (pp. 254-273). De Boeck Supérieur. <https://doi.org/10.3917/dbu.roy.2018.01.0254>
- Begum-Ali, J., Kolesnik-Taylor, A., Quiroz, I., Mason, L., Garg, S., Green, J., Johnson, M. H., Jones, E. J. H., Holman, R., Kalwarowsky, S., Pirazzoli, L., Taylor, C., Vassallo, G., Burkitt-Wright, E., Eelloo, J., Evans, D. G., West, S., Hupton, E., Lewis, L., . . . Teams, E. (2021). Early differences in auditory processing relate to Autism Spectrum Disorder traits in infants with Neurofibromatosis Type I. *Journal of Neurodevelopmental Disorders, 13*(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s11689-021-09364-3>
- Bernardino, I., Dionísio, A., & Castelo-Branco, M. (2022). Cortical inhibition in neurofibromatosis type 1 is modulated by lovastatin, as demonstrated by a randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial. *Scientific Reports, 12*(1), 13814. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17873-x>
- Berryer, M. H., Hamdan, F. F., Klitten, L. L., Møller, R. S., Carmant, L., Schwartzentruber, J., Patry, L., Dobrzaniecka, S., Rochefort, D., & Neugnot-Cerioli, M. (2013). Mutations in SYNGAP1 cause intellectual disability, autism, and a specific form of epilepsy by inducing haploinsufficiency. *Human Mutation, 34*(2), 385-394.
- Bettegowda, C., Upadhayaya, M., Evans, D. G., Kim, A., Mathios, D., & Hanemann, C. O. (2021). Genotype-Phenotype Correlations in Neurofibromatosis and Their Potential Clinical Use. *Neurology, 97*(7 Supplement 1), S91-S98. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000012436>
- Billiet, T., Mädler, B., D'Arco, F., Peeters, R., Deprez, S., Plasschaert, E., Leemans, A., Zhang, H., den Bergh, B. V., Vandenbulcke, M., Legius, E., Sunaert, S., & Emsell, L. (2014). Characterizing the microstructural basis of “unidentified bright objects” in neurofibromatosis type 1: A combined in vivo multicomponent T2 relaxation and multi-shell diffusion MRI analysis. *NeuroImage: Clinical, 4*, 649-658. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nicl.2014.04.005>
- Bollag, G., & McCormick, F. (1991). Differential regulation of rasGAP and neurofibromatosis gene product activities. *Nature, 351*(6327), 576.

- Booth, S. J., Garg, S., Brown, L. J., Green, J., & Taylor, J. R. (2022). Aberrant oscillatory activity in Neurofibromatosis Type 1: An EEG study of resting state and working memory. *medRxiv*.
- Brosius, S. (2010). A History of von Recklinghausen's NF1. *Journal of the History of the Neurosciences*, 19(4), 333-348. <https://doi.org/10.1080/09647041003642885>
- Brown, J. A., Emmett, R. J., White, C. R., Yuede, C. M., Conyers, S. B., O'Malley, K. L., Wozniak, D. F., & Gutmann, D. H. (2010a). Reduced striatal dopamine underlies the attention system dysfunction in neurofibromatosis-1 mutant mice. *Human Molecular Genetics*, 19(22), 4515-4528. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq382>
- Brown, J. A., Gianino, S. M., & Gutmann, D. H. (2010b). Defective cAMP generation underlies the sensitivity of CNS neurons to neurofibromatosis-1 heterozygosity. *Journal of Neuroscience*, 30(16), 5579-5589.
- Bulgheroni, S., Taddei, M., Saletti, V., Esposito, S., Micheli, R., & Riva, D. (2019). Visuo-perceptual Impairment in Children with NF1: From Early Visual Processing to Procedural Strategies. *Behavioural Neurology*, 2019, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2019/7146168>
- Carreño-Muñoz, M. I., Chattopadhyaya, B., Agbogba, K., Côté, V., Wang, S., Lévesque, M., Avoli, M., Michaud, J. L., Lippé, S., & Di Cristo, G. (2021). Sensory processing dysregulations as reliable translational biomarkers in SYNGAP1 haploinsufficiency. *Brain*, 145(2), 754-769. <https://doi.org/10.1093/brain/awab329>
- Chaix, Y., Lauwers-Cancès, V., Faure-Marie, N., Gentil, C., Lelong, S., Schweitzer, E., Rodriguez, D., Iannuzzi, S., Kemlin, I., & Dorison, N. (2017). Deficit in phonological processes: a characteristic of the neuropsychological profile of children with NF1. *Child Neuropsychology*, 1-17.
- Chaloner, F. A., & Cooke, S. F. (2022). Multiple Mechanistically Distinct Timescales of Neocortical Plasticity Occur During Habituation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16.
- Charlebois-Poirier, A.-R., Lalancette, E., Agbogba, K., Fauteux, A.-A., Knoth, I., & Lippé, S. (2023a). Working memory and processing speed abilities are related to habituation and change detection in school-aged children: An ERP study. *Neuropsychologia*, 108616.
- Charlebois-Poirier, A. R., Lalancette, E., Agbogba, K., Fauteux, A. A., Knoth, I. S., & Lippé, S. (2023b). Working memory and processing speed abilities are related to habituation and change detection in school-aged children: An ERP study. *Neuropsychologia*, 187, 108616. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2023.108616>
- Chen, G., Zhang, Y., Li, X., Zhao, X., Ye, Q., Lin, Y., Tao, H. W., Rasch, M. J., & Zhang, X. (2017). Distinct inhibitory circuits orchestrate cortical beta and gamma band oscillations. *Neuron*, 96(6), 1403-1418. e1406.

- Chisholm, A. K., Haebich, K. M., Pride, N. A., Walsh, K. S., Lami, F., Ure, A., Maloof, T., Brignell, A., Rouel, M., Granader, Y., Maier, A., Barton, B., Darke, H., Dabscheck, G., Anderson, V. A., Williams, K., North, K. N., & Payne, J. M. (2022). Delineating the autistic phenotype in children with neurofibromatosis type 1. *Molecular Autism, 13*(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13229-021-00481-3>
- Christensen, D. L., Braun, K. V. N., Baio, J., Bilder, D., Charles, J., Constantino, J. N., Daniels, J., Durkin, M. S., Fitzgerald, R. T., & Kurzius-Spencer, M. (2018). Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2012. *MMWR Surveillance Summaries, 65*(13), 1.
- Clements-Stephens, A. M., Rimrodt, S. L., Gaur, P., & Cutting, L. E. (2008). Visuospatial processing in children with neurofibromatosis type 1. *Neuropsychologia, 46*(2), 690-697.
- Costa, R. M., Federov, N. B., Kogan, J. H., Murphy, G. G., Stern, J., Ohno, M., Kucherlapati, R., Jacks, T., & Silva, A. J. (2002). Mechanism for the learning deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Nature, 415*(6871), 526-530.
- Côté, V., Lalancette, È., Knoth, I. S., Côté, L., Agbogba, K., Vannasing, P., Major, P., Barlaam, F., Michaud, J., & Lippé, S. (2021). Distinct patterns of repetition suppression in Fragile X syndrome, down syndrome, tuberous sclerosis complex and mutations in SYNGAP1. *Brain Research, 1751*, 147205. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147205>
- Crow, A. J., Janssen, J. M., Marshall, C., Moffit, A., Brennan, L., Kohler, C. G., Roalf, D. R., & Moberg, P. J. (2022). A systematic review and meta-analysis of intellectual, neuropsychological, and psychoeducational functioning in neurofibromatosis type 1. *American Journal of Medical Genetics Part A*.
- Cui, Y., Costa, R. M., Murphy, G. G., Elgersma, Y., Zhu, Y., Gutmann, D. H., Parada, L. F., Mody, I., & Silva, A. J. (2008). Neurofibromin regulation of ERK signaling modulates GABA release and learning. *Cell, 135*(3), 549-560.
- Cutting, L. E., Clements, A. M., Lightman, A. D., Yerby-Hammack, P. D., & Denckla, M. B. (2004). Cognitive profile of neurofibromatosis type 1: rethinking nonverbal learning disabilities. *Learning Disabilities Research & Practice, 19*(3), 155-165.
- Cutting, L. E., Koth, C. W., & Denckla, M. B. (2000). How children with neurofibromatosis type 1 differ from "typical" learning disabled clinic attenders: nonverbal learning disabilities revisited. *Developmental Neuropsychology, 17*(1), 29-47.
- Deguire, F., López-Arango, G., Knoth, I. S., Côté, V., Agbogba, K., & Lippé, S. (2023). EEG repetition and change detection responses in infancy predict adaptive functioning in preschool age: a longitudinal study. *Scientific Reports, 13*(1), 9980. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34669-9>

- Diggs-Andrews, K. A., & Gutmann, D. H. (2013). Modeling cognitive dysfunction in neurofibromatosis-1. *Trends in Neurosciences*, 36(4), 237-247.
- Diggs-Andrews, K. A., Tokuda, K., Izumi, Y., Zorumski, C. F., Wozniak, D. F., & Gutmann, D. H. (2013). Dopamine deficiency underlies learning deficits in neurofibromatosis-1 mice. *Annals of Neurology*, 73(2), 309-315.
- Dombi, E., Baldwin, A., Marcus, L. J., Fisher, M. J., Weiss, B., Kim, A., Whitcomb, P., Martin, S., Aschbacher-Smith, L. E., & Rizvi, T. A. (2016). Activity of selumetinib in neurofibromatosis type 1-related plexiform neurofibromas. *New England Journal of Medicine*, 375(26), 2550-2560.
- Duquette, A. (2019). *Neurofibromatose de type 1 Diagnostic, conseil génétique et recommandations pour la prise en charge adulte*. <https://anfq.ca/wp-content/uploads/2019/11/document-pour-adulte-pour-le-site-web.pdf>
- Easton, D., Ponder, M., Huson, S., & Ponder, B. (1993). An analysis of variation in expression of neurofibromatosis (NF) type 1 (NF1): evidence for modifying genes. *American Journal of Human Genetics*, 53(2), 305.
- Eijk, S., Mous, S., Dieleman, G., Dierckx, B., Rietman, A., de Nijs, P., Ten Hoopen, L., van Minkelen, R., Elgersma, Y., & Catsman-Berrevoets, C. (2018). Autism spectrum disorder in an unselected cohort of children with Neurofibromatosis Type 1 (NF1). *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 48(7), 2278-2285.
- Eldridge, R., Denckla, M. B., Bien, E., Myers, S., Kaiser-Kupfer, M. I., Pikus, A., Schlesinger, S. L., Parry, D. M., Dambrosia, J. M., & Zasloff, M. A. (1989). Neurofibromatosis type 1 (Recklinghausen's disease): neurologic and cognitive assessment with sibling controls. *American Journal of Diseases of Children*, 143(7), 833-837.
- Eliason, M. J. (1986). Neurofibromatosis: implications for learning and behavior. *Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP*, 7(3), 175-179.
- Evans, D., Howard, E., Giblin, C., Clancy, T., Spencer, H., Huson, S., & Laloo, F. (2010). Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: Estimates from a UK family genetic register service. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 152(2), 327-332.
- Feldmann, R., Schuierer, G., Wessel, A., Neveling, N., & Weglage, J. (2010). Development of MRI T2 hyperintensities and cognitive functioning in patients with neurofibromatosis type 1. *Acta Paediatrica*, 99(11), 1657-1660.
- Fenckova, M., Blok, L. E., Asztalos, L., Goodman, D. P., Cizek, P., Singgih, E. L., Glennon, J. C., Int'Hout, J., Zweier, C., & Eichler, E. E. (2019). Habituation Learning is a Widely Affected Mechanism in Drosophila Models of Intellectual Disability and Autism Spectrum Disorders. *Biological Psychiatry*.



- Foxe, J., & Snyder, A. (2011). The Role of Alpha-Band Brain Oscillations as a Sensory Suppression Mechanism during Selective Attention [Review]. *Frontiers in Psychology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00154>
- Friedman, J. (2002). Neurofibromatosis 1: clinical manifestations and diagnostic criteria. *Journal of Child Neurology*, 17(8), 548-554.
- Fuentemilla, L., Marco-Pallarés, J., Münte, T., & Grau, C. (2008). Theta EEG oscillatory activity and auditory change detection. *Brain Research*, 1220, 93-101.
- Garg, S., Green, J., Leadbitter, K., Emsley, R., Lehtonen, A., Evans, D. G., & Huson, S. M. (2013). Neurofibromatosis type 1 and autism spectrum disorder. *Pediatrics*, 132(6), e1642-e1648.
- Geoffray, M.-M., Robinson, L., Ramamurthy, K., Manderson, L., O'Flaherty, J., Lehtonen, A., Tordjman, S., Green, J., Vassallo, G., & Garg, S. (2021). Predictors of cognitive, behavioural and academic difficulties in NF1. *Journal of Psychiatric Research*, 140, 545-550. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.06.002>
- Gonçalves, J., Violante, I. R., Sereno, J., Leitão, R. A., Cai, Y., Abrunhosa, A., Silva, A. P., Silva, A. J., & Castelo-Branco, M. (2017). Testing the excitation/inhibition imbalance hypothesis in a mouse model of the autism spectrum disorder: in vivo neurospectroscopy and molecular evidence for regional phenotypes. *Molecular Autism*, 8(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13229-017-0166-4>
- Gonzalez-Burgos, G., & Lewis, D. A. (2008). GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 34(5), 944-961.
- Gross, A. M., Wolters, P. L., Dombi, E., Baldwin, A., Whitcomb, P., Fisher, M. J., Weiss, B., Kim, A., Bornhorst, M., & Shah, A. C. (2020). Selumetinib in children with inoperable plexiform neurofibromas. *New England Journal of Medicine*, 382(15), 1430-1442.
- Guo, H.-F., Tong, J., Hannan, F., Luo, L., & Zhong, Y. (2000). A neurofibromatosis-1-regulated pathway is required for learning in *Drosophila*. *Nature*, 403(6772), 895-898.
- Gutmann, D. H., Ferner, R. E., Listernick, R. H., Korf, B. R., Wolters, P. L., & Johnson, K. J. (2017). Neurofibromatosis type 1 [Primer]. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17004. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.4>
- Hachon-Le Camus, C., Iannuzzi, S., Béraud-Majorel, C., & Chaix, Y. (2012). Phénotype cognitif des enfants atteints de neurofibromatose de type 1. *Revue de la littérature. Développements*, 10(1), 37-44. <https://doi.org/10.3917/devel.010.0037>
- Hachon, C., Iannuzzi, S., & Chaix, Y. (2011). Behavioural and cognitive phenotypes in children with neurofibromatosis type 1 (NF1): the link with the neurobiological level. *Brain and Development*, 33(1), 52-61.



- Hamdan, F. F., Gauthier, J., Spiegelman, D., Noreau, A., Yang, Y., Pellerin, S., Dobrzeniecka, S., Côté, M., Perreau-Linck, E., & Carmant, L. (2009). Mutations in SYNGAP1 in autosomal nonsyndromic mental retardation. *New England Journal of Medicine*, *360*(6), 599-605.
- Hannan, F., Ho, I., Tong, J. J., Zhu, Y., Nurnberg, P., & Zhong, Y. (2006). Effect of neurofibromatosis type I mutations on a novel pathway for adenylyl cyclase activation requiring neurofibromin and Ras. *Human Molecular Genetics*, *15*(7), 1087-1098.
- Hayden, D. J., Montgomery, D. P., Cooke, S. F., & Bear, M. F. (2021). Visual recognition is heralded by shifts in local field potential oscillations and inhibitory networks in primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, *41*(29), 6257-6272.
- Herrmann, C. S., Rach, S., Vosskuhl, J., & Strüber, D. (2014). Time–Frequency Analysis of Event-Related Potentials: A Brief Tutorial. *Brain Topography*, *27*(4), 438-450.  
<https://doi.org/10.1007/s10548-013-0327-5>
- Hirabaru, K., & Matsuo, M. (2018). Neurological comorbidity in children with neurofibromatosis type 1. *Pediatrics International*, *60*(1), 70-75.
- Ho, I. S., Hannan, F., Guo, H.-F., Hakker, I., & Zhong, Y. (2007). Distinct functional domains of neurofibromatosis type 1 regulate immediate versus long-term memory formation. *Journal of Neuroscience*, *27*(25), 6852-6857.
- Hou, Y., Allen, T., Wolters, P. L., Toledo-Tamula, M. A., Martin, S., Baldwin, A., Reda, S., Gillespie, A., Goodwin, A., & Widemann, B. C. (2020). Predictors of cognitive development in children with neurofibromatosis type 1 and plexiform neurofibromas. *Developmental Medicine and Child Neurology*, *62*(8), 977-984.  
<https://doi.org/10.1111/dmcn.14489>
- Hsiao, F.-J., Wu, Z.-A., Ho, L.-T., & Lin, Y.-Y. (2009). Theta oscillation during auditory change detection: an MEG study. *Biological Psychology*, *81*(1), 58-66.
- Huijbregts, S. C., Loitfelder, M., Rombouts, S. A., Swaab, H., Verbist, B. M., Arkink, E. B., Van Buchem, M. A., & Veer, I. M. (2015). Cerebral volumetric abnormalities in Neurofibromatosis type 1: associations with parent ratings of social and attention problems, executive dysfunction, and autistic mannerisms. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, *7*(1), 1-9.
- Hyman, S., Gill, D., Shores, E., Steinberg, A., Joy, P., Gibikote, S., & North, K. (2003). Natural history of cognitive deficits and their relationship to MRI T2-hyperintensities in NF1. *Neurology*, *60*(7), 1139-1145.
- Hyman, S. L., Shores, A., & North, K. N. (2005). The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. *Neurology*, *65*(7), 1037-1044.

- Iannaccone, A., McCluney, R. A., Brewer, V. R., Spiegel, P. H., Taylor, J. S., Kerr, N. C., & Pivnick, E. K. (2002). Visual evoked potentials in children with neurofibromatosis type 1. *Documenta Ophthalmologica*, *105*(1), 63-81.
- Ibrahim, A. F., Montojo, C. A., Haut, K. M., Karlsgodt, K. H., Hansen, L., Congdon, E., Rosser, T., Bilder, R. M., Silva, A. J., & Bearden, C. E. (2017). Spatial working memory in neurofibromatosis 1: Altered neural activity and functional connectivity. *NeuroImage: Clinical*, *15*, 801-811.
- Isenberg, J. C., Templer, A., Gao, F., Titus, J. B., & Gutmann, D. H. (2013). Attention skills in children with neurofibromatosis type 1. *Journal of Child Neurology*, *28*(1), 45-49.
- Jensen, O., & Mazaheri, A. (2010). Shaping functional architecture by oscillatory alpha activity: gating by inhibition. *Frontiers in Human Neuroscience*, *4*, 186.
- Kabdebon, C., Fló, A., de Heering, A., & Aslin, R. (2022). The power of rhythms: how steady-state evoked responses reveal early neurocognitive development. *Neuroimage*, *254*, 119150. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119150>
- Kaczorowski, J. A., Smith, T. F., Shrewsbury, A. M., Thomas, L. R., Knopik, V. S., & Acosta, M. T. (2020). Neurofibromatosis Type 1 Implicates Ras Pathways in the Genetic Architecture of Neurodevelopmental Disorders. *Behavior Genetics*, *50*(4), 191-202. <https://doi.org/10.1007/s10519-020-09991-x>
- Karlsgodt, K. H., Rosser, T., Lutkenhoff, E. S., Cannon, T. D., Silva, A., & Bearden, C. E. (2012). Alterations in white matter microstructure in neurofibromatosis-1.
- Kehrer-Sawatzki, H., Mautner, V.-F., & Cooper, D. N. (2017). Emerging genotype–phenotype relationships in patients with large NF1 deletions. *Human Genetics*, *136*(4), 349-376. <https://doi.org/10.1007/s00439-017-1766-y>
- Knoth, I. S., Lajnef, T., Rigoulot, S., Lacourse, K., Vannasing, P., Michaud, J. L., Jacquemont, S., Major, P., Jerbi, K., & Lippé, S. (2018). Auditory repetition suppression alterations in relation to cognitive functioning in fragile X syndrome: a combined EEG and machine learning approach. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, *10*(1), 4.
- Knowles, S. J., Stafford, A. M., Zaman, T., Angara, K., Williams, M. R., Newbern, J. M., & Vogt, D. (2023). Distinct hyperactive RAS/MAPK alleles converge on common GABAergic interneuron core programs. *Development*, dev. 201371.
- Korf, B. R. (2002). Clinical features and pathobiology of neurofibromatosis 1. *Journal of Child Neurology*, *17*(8), 573-577.
- Köster, M., Brzozowska, A., Bánki, A., Tünte, M., Ward, E. K., & Hoehl, S. (2023). Rhythmic visual stimulation as a window into early brain development: a systematic review. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 101315. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dcn.2023.101315>

- Koth, C. W., Cutting, L. E., & Denckla, M. B. (2000). The association of neurofibromatosis type 1 and attention deficit hyperactivity disorder. *Child Neuropsychology*, 6(3), 185-194.
- Krab, L. C., Aarsen, F. K., de Goede-Bolder, A., Catsman-Berrevoets, C. E., Arts, W. F., Moll, H. A., & Elgersma, Y. (2008a). Impact of neurofibromatosis type 1 on school performance. *Journal of Child Neurology*, 23(9), 1002-1010.
- Krab, L. C., de Goede-Bolder, A., Aarsen, F. K., Pluijm, S. M., Bouman, M. J., van der Geest, J. N., Lequin, M., Catsman, C. E., Arts, W. F. M., & Kushner, S. A. (2008b). Effect of simvastatin on cognitive functioning in children with neurofibromatosis type 1: a randomized controlled trial. *JAMA*, 300(3), 287-294.
- Lacroix, A., Proteau-Lemieux, M., Côté, S., Near, J., Hui, S. C. N., Edden, R. A. E., Lippé, S., Çaku, A., Corbin, F., & Lepage, J. F. (2022). Multimodal assessment of the GABA system in patients with fragile-X syndrome and neurofibromatosis of type 1. *Neurobiology of Disease*, 174, 105881. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105881>
- Lai, M. C., Lombardo, M. V., & Baron-Cohen, S. (2014). Autism. *Lancet*, 383(9920), 896-910. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)61539-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)61539-1)
- Lammert, M., Friedman, J. M., Kluwe, L., & Mautner, V. F. (2005). Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrollment. *Archives of Dermatology*, 141(1), 71-74.
- Lau, N., Feldkamp, M. M., Roncari, L., Loehr, A. H., Shannon, P., Gutmann, D. H., & Guha, A. (2000). Loss of neurofibromin is associated with activation of RAS/MAPK and PI3-K/AKT signaling in a neurofibromatosis 1 astrocytoma. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 59(9), 759-767.
- Legius, E., Messiaen, L., Wolkenstein, P., Pancza, P., Avery, R. A., Berman, Y., Blakeley, J., Babovic-Vuksanovic, D., Cunha, K. S., Ferner, R., Fisher, M. J., Friedman, J. M., Gutmann, D. H., Kehrer-Sawatzki, H., Korf, B. R., Mautner, V.-F., Peltonen, S., Rauen, K. A., Riccardi, V., . . . International Consensus Group on Neurofibromatosis Diagnostic, C. (2021). Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genetics in Medicine*. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01170-5>
- Lehtonen, A., Garg, S., Roberts, S. A., Trump, D., Evans, D. G., Green, J., & Huson, S. M. (2015). Cognition in children with neurofibromatosis type 1: data from a population-based study. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 57(7), 645-651.
- Lehtonen, A., Howie, E., Trump, D., & Huson, S. M. (2013). Behaviour in children with neurofibromatosis type 1: cognition, executive function, attention, emotion, and social competence. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 55(2), 111-125.
- Lenartowicz, A., Mazaheri, A., Jensen, O., & Loo, S. K. (2018). Aberrant Modulation of Brain Oscillatory Activity and Attentional Impairment in Attention-Deficit/Hyperactivity

- Disorder. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 3(1), 19-29.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2017.09.009>
- Levine, T. M., Materek, A., Abel, J., O'Donnell, M., & Cutting, L. E. (2006a). Cognitive profile of neurofibromatosis type 1. *Seminars in pediatric neurology*,
- Levine, T. M., Materek, A., Abel, J., O'Donnell, M., & Cutting, L. E. (2006b). Cognitive Profile of Neurofibromatosis Type 1. *Seminars in Pediatric Neurology*, 13(1), 8-20.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.spenn.2006.01.006>
- Li, W., Cui, Y., Kushner, S. A., Brown, R. A., Jentsch, J. D., Frankland, P. W., Cannon, T. D., & Silva, A. J. (2005). The HMG-CoA reductase inhibitor lovastatin reverses the learning and attention deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Current Biology*, 15(21), 1961-1967.
- Lion-François, L., Gueyffier, F., Mercier, C., Gérard, D., Herbillon, V., Kemlin, I., Rodriguez, D., Ginhoux, T., Peyric, E., & Coutinho, V. (2014). The effect of methylphenidate on neurofibromatosis type 1: a randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 9(1), 142.
- Lopes Ferraz Filho, J. R., Munis, M. P., Soares Souza, A., Sanches, R. A., Goloni-Bertollo, E. M., & Pavarino-Bertelli, E. C. (2008). Unidentified bright objects on brain MRI in children as a diagnostic criterion for neurofibromatosis type 1. *Pediatric Radiology*, 38(3), 305-310. <https://doi.org/10.1007/s00247-007-0712-x>
- Marco, E. J., Hinkley, L. B. N., Hill, S. S., & Nagarajan, S. S. (2011). Sensory Processing in Autism: A Review of Neurophysiologic Findings. *Pediatric Research*, 69(8), 48-54.  
<https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3182130c54>
- Mautner, V.-F., Kluwe, L., Thakker, S. D., & Lark, R. A. (2002). Treatment of ADHD in neurofibromatosis type 1. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 44(3), 164-170.
- Mazzocco, M. M., Turner, J. E., Denckla, M. B., Hofman, K. J., Scanlon, D. C., & Vellutino, F. R. (1995). Language and reading deficits associated with Neurofibromatosis Type 1: Evidence for a not-so-nonverbal learning disability. *Developmental Neuropsychology*, 11(4), 503-522.
- McDiarmid, T. A., Bernardos, A. C., & Rankin, C. H. (2017). Habituation is altered in neuropsychiatric disorders—A comprehensive review with recommendations for experimental design and analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 80, 286-305.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.05.028>
- Michelini, G., Salmastyan, G., Vera, J. D., & Lenartowicz, A. (2022). Event-related brain oscillations in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Psychophysiology*, 174, 29-42.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2022.01.014>

- Miller, A. H., & Halloran, M. C. (2022). Mechanistic insights from animal models of neurofibromatosis type 1 cognitive impairment. *Disease Models & Mechanisms*, *15*(8), dmm049422.
- Moratti, S., Clementz, B. A., Gao, Y., Ortiz, T., & Keil, A. (2007). Neural mechanisms of evoked oscillations: stability and interaction with transient events. *Human Brain Mapping*, *28*(12), 1318-1333.
- Morris, S. M., Acosta, M. T., Garg, S., Green, J., Huson, S., Legius, E., North, K. N., Payne, J. M., Plasschaert, E., & Frazier, T. W. (2016). Disease burden and symptom structure of autism in neurofibromatosis type 1: a study of the International NF1-ASD Consortium Team (INFACT). *Jama Psychiatry*, *73*(12), 1276-1284.
- Mueller, S., Costa, A., Keeser, D., Pogarell, O., Berman, A., Coates, U., Reiser, M. F., Riedel, M., Möller, H. J., & Ettinger, U. (2014). The effects of methylphenidate on whole brain intrinsic functional connectivity. *Human Brain Mapping*, *35*(11), 5379-5388.
- Mueller, S., Reddy, A. T., Dombi, E., Allen, J., Packer, R., Clapp, W., Goldman, S., Schorry, E., Tongsgard, J., & Blakeley, J. (2020). MEK inhibitor Binimetinib shows clinical activity in children with neurofibromatosis type 1-associated plexiform neurofibromas: A report from PNOG and the NF Clinical Trials Consortium. *Neuro-Oncology*,
- Neklyudova, A., Smirnov, K., Rebreikina, A., Martynova, O., & Sysoeva, O. (2022). Electrophysiological and Behavioral Evidence for Hyper- and Hyposensitivity in Rare Genetic Syndromes Associated with Autism. *Genes*, *13*(4), 671.  
<https://www.mdpi.com/2073-4425/13/4/671>
- Nix, J. S., Blakeley, J., & Rodriguez, F. J. (2020). An update on the central nervous system manifestations of neurofibromatosis type 1. *Acta Neuropathologica*, *139*(4), 625-641.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02002-2>
- Norcia, A. M., Appelbaum, L. G., Ales, J. M., Cottureau, B. R., & Rossion, B. (2015). The steady-state visual evoked potential in vision research: A review. *Journal of vision*, *15*(6), 4.
- Nordlund, M. L., Rizvi, T. A., Brannan, C. I., & Ratner, N. (1995). Neurofibromin expression and astrogliosis in neurofibromatosis (type 1) brains. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *54*(4), 588-600.
- North, K. (2000). Neurofibromatosis type 1. *American Journal of Medical Genetics Part A*, *97*(2), 119-127.
- North, K., Cochineas, C., Tang, E., & Fagan, E. (1994). Optic gliomas in neurofibromatosis type 1: role of visual evoked potentials. *Pediatric Neurology*, *10*(2), 117-123.
- North, K., Joy, P., Yuille, D., Cocks, N., & Hutchins, P. (1995). Cognitive function and academic performance in children with neurofibromatosis type 1. *Developmental Medicine and Child Neurology*, *37*(5), 427-436.

- Obleser, J., & Kayser, C. (2019). Neural entrainment and attentional selection in the listening brain. *Trends in Cognitive Sciences*, 23(11), 913-926.
- Ottenhoff, M. J., Rietman, A. B., Mous, S. E., Plasschaert, E., Gawehns, D., Brems, H., Oostenbrink, R., van Minkelen, R., Nellist, M., & Schorry, E. (2020). Examination of the genetic factors underlying the cognitive variability associated with neurofibromatosis type 1. *Genetics in Medicine*, 22(5), 889-897.
- Pasmant, E., Vidaud, M., Vidaud, D., & Wolkenstein, P. (2012). Neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *Journal of Medical Genetics*, 49(8), 483-489.
- Payne, J. M., Barton, B., Ullrich, N. J., Cantor, A., Hearps, S. J., Cutter, G., Rosser, T., Walsh, K. S., Gioia, G. A., & Wolters, P. L. (2016). Randomized placebo-controlled study of lovastatin in children with neurofibromatosis type 1. *Neurology*, 87(24), 2575-2584.
- Payne, J. M., Haebich, K. M., MacKenzie, R., Walsh, K. S., Hearps, S. J., Coghill, D., Barton, B., Pride, N. A., Ullrich, N. J., & Tonsgard, J. H. (2019). Cognition, ADHD symptoms, and functional impairment in children and adolescents with neurofibromatosis type 1. *Journal of Attention Disorders*, 1087054719894384.
- Payne, J. M., Moharir, M. D., Webster, R., & North, K. N. (2010). Brain structure and function in neurofibromatosis type 1: current concepts and future directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 81(3), 304-309. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.179630>
- Payne, L., & Sekuler, R. (2014). The importance of ignoring: Alpha oscillations protect selectivity. *Current directions in psychological science*, 23(3), 171-177.
- Perreault, S., Larouche, V., Tabori, U., Hawkin, C., Lippé, S., Ellezam, B., Décarie, J.-C., Théoret, Y., Métras, M.-É., & Sultan, S. (2019). A phase 2 study of trametinib for patients with pediatric glioma or plexiform neurofibroma with refractory tumor and activation of the MAPK/ERK pathway: TRAM-01. *BMC Cancer*, 19(1), 1-9.
- Perreault, S., Larouche, V., Tabori, U., Hawkins, C., Lippé, S., Ellezam, B., Decarie, J.-C., Ospina, L. H., Theoret, Y., & Desjardins, L. (2021). SYST-04. TRAM-01: A PHASE 2 STUDY OF TRAMETINIB FOR PATIENTS WITH PEDIATRIC GLIOMA WITH ACTIVATION OF THE MAPK/ERK PATHWAY. *Neuro-Oncology Advances*, 3(Supplement\_4), iv9-iv9.
- Plasschaert, E., Descheemaeker, M. J., Van Eylen, L., Noens, I., Steyaert, J., & Legius, E. (2015). Prevalence of autism spectrum disorder symptoms in children with neurofibromatosis type 1. *American Journal of Medical Genetics. Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 168(1), 72-80.
- Pobric, G., Taylor, J. R., Ramalingam, H. M., Pye, E., Robinson, L., Vassallo, G., Jung, J., Bhandary, M., Szumanska-Ryt, K., Theodosiou, L., Evans, D. G., Eelloo, J., Burkitt-Wright, E., Hulleman, J., Green, J., & Garg, S. (2022). Cognitive and Electrophysiological Correlates of Working Memory Impairments in Neurofibromatosis



Type 1. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 52(4), 1478-1494.

<https://doi.org/10.1007/s10803-021-05043-3>

Pride, N. A., Korgaonkar, M. S., North, K. N., & Payne, J. M. (2018). Impaired engagement of the ventral attention system in neurofibromatosis type 1. *Brain Imaging and Behavior*, 12(2), 499-508.

Ribeiro, M. J., d'Almeida, O. C., Ramos, F., Saraiva, J., Silva, E. D., & Castelo-Branco, M. (2014). Abnormal late visual responses and alpha oscillations in neurofibromatosis type 1: a link to visual and attention deficits. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 6(1), 4.

Ribeiro, M. J., Violante, I. R., Bernardino, I., Edden, R. A., & Castelo-Branco, M. (2015). Abnormal relationship between GABA, neurophysiology and impulsive behavior in neurofibromatosis type 1. *Cortex*, 64, 194-208.

Rigoulot, S., Knoth, I. S., Lafontaine, M.-P., Vannasing, P., Major, P., Jacquemont, S., Michaud, J. L., Jerbi, K., & Lippé, S. (2017). Altered visual repetition suppression in Fragile X Syndrome: New evidence from ERPs and oscillatory activity. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 59, 52-59.

Ross, J. M., & Hamm, J. P. (2020). Cortical microcircuit mechanisms of mismatch negativity and its underlying subcomponents. *Frontiers in Neural Circuits*, 14, 13.

Ryu, H.-H., Kang, M., Park, J., Park, S.-H., & Lee, Y.-S. (2019). Enriched expression of NF1 in inhibitory neurons in both mouse and human brain. *Molecular Brain*, 12(1), 1-5.

Sayal, K., Prasad, V., Daley, D., Ford, T., & Coghill, D. (2018). ADHD in children and young people: prevalence, care pathways, and service provision. *The Lancet Psychiatry*, 5(2), 175-186.

Schindera, C., Wingeier, K., Simonetti, B. G., Diepold, M., Nauer, C. B., Fleischhauer, J., & Steinlin, M. (2011). Macrocephaly in neurofibromatosis type 1: a sign post for optic pathway gliomas? *Child's Nervous System*, 27(12), 2107-2111.

Schrimsher, G. W., Billingsley, R. L., Slopis, J. M., & Moore III, B. D. (2003). Visual-spatial performance deficits in children with neurofibromatosis type-1. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 120(3), 326-330.

Shilyansky, C., Karlsgodt, K. H., Cummings, D. M., Sidiropoulou, K., Hardt, M., James, A. S., Ehninger, D., Bearden, C. E., Poirazi, P., & Jentsch, J. D. (2010a). Neurofibromin regulates corticostriatal inhibitory networks during working memory performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(29), 13141-13146.

Shilyansky, C., Lee, Y., & Silva, A. (2010b). Molecular and cellular mechanisms of learning disabilities: a focus on NF1. *Annual Review of Neuroscience*, 33, 221-243.

- Silva, G., Ribeiro, M. J., Costa, G. N., Violante, I., Ramos, F., Saraiva, J., & Castelo-Branco, M. (2016). Peripheral attentional targets under covert attention lead to paradoxically enhanced alpha desynchronization in neurofibromatosis type 1. *PloS One*, *11*(2), e0148600.
- Sinclair, D., Oranje, B., Razak, K. A., Siegel, S. J., & Schmid, S. (2017). Sensory processing in autism spectrum disorders and Fragile X syndrome—From the clinic to animal models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *76*, 235-253.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.05.029>
- Smith, T. F., Kaczorowski, J. A., & Acosta, M. T. (2020). An executive functioning perspective in neurofibromatosis type 1: from ADHD and autism spectrum disorder to research domains. *Child's Nervous System*, *36*(10), 2321-2332.
- Stafstrom, C. E., Staedtke, V., & Comi, A. M. (2017). Epilepsy mechanisms in neurocutaneous disorders: tuberous sclerosis complex, neurofibromatosis type 1, and Sturge–Weber syndrome. *Frontiers in Neurology*, *8*, 87.
- Tang, X., Jaenisch, R., & Sur, M. (2021). The role of GABAergic signalling in neurodevelopmental disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, *22*(5), 290-307.
- Tong, J., Hannan, F., Zhu, Y., Bernards, A., & Zhong, Y. (2002). Neurofibromin regulates G protein–stimulated adenylyl cyclase activity. *Nature Neuroscience*, *5*(2), 95.
- Torres Nupan, M. M., Velez Van Meerbeke, A., López Cabra, C. A., & Herrera Gomez, P. M. (2017). Cognitive and behavioral disorders in children with neurofibromatosis type 1. *Frontiers in Pediatrics*, *5*, 227.
- Tranel, D., Vianna, E., Manzel, K., Damasio, H., & Grabowski, T. (2009). Neuroanatomical correlates of the Benton facial recognition test and judgment of line orientation test. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, *31*(2), 219-233.
- van der Vaart, T., Plasschaert, E., Rietman, A. B., Renard, M., Oostenbrink, R., Vogels, A., de Wit, M.-C. Y., Descheemaeker, M.-J., Vergouwe, Y., & Catsman-Berrevoets, C. E. (2013). Simvastatin for cognitive deficits and behavioural problems in patients with neurofibromatosis type 1 (NF1-SIMCODA): a randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*, *12*(11), 1076-1083.
- Varnhagen, C. K., Lewin, S., Das, J., Bowen, P., MA, K., & KLIMEK, M. (1988). Neurofibromatosis and psychological processes. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics*, *9*(5), 257-265.
- Vialatte, F.-B., Maurice, M., Dauwels, J., & Cichocki, A. (2010). Steady-state visually evoked potentials: Focus on essential paradigms and future perspectives. *Progress in Neurobiology*, *90*(4), 418-438.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2009.11.005>



- Violante, I. R., Patricio, M., Bernardino, I., Rebola, J., Abrunhosa, A. J., Ferreira, N., & Castelo-Branco, M. (2016). GABA deficiency in NF1: a multimodal [11C]-flumazenil and spectroscopy study. *Neurology*, 87(9), 897-904.
- Violante, I. R., Ribeiro, M. J., Silva, E. D., & Castelo-Branco, M. (2013a). Gyrfication, cortical and subcortical morphometry in neurofibromatosis type 1: an uneven profile of developmental abnormalities. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 5, 1-13.
- Violante, I. s. R., Ribeiro, M. J., Cunha, G., Bernardino, I. s., Duarte, J. V., Ramos, F., Saraiva, J., Silva, E., & Castelo-Branco, M. (2012). Abnormal brain activation in neurofibromatosis type 1: a link between visual processing and the default mode network. *PloS One*, 7(6), e38785.
- Violante, I. s. R., Ribeiro, M. J., Edden, R. A., Guimarães, P., Bernardino, I., Rebola, J., Cunha, G., Silva, E., & Castelo-Branco, M. (2013b). GABA deficit in the visual cortex of patients with neurofibromatosis type 1: genotype–phenotype correlations and functional impact. *Brain*, 136(3), 918-925.
- von Recklinghausen, F. D. (1882). Über die multiplen Fibrome der Haut und ihre Beziehung zu den multiplen Neuromen. *Berlin Virchows Hirschward*, 1-41.
- Wallace, M. R., Marchuk, D. A., Andersen, L. B., Letcher, R., Odeh, H. M., Saulino, A. M., Fountain, J. W., Brereton, A., Nicholson, J., & Mitchell, A. L. (1990). Type 1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. *Science*, 249(4965), 181-186.
- Walsh, K. S., Velez, J. I., Kardel, P. G., Imas, D. M., Muenke, M., Packer, R. J., Castellanos, F. X., & Acosta, M. T. (2013). Symptomatology of autism spectrum disorder in a population with neurofibromatosis type 1. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 55(2), 131-138.
- Walsh, K. S., Wolters, P. L., Widemann, B. C., Del Castillo, A., Sady, M. D., Inker, T., Roderick, M. C., Martin, S., Toledo-Tamula, M. A., & Struempf, K. (2021). Impact of MEK Inhibitor Therapy on Neurocognitive Functioning in NF1. *Neurology Genetics*, 7(5).
- Weiss, B. D., Wolters, P. L., Plotkin, S. R., Widemann, B. C., Tongsgard, J. H., Blakeley, J., Allen, J. C., Schorry, E., Korf, B., & Robison, N. J. (2021). NF106: a neurofibromatosis clinical trials consortium phase II trial of the MEK inhibitor mirdametinib (PD-0325901) in adolescents and adults with NF1-related plexiform neurofibromas. *Journal of Clinical Oncology*, 39(7), 797-806.
- Wolman, M. A., de Groh, E. D., McBride, S. M., Jongens, T. A., Granato, M., & Epstein, J. A. (2014). Modulation of cAMP and ras signaling pathways improves distinct behavioral deficits in a zebrafish model of neurofibromatosis type 1. *Cell Reports*, 8(5), 1265-1270.
- Xing, P. (2016). Implication de Syngap1 dans la transmission GABAergique et la plasticité synaptique.

Yap, Y.-S., McPherson, J. R., Ong, C.-K., Rozen, S. G., Teh, B.-T., Lee, A. S., & Callen, D. F. (2014). The NF1 gene revisited—from bench to bedside. *Oncotarget*, 5(15), 5873.

Yerdelen, D., Koc, F., Durdu, M., & Karakas, M. (2011). Electrophysiological findings in neurofibromatosis type 1. *Journal of the Neurological Sciences*, 306(1), 42-48.

## **Annexe I. Impact of trametinib on the neuropsychological profile of NF1 patients**

Eve Lalancette BSc<sup>1</sup>, Édith Cantin PhD<sup>3</sup>, Marie-Ève Routhier D.Psy<sup>3</sup>, Chantal Mailloux PhD<sup>4</sup>, Marie-Claude Bertrand PhD<sup>4</sup>, Dorsa Sadat Kiaei MSc<sup>1</sup>, Valérie Larouche MD<sup>5</sup>, Uri Tabori MD<sup>6</sup>, Cynthia Hawkins PhD MD<sup>7</sup>, Benjamin Ellezam MD<sup>8</sup>, Jean-Claude Décarie MD<sup>9</sup>, Yves Théoret MD<sup>10</sup>, Marie-Élaine Métras PharmD<sup>10</sup>, Tara McKeown NP<sup>6</sup>, Luis H Ospina MD<sup>11</sup>, Stéphanie Vairy MD<sup>12</sup>, Vijay Ramaswamy MD<sup>6</sup>, Hallie Coltin MD<sup>13</sup>, Serge Sultan PhD<sup>1</sup>, Geneviève Legault MD<sup>14</sup>, Éric Bouffet MD<sup>6</sup>, Lucie Lafay-Cousin MD<sup>15</sup>, Juliette Hukin MBBS<sup>16</sup>, Craig Erker MD<sup>17</sup>, Maxime Caru PhD, PhD<sup>2</sup>, Mathieu Dehaes PhD<sup>1,20</sup>, Nada Jabado MD<sup>18</sup>, Sébastien Perreault MD<sup>19</sup> \*& Sarah Lippé PhD<sup>1,21</sup>\*

\*co-senior authors.

<sup>1</sup> CHU Sainte-Justine Research Center, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>2</sup> Department of Pediatrics, Division of Hematology and Oncology, Pennsylvania State Health Children's Hospital, Hershey, PA, USA

<sup>3</sup> Division of Neuropsychology, Centre Hospitalier Universitaire de Québec-Université Laval, Quebec City, QC, Canada

<sup>4</sup> Division of Neuropsychology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>5</sup> Division of Hemato-Oncology, Department of Pediatrics, Centre Hospitalier Universitaire de Québec-Université Laval, Quebec City, QC, Canada

<sup>6</sup> Division of Hemato-Oncology, Department of Pediatrics, Hospital for Sick Children, Toronto, ON, Canada

<sup>7</sup> Department of Pathology, Hospital for Sick Children, Toronto, ON, Canada

<sup>8</sup> Department of Pathology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>9</sup> Department of Radiology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>10</sup> Department of Pharmacology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>11</sup> Department of ophthalmology, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>12</sup> Division of Hemato-Oncology, CHU Sherbrooke, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada

<sup>13</sup> Department of Hemato-Oncology, CHU Sainte Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>14</sup> Division of Neurology, Department of Pediatrics, McGill University Health Center, Montreal Children's Hospital, Montréal, QC, Canada

<sup>15</sup> Departments of Oncology and Pediatrics; Alberta Children's Hospital, University of Calgary, Cumming School of Medicine, Calgary, AB, Canada

<sup>16</sup> Department of pediatrics, Divisions of Neurology and Oncology, BC Children's Hospital, University of British Columbia, BC, Vancouver, British Columbia, Canada

<sup>17</sup> Division of Hemato-Oncology, Department of Pediatrics, IWK Health Centre, Dalhousie University, Halifax, NS, Canada

<sup>18</sup> Division of Hemato-Oncology, Department of Pediatrics, McGill University Health Center, Montreal Children's Hospital, Montréal, QC, Canada

<sup>19</sup> Division of Child Neurology, Department of Pediatrics, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada

<sup>20</sup> Department of Radiology, Radio-oncology and Nuclear Medicine, University of Montréal, Montréal, Canada.

<sup>21</sup> Department of Psychology, Faculty of Arts and Sciences, University of Montréal, Montréal, Canada.

Corresponding author: Eve Lalancette (eve.lalancette.1@umontreal.ca)

Publié dans *Journal of Neuro-Oncology* (2024)

<https://doi.org/10.1007/s11060-024-04624-3>

## **Abstract**

**Purpose:** The use of trametinib in the treatment of pediatric low-grade gliomas (PLGG) and plexiform neurofibroma (PN) is being investigated in an ongoing multicenter phase II trial (NCT03363217). Preliminary data shows potential benefits with significant response in the majority of PLGG and PN and an overall good tolerance. Moreover, possible benefits of MEK inhibitor therapy on cognitive functioning in neurofibromatosis type 1 (NF1) were recently shown which supports the need for further evaluation.

**Methods:** Thirty-six patients with NF1 (age range 3-19 years) enrolled in the phase II study of trametinib underwent a neurocognitive assessment at inclusion and at completion of the 72-week treatment. Age-appropriate Wechsler Intelligence Scales and the Trail Making Test (for children over 8 years old) were administered at each assessment. Paired t-tests and Reliable Change Index (RCI) analyses were performed to investigate change in neurocognitive outcomes. Regression analyses were used to investigate the contribution of age and baseline score in the prediction of change.

**Results:** Stable performance on neurocognitive tests was revealed at a group-level using paired t-tests. Clinically significant improvements were however found on specific indexes of the Wechsler intelligence scales and Trail Making Test, using RCI analyses. No significant impact of age on cognitive change was evidenced. However, lower initial cognitive performance was associated with increased odds of presenting clinically significant improvements on neurocognitive outcomes.

**Conclusion:** These preliminary results show a potential positive effect of trametinib on cognition in patients with NF1. We observed significant improvements in processing speed, visuo-motor and verbal abilities. This study demonstrates the importance of including neuropsychological evaluations into clinical trial when using MEK inhibitors for patients with NF1.

**Keywords:** Trametinib · MEK inhibitor · Neurofibromatosis type 1 · Neuropsychological profile

## 1. Introduction

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is one of the most frequent autosomal dominant neurogenetic conditions and affects 1:3000 individuals [1]. This condition is caused by a mutation in the NF1 gene encoding neurofibromin, a negative regulator of the RAS pathway which includes kinases, such as MEK and ERK [2].

NF1 is characterized by various neurocutaneous cardinal manifestations including café-au-lait macules, cutaneous neurofibromas, plexiform neurofibromas (PN) and gliomas. However, the most common clinical feature that affects individuals with NF1 regarding their autonomy and quality of life is related to a propensity for NF1-associated cognitive impairments. While intelligence is usually only mildly affected, specific impairments in verbal comprehension, executive function, visuospatial perception, and spatial memory are common [3, 4].

Cognitive deficits in NF1 patients could result from the overactivity of RAS/ERK pathway downstream signaling cascades, which are vital in long-term potentiation and cortical plasticity [5, 6]. Mice with a heterozygous inactivating mutation in the NF1 gene (Nf1<sup>+/-</sup>) have been used to model the pathology underlying the human cognitive phenotype. Spatial learning and attention impairments have been associated with elevated RAS activity, increased activity-dependent gamma-aminobutyric acid (GABA) release and reduced synaptic plasticity [7]. In humans, magnetic resonance spectroscopy studies have confirmed alterations in the GABA system, although revealing decreased concentration levels [7-9].

Over the last decade, tremendous advances have been made in comprehension and specific targeting of the MAPK pathway. Most of this research comes from the oncology field with the development of MEK inhibitors (MEKi) for treatment of melanomas and lung cancers [10, 11]. MEKi have also been investigated for treatment of glioma and PN in children with NF1. Different groups have shown response in more than 60% of patients with either selumetinib, trametinib, binimetinib, and mirdametinib, demonstrating a clear class effect [12-17].

Giving the efficacy in treatment of NF1-associated tumors and the potential effect of MEKi on neuronal functions, MEKi may have an impact on the NF1-associated cognitive deficit. One preclinical study suggested benefit on cognitive function with inhibition of MEK in Nf1<sup>+/-</sup> mouse models [2]. The investigators demonstrated a robust therapeutic response with MEKi

treatment which not only rescued the neuronal abnormality and the size of the corpus callosum, but also improved the overall health of Nf1<sup>+/-</sup> mouse models [2]. MEKi were also found to improve cognition and behavior, including social behavior, in other rasopathy mouse models of neurodevelopment [18].

Based on these preclinical models and clinical experience, Walsh, Wolters [19] assessed cognitive function of 59 individuals with NF1 aged 5–27 years treated for PN with various MEKi. Each individual underwent pretreatment and follow-up cognitive assessments over 48 weeks of treatment. The primary outcomes were performance tasks (Cogstate) and parent-reported Behavior Rating Inventory of Executive Functioning (BRIEF). Their analysis showed a statistically significant improvement on BRIEF compared with baseline. Reliable Change Index (RCI) indicated that more patients had clinically significant improvement at 48 weeks than expected by chance. Group-level analyses indicated stable performance on Cogstate but RCI statistics showed high proportions of improved working memory. Individuals with baseline impairments were more likely to show significant improvement than nonimpaired individuals.

In 2018, our group launched a multicentric Canadian study that included children with progressive/refractory LGG and PN treated with trametinib, TRAM-01 (NCT03363217). Neurocognitive outcome of patients with NF1 treated with trametinib was an exploratory aim. We hypothesized that patients with NF1 receiving trametinib would show improvement in their neurocognitive assessment.

## **2. Methods**

### **2.1 Patients**

The TRAM-01 study was a phase II open-label basket trial (NCT03363217) that completed recruitment in October 2022. A total of seven pediatric Canadian academic hospitals participated in this trial which included four groups of patients (Group 1: NF1 patients with progressive/refractory glioma; Group 2: NF1 patients with PN (as first line or for refractory tumors); Group 3: patients with progressive/refractory glioma with KIAA1549-BRAF fusion; Group 4: other patients with progressive/refractory glioma with activation of the MAPK/ERK pathway). Only NF1 patients (i.e., Groups 1 and 2) completed neurocognitive assessments. Groups 3 and 4 were thus excluded from the analyses on neurocognitive outcomes, as well as

NF1 patients under the age of 3 given the minimum age of administration of the selected neuropsychological battery. NF1 patients were required to have had at least two diagnostic criteria for NF1 based on the International Consensus Group on Neurofibromatosis Diagnostic Criteria [20]. A total of 50 patients with NF1 enrolled in the trial were eligible for the study.

## **2.2 Neuropsychological measures**

Neuropsychological evaluations were conducted within 35 days prior to start/or within 28 days following start of therapy and at the end of treatment (between cycle 17 and the end of cycle 18) for NF1 patients.

The neuropsychological assessments were conducted in the different study sites by a registered neuropsychologist or a graduate student in Clinical Neuropsychology. Intellectual functioning was measured with the age-appropriate Wechsler Intelligence Scale. Outcome measures consisted of the five primary index scores (Verbal Comprehension Index (VCI), Visual Spatial Index (VSI), Fluid Reasoning Index (FRI), Working Memory Index (WMI), Processing Speed Index (PSI)) and the Full-Scale Intelligence Quotient (FSIQ).

The Delis–Kaplan Executive Function System (D-KEFS) Trail Making Test was also administered to patients aged 8 or older to measure visual scanning, processing speed, cognitive flexibility and visuo-motor abilities [21]. Analyses were performed on the primary measures derived from the five test conditions (Visual scanning, Number sequencing, Letter sequencing, Number-letter switching, Motor speed).

## **2.3 Statistical analyses**

Statistical analyses were carried out using IBM SPSS, version 26 (IBM, Armonk, NY, USA).

Paired t-tests were used to analyze change in neuropsychological scores at the group level, between the pre-treatment and post-treatment assessments.

Individual-level analyses were then performed using the Reliable Change Index (RCI) methodology, as described by Walsh, Wolters [19]. The RCI methodology generates a cutoff for each test outcome, using a 90% confidence interval. Each participant's score difference is then



compared to this cutoff to determine if a clinically significant change has occurred, and classified as declined, stable or improved. See supplementary material for a complete description of the RCI methodology and cutoffs.

To determine if the distribution of declined/stable/improved performance in the NF1 sample significantly differed from the expected distribution in a normative sample (5/90/5%), chi-square tests ( $\chi^2$ ) were performed, with 2 (NF/expected) x 3 (declined/stable/improved) contingency tables [19]. Given the relatively small sample size, all contingency tables had more than 20% of expected frequencies below 5. Thus, the likelihood ratio chi-square ( $L\chi^2$ ) was used [22]. When the  $L\chi^2$  analysis indicated a significant effect, adjusted standardised residuals (ASR) were calculated to ascertain the nature of the effect. ASR of  $> 1.96$  or  $< -1.96$  was used as a threshold to determine what portion of the distribution was significantly different from the expected distribution [22]. The effect size was calculated using with Cramer's V which is recommended for contingency tables larger than 2x2 [22].

Then, regression analyses were used to study the impact of age and initial performance on neuropsychological change. An ordinal regression procedure was performed for each neuropsychological index, with the RCI classification as the ordinal dependent variable (0=declined/1=stable/2=improved performance), and the age and baseline performance as covariates (independent continuous variables).

Finally, false discovery rate (FDR) correction (Benjamini–Hochberg procedure) was applied to control for multiple testing within each statistical method (paired *t*-test, chi-square test, ordinal regression) given the analysis of numerous neuropsychological indexes.

## **2.4 Standard Protocol Approvals, Registrations, and Patient Consents**

Full ethical approval for the study was obtained from the Research Ethics Committee from CHU Sainte-Justine. The TRAM-01 study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki. Written consent to participate was obtained from participants or parents/legal guardians for minors; assent was obtained from children able to understand. Data management, monitoring and reporting of the study were performed in accordance with the ICP-GCP guidelines [16].

## 2.5 Data Availability

Anonymized data will be shared on request from any qualified investigator.

## 3. Results

### 3.1 Patients

Fifty patients with NF1 enrolled in the clinical trial were eligible for the study. Six patients discontinued treatment, six patients did not perform the second neuropsychological assessment and two patients completed the second assessment with a delay exceeding the 18 cycles. The remaining 36 patients (7 with PLGG and 29 with PN) completed the pre-treatment and post-treatment assessments with a mean of 15.2 months between measures. Patients were aged from 3 to 19 years old, 19 (52.8%) were females and 23 (63.9%) were Caucasian. Two patients were under anticonvulsant medication throughout the treatment and 9 were taking psychostimulant medication (Table 1).

Overall treatment was well tolerated and most the most frequent adverse events observed within our cohort include cutaneous rashes, fatigue, diarrhea, vomiting, creatine phosphokinase increase, and alanine transaminase.

**Table 1.** Patient Characteristics

<b>Age at first evaluation (years)</b>	
Mean (SD)	10.6 (4.6)
Range	3.3 – 19.8
<b>Sex (females), n (%)</b>	19 (52.8)
<b>Ethnicity, n (%)</b>	
Caucasian	23 (63.9)
Asian	2 (5.6)
African American	1 (2.8)
Hispanic	1 (2.8)

Other	8 (22.2)
Unknown	1 (2.8)
<b>Type of tumor, n (%)</b>	
Pediatric low-grade gliomas (PLGG)	7 (19.4)
Plexiform neurofibromas (PN)	29 (80.6)
<b>Time between neuropsychological assessments (months)</b>	
Mean (SD)	15.2 (1.2)
Range	12.8 – 18.5
<b>Other medications</b>	
Anticonvulsants (n)	2
Psychostimulants (n)	9

### 3.2 Neuropsychological change

#### 3.2.1 Stable performance revealed by group-level analyses

Group-level analyses, using paired *t*-tests, revealed stable performance on all outcomes from the Wechsler Intelligence Scale (Table 2). Primary indexes' mean scores were mainly found at the upper limit of the low average range on both assessments. Mean pre-treatment and post-treatment FSIQ scores were also in the low average range and around one SD below average.

Paired *t*-tests also revealed stable performance on most indexes of the Trail Making Test, except for the Letter sequencing condition which showed a significant increase in post-treatment scores ( $t(19) = -2.24, p = 0.038, r = 0.46$ ) (Table 2). When comparing both assessments, mean scores on the Letter sequencing condition went from the borderline to the low average range, an increase representing a medium to large effect size [22]. However, this increase in scores did not remain significant after the FDR correction for multiple testing. Exploratory statistical testing on the 9 patients taking psychostimulant were not significant, suggesting the medication did not affect response to treatment (see supplementary material).

**Table 2.** Pre-treatment and post-treatment neuropsychological results

Test outcome measures	Sample size	Impaired initial performance <sup>a</sup>	Pre-treatment assessment	Post-treatment assessment	Difference between assessments	Paired t-test		
						n	n (%)	Mean (SD)
<b>Wechsler Intelligence Scale</b>								
VCI	36	13 (36.1)	88.4 (15.9)	88.1 (15.3)	-0.3 (8.5)	0.23	0.82	0.04
VSI	32	13 (40.6)	86.8 (14.6)	88.1 (12.4)	1.3 (9.4)	-0.79	0.44	0.14
FRI	29	10 (34.5)	89.9 (13.4)	90.3 (15.7)	0.4 (9.7)	-0.23	0.82	0.04
WMI	28	12 (42.9)	88.4 (15.3)	88.1 (14.1)	-0.3 (11.7)	0.15	0.89	0.03
PSI	27	11 (40.7)	87.2 (20.1)	89.6 (15.7)	2.4 (16.3)	-0.76	0.46	0.15
FSIQ	30	13 (43.3)	84.4 (14.4)	85.3 (14.8)	0.8 (6.2)	-0.77	0.45	0.14
<b>Trail Making Test</b>								
Visual scanning	20	7 (35)	7.9 (3.4)	8.5 (3.5)	0.6 (2.7)	-0.92	0.37	0.21
Number sequencing	20	9 (45)	7.5 (3.9)	8.1 (4.1)	0.6 (3.9)	-0.69	0.50	0.16
Letter sequencing	20	13 (65)	5.2 (4.3)	7.2 (4.7)	2.0 (3.8)	-2.24	0.038*	0.46
Number-letter switching	19	7 (36.8)	7.1 (3.9)	7.8 (3.8)	0.7 (2.6)	-1.26	0.23	0.28
Motor speed	18	6 (33.3)	8.3 (4.5)	10.0 (2.8)	1.7 (3.4)	-2.09	0.052	0.45

*Abbreviations:* SD, standard deviation; VCI, verbal comprehension index; VSI, visual spatial index; FRI, fluid reasoning index; WMI, working memory index; PSI, processing speed index; FSIQ, full scale intelligence quotient.

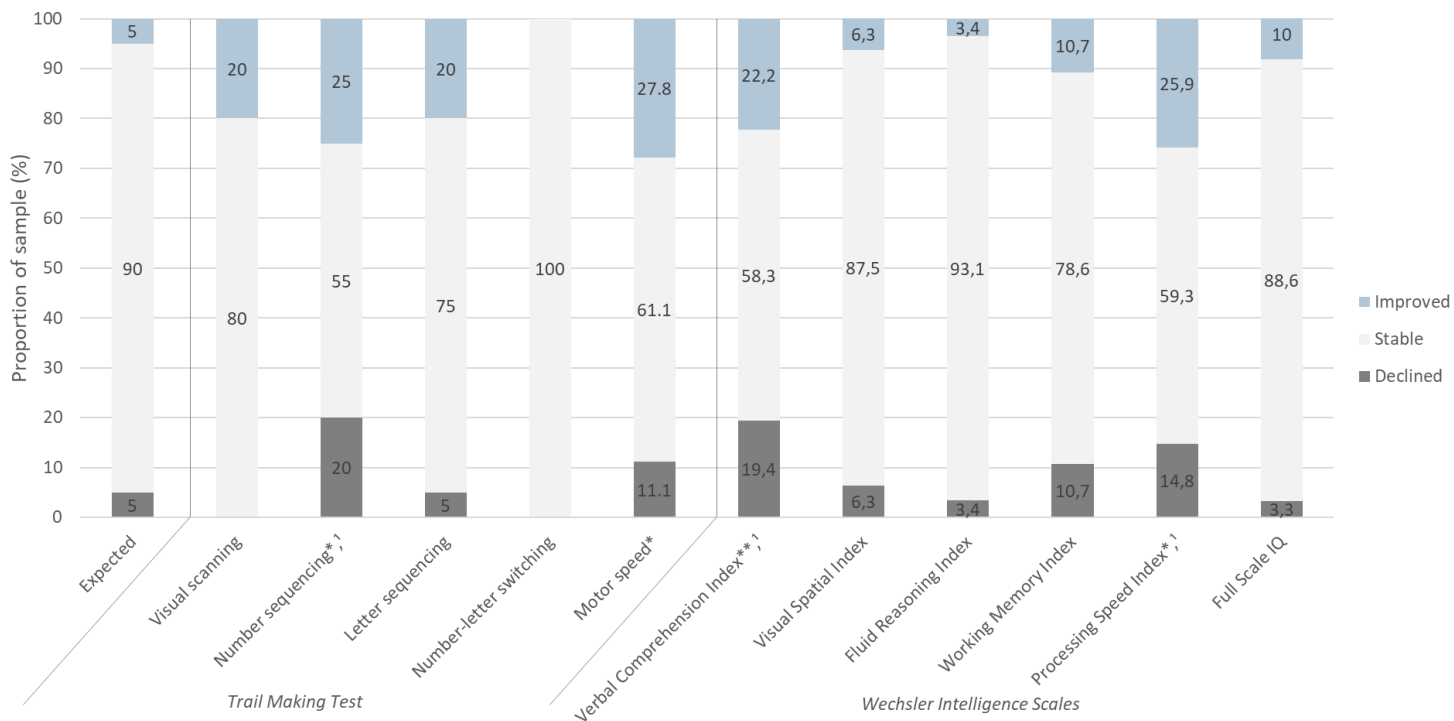
Results of the Wechsler Intelligence Scales are presented in composite scores with a mean of 100 and a SD of 15. Results of the Trail Making Test are presented in scaled scores with a mean of 10 and a SD of 3.

<sup>a</sup> Impaired initial performance is defined as a pre-treatment score of 1 SD below normative mean.

\* $p < 0.05$ .

### *3.2.2 Clinically significant change revealed by individual-level analyses*

Individual-level analyses showed significant change on the Weschler's VCI ( $L\chi^2(2) = 10.58, p = 0.005, V = 0.37$ ) and PSI ( $L\chi^2(2) = 8.98, p = 0.011, V = 0.37$ ). Post-hoc analyses revealed higher proportions of improvements (VCI: ASR = 2.2; PSI: ASR = 2.5) and lower proportions of stable performance (VCI: ASR = -3.2; PSI: ASR = -3.0) for both indexes. The proportion of declined scores (ASR = 1.94) was not significantly larger than the expected distribution (VCI: ASR = 1.94; PSI: ASR = 1.4), although close to the critical value of ASR=1.96 for the VCI (Fig. 1). RCI analyses with the Trail Making Test revealed a significant difference in the Number sequencing condition ( $L\chi^2(2) = 9.22, p = 0.010, V = 0.40$ ), with less stable performance (ASR = -3.1) and a higher proportion of improved performance (ASR = 2.3). Declined scores on the Number sequencing condition were not significantly larger when compared to the expected distribution (ASR = 1.8), although close to the critical value of ASR=1.96. A significant difference was also found on the Motor speed condition ( $L\chi^2(2) = 6.78, p = 0.034, V = 0.35$ ). Post-hoc analysis revealed a significantly lower proportion of stable performance (ASR = -2.6) and higher proportion of improvements (ASR = 2.5), while the proportion of declines was not significantly larger than expected (ASR = 0.8). This last finding regarding the Motor speed condition did not however remain significant after applying the FDR correction for multiple testing, while all other differences in the distributions previously reported did reach the adjusted significance threshold after correction (Fig. 1).



**Fig. 1** Distributions of declined/stable/improved performance based on the Reliable Change Index (RCI) analysis with a 90% confidence interval. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , <sup>1</sup> Significant after FDR correction. Significant effects emerge from the comparison with the expected distribution in a normative sample (5/90/5%).

### 3.3 Impact of age and initial performance on neuropsychological change

Age and baseline level of performance were entered as covariates in ordinal regression models to determine their contribution in the prediction of neuropsychological change. Age was not significantly associated with neuropsychological change, in any of the Wechsler intelligence scale and Trail Making Test's indexes measured (all  $p > 0.05$ ). On the other hand, initial performance did significantly contribute to the prediction of change in certain indexes. A significant negative relationship was found between initial performance and neuropsychological change in the VSI (OR = 0.89; 95% CI = 0.81 to 0.97; Wald  $\chi^2(1) = 6.74$ ,  $p = 0.009$ ), PSI (OR = 0.92; 95% CI = 0.87 to 0.97; Wald  $\chi^2(1) = 9.66$ ,  $p = 0.002$ ) and the Number sequencing condition (OR = 0.74; 95% CI = 0.56 to 0.96; Wald  $\chi^2(1) = 5.03$ ,  $p = 0.025$ ). Increased odds of presenting clinically significant change were thus associated with lower initial performance in

these indexes. The associations found with the VSI and PSI did remain significant after applying the FDR correction for multiple testing, while the effect found in the Number sequencing condition did not.

#### **4. Discussion**

Our study evaluated the potential effect of MEKi on neurocognitive outcomes in children with NF1. Assessments were conducted at baseline and following continuous treatment with trametinib. Our findings suggest that NF1 patients demonstrate cognitive improvement, in visuo-motor abilities, processing speed and verbal comprehension, when treated with MEKi. These positive outcomes are in keeping with the result of a previous study of MEKi use in patients with NF1 [19]. Although the clinical tools used to assess participants differed from those used by Walsh, Wolters [19], both studies confirmed the results of preclinical studies showing MEKi-related improvement on neurocognition in NF1 [2, 18]. One possible mechanism of action for MEKi is the reversal of increased GABA release and reduction in synaptic plasticity posited in NF1 [7]. To understand the exact mechanism in human, further investigations using brain activity measurements including neuroimaging and spectroscopy are necessary.

Treatment-related changes were predominantly observed in patients who initially performed at least one standard deviation below the mean, whereas patient without difficulties at baseline showed less significant improvements. This association may suggest that a subpopulation of NF1 children with more severe baseline impairments may most benefit from regulation of the MEK pathway. Our results corroborate the findings of Walsh, Wolters [19], where MEKi improved behavioral regulation, metacognition, and working memory in NF1 children who exhibited impaired performance at baseline. Our results on visuo-motor speed and precision could thus be related to improvement in various skills such as attention, regulation and cognitive abilities involved in task engagement. We cannot exclude that some of the improvements associated with enhanced visual or motor function may also be related, to some extent, to the tumor response. However, we did not find such an association in our cohort. The limited number of patients included in the analyses contributes to the limitations in the conclusions that can be drawn. Nevertheless, our study also demonstrated significant increase in the VCI of the Wechsler scale. The VCI is a measure of abstract verbal reasoning, vocabulary, and the capacity to verbally

express answers. Verbal abilities can of course improve over time, practice, teaching, and their progressions are better supported in higher socio-economic status (SES). Here, our measures were scored according to age-related norms, SES did not change over the course of the intervention and our statistical analysis adjusted for possible practice effect. One possible explanation for changes in verbal comprehension is that the improvement of metacognitive skills may support engagement in extracting meaning, contextual comprehension, and employment of appropriate strategies to enhance verbal comprehension [23].

No impact of age on cognitive outcomes was found, suggesting MEKi act upon the pathway activity regulation similarly across youth ages. However, children under the age of 3 were not included in this study, given that the neuropsychological assessment of these children are carried out with different test batteries, which limits our conclusion as for the possible benefits of early treatment. Thus, more research is needed to verify whether MEKi treatment would result in greater and more generalised improvements in younger children with NF1. Since the improved cognitive domains found in this study are foundational to general cognitive development, optimized results can be expected from early treatment.

One limitation of our study is the sample size of the cognitive investigation. Since the primary objective of the TRAM-01 was not the neurocognitive outcomes, the study was not specifically powered to address this question. Moreover, our study was an open-label single arm clinical trial, therefore a placebo effect cannot be excluded. However, the trial used objective standardised cognitive measures administered by neuropsychologists, which can potentially diminish placebo effect. Furthermore, learning effects are unlikely given that 16 months separated each testing and because we used a statistical procedure that allowed to adjust for practice effect. A limitation of the RCI procedure is the absence of correction for regression to the mean, which can influence the magnitude of change between assessments. This effect could contribute to the increased odds of showing significant change in patients with extreme score at baseline. Although we observed significant changes in cognitive outcomes, several questions remain with regards to the duration of the cognitive change, the optimal treatment dosage and treatment duration to gain benefit, the extent of cognitive domains that could be improved or diminished by the treatment, whether treatment with other molecules would further enhance cognitive changes. To address these



specific and important questions, a new randomized study with the neurocognitive outcome as the primary objective is needed and is currently in development.

In conclusion, clinically significant improvements in neuropsychological outcomes were found in this sample of children and adolescents with NF1 following a 16 month treatment with trametinib. This study thus supports the potential benefits of MEKi treatment on cognitive functioning previously described in NF1. Improvements in processing speed, visuo-motor and verbal abilities can have considerable impact on school performance, especially in patients with initial impairments who benefit the most from the treatment. Future studies are needed to confirm these exploratory analyses and to determine the range of cognitive abilities that can be modulated by MEKi. Multi-modal studies will also be necessary to investigate the impact of MEK inhibition on neural activity to elucidate the mechanisms underlying cognitive improvements.

## Acknowledgments

Mélanie Alves for her support during the preparation of this manuscript. Funding for this study came from the Canadian Institute Health Research (SP, SL), Association de la Neurofibromatose du Québec (SL) and the Fondation du Grand défi Pierre Lavoie (SL), Fonds de Recherche en Santé du Québec (SL, EL, SP).

## References

1. Lammert, M., et al., *Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrollment*. Archives of dermatology, 2005. **141**(1): p. 71-74.
2. Wang, Y., et al., *ERK inhibition rescues defects in fate specification of Nf1-deficient neural progenitors and brain abnormalities*. Cell, 2012. **150**(4): p. 816-830.
3. Hyman, S.L., A. Shores, and K.N. North, *The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1*. Neurology, 2005. **65**(7): p. 1037-1044.
4. Payne, J.M., et al., *Paired associate learning in children with neurofibromatosis type 1: implications for clinical trials*. Journal of neurology, 2013. **260**(1): p. 214-220.

5. Sweatt, J.D., *Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory*. Current opinion in neurobiology, 2004. **14**(3): p. 311-317.
6. Thomas, G.M. and R.L. Huganir, *MAPK cascade signalling and synaptic plasticity*. Nature Reviews Neuroscience, 2004. **5**(3): p. 173-183.
7. Ribeiro, M.J., et al., *Abnormal relationship between GABA, neurophysiology and impulsive behavior in neurofibromatosis type 1*. Cortex, 2015. **64**: p. 194-208.
8. Lacroix, A., et al., *Multimodal assessment of the GABA system in patients with fragile-X syndrome and neurofibromatosis of type 1*. Neurobiol Dis, 2022. **174**: p. 105881.
9. Violante, I.R., et al., *GABA deficiency in NF1: a multimodal [11C]-flumazenil and spectroscopy study*. Neurology, 2016. **87**(9): p. 897-904.
10. Kim, K.B., et al., *Phase II study of the MEK1/MEK2 inhibitor Trametinib in patients with metastatic BRAF-mutant cutaneous melanoma previously treated with or without a BRAF inhibitor*. Journal of Clinical Oncology, 2013. **31**(4): p. 482.
11. Blumenschein Jr, G., et al., *A randomized phase II study of the MEK1/MEK2 inhibitor trametinib (GSK1120212) compared with docetaxel in KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC)*. Annals of Oncology, 2015. **26**(5): p. 894-901.
12. Dombi, E., et al., *Activity of selumetinib in neurofibromatosis type 1–related plexiform neurofibromas*. New England Journal of Medicine, 2016. **375**(26): p. 2550-2560.
13. Gross, A.M., et al., *Selumetinib in children with inoperable plexiform neurofibromas*. New England Journal of Medicine, 2020. **382**(15): p. 1430-1442.
14. Mueller, S., et al., *NFB-17. MEK INHIBITOR BINIMETINIB SHOWS CLINICAL ACTIVITY IN CHILDREN WITH NEUROFIBROMATOSIS TYPE 1- ASSOCIATED PLEXIFORM NEUROFIBROMAS: A REPORT FROM PNOG AND THE NF CLINICAL TRIALS CONSORTIUM*. Neuro Oncol, 2020. **22**(Suppl 3): p. iii420-1.
15. Perreault, S., et al., *A phase 2 study of trametinib for patients with pediatric glioma or plexiform neurofibroma with refractory tumor and activation of the MAPK/ERK pathway: TRAM-01*. BMC cancer, 2019. **19**(1): p. 1-9.
16. Perreault, S., et al., *SYST-04. TRAM-01: A PHASE 2 STUDY OF TRAMETINIB FOR PATIENTS WITH PEDIATRIC GLIOMA WITH ACTIVATION OF THE MAPK/ERK PATHWAY*. Neuro-Oncology Advances, 2021. **3**(Supplement\_4): p. iv9-iv9.

17. Weiss, B.D., et al., *NF106: a neurofibromatosis clinical trials consortium phase II trial of the MEK inhibitor mirdametinib (PD-0325901) in adolescents and adults with NF1-related plexiform neurofibromas*. *Journal of Clinical Oncology*, 2021. **39**(7): p. 797-806.
18. Borrie, S.C., et al., *MEK inhibition ameliorates social behavior phenotypes in a *Spre1* knockout mouse model for RASopathy disorders*. *Mol Autism*, 2021. **12**(1): p. 53.
19. Walsh, K.S., et al., *Impact of MEK Inhibitor Therapy on Neurocognitive Functioning in NF1*. *Neurology Genetics*, 2021. **7**(5): p. e616.
20. Legius, E., et al., *Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation*. *Genetics in Medicine*, 2021. **23**(8): p. 1506-1513.
21. Delis, D.C., E. Kaplan, and J.H. Kramer, *Delis-Kaplan executive function system (D-KEFS)*. 2001a, San Antonio, TX: San Antonio, TX: The Psychological Corporation.
22. Field, A., *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*. 4th edition ed. 2013, London, England: SAGE Publications.
23. Dugan, J.A. and P.J. Bauer, *Putting the pieces together: Cognitive correlates of self-derivation of new knowledge in elementary school classrooms*. *J Exp Child Psychol*, 2022. **221**: p. 105441.

## Supplementary Material :

### Reliable Change Index methodology

First, a standard error of measurement (SEM) is calculated using the test's standard deviation (SD) and test-retest reliability ( $r_{12}$ ) presented in the normative data, with the following formula:

$$SEM = SD * \sqrt{1 - r_{12}}$$

From the SEM of the first ( $SEM_1$ ) and second ( $SEM_2$ ) test administration, a standard error of the difference ( $SE_{diff}$ ) is calculated, using the modified formula adjusted for practice effects:

$$SE_{diff} = \sqrt{SEM_1^2 + SEM_2^2}$$

This  $SE_{diff}$  describes the distribution of expected score variation between test and retest if no systematic change had occurred. This value was calculated for each outcome measure based on the SD and test-retest reliability presented in the test's normative data.

Next, a 90% confidence interval was constructed by multiplying the  $SE_{diff}$  by  $\pm 1.64$ , which provided the cutoff (see supplementary Table 1) that was used to determine if a clinically significant change had occurred.

For each patient and each outcome measure, the difference in scores between assessments (post-treatment score minus pre-treatment score) was compared to this cutoff and classified as declined, stable or improved. Considering the 90% confidence interval typically used to assess reliable neuropsychological change, the expected distribution in a normative sample where no systematic change had occurred would be of 5% declined, 90% stable and 5% improved.

Supplementary Table 1. RCI cutoffs calculated with a 90% confidence interval.

<b>Test outcomes</b>	<b>RCI cutoffs</b>
<b>WPPSI-IV</b>	
VCI	± 10,0
VSI	± 11,8
FRI	± 10,4
WMI	± 11,2
PSI	± 12,7
FSIQ	± 7,2
<b>WISC-V</b>	
VCI	± 7,3
VSI	± 13,8
FRI	± 15,4
WMI	± 13,6
PSI	± 14,5
FSIQ	± 9,0
<b>WAIS-IV</b>	
VCI	± 8,0
PRI	± 9,0
WMI	± 9,8
PSI	± 11,3
FSIQ	± 5,9
<b>Trail Making Test</b>	
Visual scanning	± 3,8
Number sequencing	± 2,7
Letter sequencing	± 4,5
Number-letter switching	± 6,2
Motor speed	± 2,6

## Psychostimulant medication and response to treatment

Supplementary Table 2. Pre-treatment score and score difference between assessments in patients with and without psychostimulant medication

Test outcomes	Pre-treatment score <i>Mean (SD)</i>		Score difference between assessments <i>Mean (SD)</i>	
	Patients with psychostimulants (n = 9)	Patients without psychostimulants (n = 27)	Patients with psychostimulants (n = 9)	Patients without psychostimulants (n = 27)
VCI	91,89 (15,23)	87,11 (15,89)	3,00 (8,05)	-1,50 (8,38)
VSI	86,56 (3,91)	85,56 (16,52)	4,56 (5,03)	-0,24 (10,19)
FRI	89,89 (15,54)	89,36 (12,64)	2,67 (10,76)	-0,91 (9,06)
WMI	91,44 (16,44)	84,57 (15,65)	-2,75 (7,40)	0,33 (12,78)
PSI	93,50 (27,23)	85,59 (15,77)	-0,37 (18,07)	3,48 (15,09)
FSIQ	89,12 (15,98)	83,13 (13,81)	2,25 (7,81)	0,13 (5,55))
Visual scanning	8,43 (2,88)	8,19 (3,60)	-0,14 (1,57)	0,73 (2,96)
Number sequencing	9,43 (4,39)	7,31 (3,53)	-2,00 (3,46)	1,47 (3,48)
Letter sequencing	6,57 (4,43)	5,44 (4,37)	0,57 (1,99)	2,53 (4,17)
Switching	7,29 (4,72)	6,80 (3,28)	1,43 (3,50)	0,21 (1,76)
Motor speed	9,71 (3,73)	8,00 (4,31)	0,86 (3,24)	1,92 (3,33)