

# **Título: Rol del lóbulo temporal izquierdo en la adquisición y procesamiento de categorías: análisis mediante estimulación transcraneana por corriente directa en sujetos normales y autistas.**

**Objetivo General:** estudiar el rol del lóbulo temporal anterior izquierdo (LTAI) en la adquisición y procesamiento de categorías en sujetos neurotípicos y autistas. **Objetivos específicos:** i) estudiar en sujetos neurotípicos (NT) y autistas (AU) el involucramiento del LTAI en la adquisición de categorías basadas en reglas; ii) estudiar en sujetos NT y AU el involucramiento del LTAI en la adquisición de categorías basadas en integración de la información; iii) estudiar en sujetos NT y AU el involucramiento del LTAI en la adquisición de categorías basadas en prototipos; iv) estudiar en sujetos NT y AU el involucramiento del LTAI en la adquisición de categorías funcionales por relaciones de equivalencia; vi) estudiar en sujetos NT y AU el involucramiento del LTAI en la adquisición de categorías funcionales por aprendizaje implícito en gramáticas artificiales; vii) analizar el posible uso de la estimulación transcraneana por corriente directa como opción terapéutica en la mejora de la sintomatología en pacientes autistas.

## **Antecedentes**

El autismo o Síndrome del Trastorno Autista (ASD por sus siglas inglesas), es un trastorno del neurodesarrollo caracterizado por una diversidad de síntomas tales como dificultad para interactuar socialmente, déficits en el uso del lenguaje y comportamientos restringidos y repetitivos de tipo estereotipado (APA 2000). La incidencia de este trastorno ha ido en aumento en las últimas décadas, siendo en la actualidad uno de los trastornos del neurodesarrollo con mayor prevalencia a nivel mundial, estimándose que afecta a alrededor de 1 de cada 68 niños recién nacidos (Center for Disease Control, 2014). Los tratamientos existentes actualmente son principalmente de tipo cognitivo-conductual, llegando a mejorar en algunos casos ciertos comportamientos asociados con el trastorno, tales como la estereotipia, las fobias y la ansiedad (1)). Sin embargo, no existen hasta el momento herramientas terapéuticas eficaces que puedan revertir de manera significativa el patrón de comportamientos anómalos típicos del síndrome. Una de las causas principales estriba en el desconocimiento de la neurobiología que subyace a este trastorno. Si bien el síndrome posee un rango muy amplio en la severidad de sus síntomas, prácticamente la totalidad de los individuos afectados se caracterizan por un patrón común de falta de empatía, dificultad para establecer relaciones sociales, lenguaje anómalo y comportamientos estereotipados. Diversas hipótesis han tratado de dar cuenta de las causas neuropsicológicas de esta sintomatología (2). Estudios de neuroimágenes llevados a cabo en los últimos quince años han mostrado la existencia de alteraciones en el funcionamiento de regiones frontales y temporo-parietales. Experimentos llevados a cabo con autistas con diferentes grados de desarrollo del lenguaje han hallado activaciones anómalas de la corteza prefrontal dorsolateral (3), y se han hallado también déficits en el funcionamiento del lóbulo temporal izquierdo en diversas tareas (4, 5). Por otra parte, en sujetos normales se ha visto que la inhibición en el funcionamiento del lóbulo temporal anterior izquierdo (LTAI) mediante estimulación magnética transcraneana (TMS por sus siglas en inglés), puede inducir de manera temporaria habilidades asociadas con ciertos tipos de autismo, tales como un incremento en la memoria visual, y en el acceso detallado a la información sensorial de entrada (6, 7). De manera similar, la inhibición de la LTAI por medio de estimulación transcraneana por corriente directa (tDCS) en adultos sanos, también induce un aumento significativo de la memoria visual, obteniéndose un nivel de desempeño equivalente al de ciertos tipos de autismo de alto desempeño (8). Hallazgos en sujetos normales (neurotípicos) han mostrado la importancia del lóbulo temporal izquierdo como región clave para categorizar y conceptualizar adecuadamente, a partir del input sensorial proveniente del ambiente (9; 10, 11). Los resultados descriptos previamente plantean la posibilidad de que el lóbulo temporal izquierdo juegue un rol fundamental en la etiología de este síndrome, y por tanto abren la posibilidad para el desarrollo de nuevas terapias que induzcan cambios en el funcionamiento de esta región mediante métodos no invasivos, buscando revertir o mejorar de esta manera la sintomatología típica del autismo (12). En el presente trabajo nos planteamos inducir mediante el uso de tDCS, cambios transitorios en el funcionamiento del lóbulo temporal izquierdo tanto en sujetos normales como autistas con el objetivo de analizar la contribución de esta región cerebral en procesos de adquisición de categorías formales y funcionales, y estudiar la posibilidad de utilizar la tDCS como terapia en la mejoría de al menos parte de la sintomatología de este síndrome.

## **Actividades y metodología Primer Año**

### Experimento 1) Análisis de la adquisición de categorías por aprendizaje mediante uso de reglas en sujetos normales.

Con el objetivo de estudiar el posible rol de la LTAI en la adquisición de categorías mediante el uso de reglas, se llevará a cabo un protocolo de categorización mediante la presentación de parches de Gabor, imágenes con un patrón de rayas negras y blancas intercaladas, que varían tanto en frecuencia espacial (ancho de las líneas) como en orientación (12). Sólo una de las dimensiones será relevante para categorizar las imágenes. Estudios previos llevados a cabo mediante este tipo de protocolo, han mostrado activación de la región temporal medial y anterior durante el proceso de categorización (12). En una primera etapa se le presentará a cada sujeto un total de 120 ensayos con imágenes distintas. En cada ensayo se presentará la imagen durante 750 ms. Al desaparecer la imagen el sujeto tendrá 2 s para responder si pertenece a la categoría "A" o "B" presionando dos teclas distintas de la computadora. La ubicación de las teclas se contrabalanceará entre sujetos. Luego de cada respuesta aparecerá en el monitor "Correcto" o "Error" (750 ms) con el objetivo de proveer el feedback necesario para poder aprender la categoría. Se contabilizará el número de aciertos cada 30 ensayos a lo largo del experimento, con el objetivo de obtener la curva de aprendizaje en condiciones basales. Previo al experimento, se aplicará una condición de estimulación tDCS de tipo "sham", es decir simulando la aplicación de estimulación, pero sin efectuarla de manera real. Esto permitirá obtener una condición que sirva de control a los posibles efectos de tipo placebo que puedan darse en la segunda sesión, donde se aplicará tDCS de manera efectiva. En la segunda sesión, se le presentarán a cada sujeto 120 ensayos con imágenes nuevas en donde la dimensión relevante para categorizar será la que era irrelevante en la etapa anterior. En este caso, se aplicará en forma previa, tDCS inhibitorio a 1 mV durante 10 minutos (8) sobre el área del cráneo correspondiente a la corteza temporal anterior izquierda (i.e. entre la ubicación de FT7 y T7 en el sistema 10/20 extendido). En esta región se aplicará estimulación catódica, mientras que en la región homóloga derecha se aplicará estimulación anódica (8). El resto del protocolo será idéntico al de la primera sesión. Se espera que la inhibición del lóbulo temporal anterior izquierdo disminuya la capacidad de aprendizaje categorial en este caso, dados los antecedentes descriptos previamente (13).

### Experimento 2) Análisis de la adquisición de categorías por aprendizaje mediante uso de reglas en sujetos autistas.

Con el objetivo de analizar la capacidad de categorizar por reglas en sujetos autistas, se repetirá el protocolo del experimento 1, pero en autistas de alto rendimiento. Estudios previos han mostrado que este tipo de sujetos pueden categorizar de manera normal cuando las reglas son fácilmente explicitables y verbalizables (14). Se espera por tanto un rendimiento equiparable al del grupo control (sujetos neurotípicos) en condiciones sham. En la segunda etapa, se repetirá el protocolo experimental del grupo control, y se aplicará tDCS excitatorio (1 mV) sobre el LTAI, mediante aplicación anódica izquierda y catódica derecha. Dados los resultados obtenidos por Nomura et al. (2007), se espera un incremento en la curva de aprendizaje ante la estimulación de la LTAI.

### Experimento 3) Análisis de la adquisición de categorías por integración de la información en sujetos normales.

Con el objetivo de analizar el posible rol LTAI en la categorización por integración de información en sujetos normales, se plantea utilizar los mismos estímulos y protocolo de presentación de los experimentos 1 y 2, pero en este caso, la división entre categorías (fijadas a priori), será una función integradora de ambas dimensiones (frecuencia espacial y orientación de las líneas). En este tipo de tarea, el criterio de decisión no puede ser explicitado por el sujeto, ya que involucra la integración de dimensiones perceptuales en un patrón complejo. Este tipo de categorización puede ser aprendida en sujetos normales (15), viéndose que involucra una activación diferencial del núcleo caudado (13). Al igual que anteriormente, se realizarán dos sesiones, la primera bajo condiciones de tDCS de tipo sham, y la segunda aplicando efectivamente tDCS inhibitorio sobre el LTAI. Si bien los estudios de neuroimágenes realizados hasta el momento no han mostrado una activación diferencial de esta región cortical, no puede descartarse un efecto de la aplicación de tDCS, como efecto de alterar un área cortical dentro de un patrón de nodos conectados que puedan ser requeridos para resolver la tarea involucrada.

## **Segundo año**

### Experimento 4) Análisis de la adquisición de categorías por integración de la información en sujetos autistas.

Con el objetivo de analizar el posible rol LTAI en la categorización por integración de información en sujetos autistas de alto rendimiento, se plantea utilizar los mismos estímulos y protocolo de presentación del experimento 3. Hasta el momento, no se han llevado a cabo estudios de este tipo de categorización en autistas. Sin embargo, dada la propuesta de que la base de la sintomatología en este síndrome es una dificultad en

integrar información compleja en patrones generales (16), esperamos un desempeño inferior al obtenido en el grupo control neurotípico en la condición sham. Es posible que la estimulación excitatoria (ver Exp. 2) con tDCS aplicada en la segunda sesión mejore los resultados de la sesión bajo condiciones de no estimulación (sham), si bien no existen hasta el momento estudios de imágenes funcionales con este tipo de protocolo de categorización que permitan precisarlo.

#### Experimento 5) Análisis de la adquisición de categorías por aprendizaje de prototipos en sujetos normales.

Con el objetivo de estudiar el rol del LTAI en la capacidad de aprender categorías por extracción de prototipos, se llevará a cabo un protocolo clásico de distorsión por prototipos (17). Para ello se crearán dos figuras formadas por 9 puntos en una configuración espacial considerada prototípica para la categoría A y B. A su vez, se crearán 59 figuras adicionales para cada categoría, modificando azarosamente la ubicación de cada uno de los 9 puntos. De esta manera se dispondrá de 60 ejemplares para cada una de las categorías creadas. En cada ensayo se presentará una de las 120 figuras (750 ms), luego de lo cual el sujeto dispondrá de 2 s para responder mediante dos teclas de la computadora si la figura pertenece a la categoría A o B. La ubicación de las teclas se contrabalanceará entre sujetos. Luego de cada respuesta aparecerá en el monitor “Correcto” o “Error” (750 ms) con el objetivo de proveer el feedback necesario para poder aprender la categoría. Se contabilizará el número de aciertos cada 30 ensayos a lo largo del experimento, con el objetivo de obtener la curva de aprendizaje en condiciones basales (condición sham). En una segunda etapa, se le presentarán a cada sujeto 120 ensayos con imágenes nuevas en donde el prototipo de las categorías A y B será distinto a los de la etapa previa. En este caso, se aplicará tDCS inhibitorio a 1 mV durante 10 minutos, previo al comienzo del primer ensayo sobre el área del cráneo correspondiente a la LTAI. El resto del protocolo será idéntico al de la primera sesión. Estudios previos han hallado un desempeño menor en este tipo de tareas en sujetos con lesiones del lóbulo temporal medial y anterior izquierdo (18), por lo tanto se espera que la inhibición del lóbulo temporal anterior izquierdo disminuya la capacidad de aprendizaje categorial en este protocolo.

#### Experimento 6) Análisis de la adquisición de categorías por aprendizaje de prototipos en sujetos autistas.

Con el objetivo de estudiar el rol del lóbulo temporal izquierdo en la capacidad de aprender categorías por extracción de prototipos en autistas, se repetirá el protocolo descrito en el Experimento 5, en sujetos autistas de alto rendimiento. Estudios previos han mostrado dificultades en autistas para categorizar adecuadamente tareas de distorsión de prototipos (19), se espera por tanto un desempeño menor en condiciones sham en este grupo respecto del equivalente en neurotípicos. Siendo que el lóbulo temporal izquierdo, en especial en su región anterior es considerado fundamental para el proceso de conceptualizar, extrayendo la información sensorial relevante de los estímulos y armando una representación coherente (9; 10, 11), se espera que en la segunda sesión, bajo condiciones efectivas de estimulación de esta región, los sujetos autistas mejoren el desempeño en esta tarea.

### **Tercer año**

#### *Experimento 7) Análisis de la adquisición de categorías funcionales por aprendizaje de relaciones de equivalencia en sujetos normales.*

Con el objetivo de estudiar el rol del lóbulo temporal izquierdo en la capacidad de aprender categorías por de equivalencia, se llevará a cabo un protocolo clásico de aprendizaje relaciones de equivalencia (20). Las clases de equivalencias son conjuntos de estímulos en las cuales, a partir del aprendizaje de una serie de asociaciones entre ellos, se verifican relaciones nuevas, sin entrenamiento adicional. Estas asociaciones son análogas a las propiedades de equivalencia tal como se definen en matemática y lógica: reflexividad (asociación de cada estímulo consigo mismo), simetría (bidireccionalidad de las relaciones directamente entrenadas) y transitividad (asociación entre dos estímulos relacionados con un estímulo común). Dado el carácter arbitrario de la relación entre los estímulos miembros de las clases de equivalencia y las clases funcionales (es decir, su independencia de propiedades perceptuales comunes), se ha propuesto que la capacidad de formar estas clases de estímulos constituirían requisitos para el desarrollo del comportamiento simbólico y el lenguaje, en el cual las relaciones entre signos y referentes no están basadas en ninguna similitud física (21). Lugo de la aplicación sham de tDCS, se presentará un protocolo de emparejamiento con la muestra (“matching to sample”) presentando en formato visual estímulos de tres tipos diferentes: A, B y C. En tres bloques de entrenamiento (32 ensayos cada uno), se presentará a los sujetos estímulos de tipo A como muestra y estímulos B como comparación, y estímulos B como muestra y C como comparación (20). Los estímulos serán pseudopalabras presentadas en forma escrita (estímulos A1 y A2: “pemo”, “laco”; B1 y B2: “bune”, “kime”; C1 y C2: “nufa”, “rona”). Cada estímulo tendrá una duración de 250 ms, con un intervalo entre estímulos de 100 ms. Los sujetos deberán elegir los estímulos de

comparación que se correspondan con el estímulo de muestra de acuerdo a las relaciones establecidas arbitrariamente por el experimentador, indicándole luego de cada elección si fue correcta o no. Durante esta fase se presentarán un total de 96 ensayos. Una vez establecidas las relaciones A-B y B-C, se pasará a una fase de prueba en la que los sujetos deberán seleccionar los estímulos A correspondientes a los estímulos C de muestra (relación de simetría y transitividad combinadas). Se presentarán en total 160 pares de estímulos, 80 relacionados por equivalencia (40 por simetría: B1-A1, B2-A2, C1-A1, C2-A2 y 40 por simetría y transitividad combinadas: B1-C1, B2-C2, C1-B1, C2-B2) y 80 pares no relacionados. Si los sujetos resuelven la relación derivada C-A sin entrenamiento adicional, se infiere que han adquirido una clase de equivalencia (A-B-C) en donde todos elementos de la clase son funcionalmente equivalentes. Mediante este protocolo se obtendrá el porcentaje de aciertos a lo largo de cada bloque de entrenamiento, y cada 40 ensayos en el bloque de testeo, en condiciones basales (sham). Posteriormente, en una segunda sesión, se repetirá el protocolo descrito pero con nuevos estímulos A, B y C, y nuevas reglas de emparejamiento y se aplicará tDCS inhibitorio (1 mV), durante 10 min previo a los tres bloques de entrenamiento. Resultados previos han mostrado la activación incrementada de regiones temporales anteriores izquierdas durante el testeo de equivalencia (22). Por tanto se espera que la inhibición mediante tDCS disminuya el desempeño en la tarea de aprendizaje.

#### Experimento 8) Análisis de la adquisición de categorías funcionales por aprendizaje de relaciones de equivalencia en sujetos autistas

Con el objetivo de estudiar el rol del lóbulo temporal izquierdo en la capacidad de aprender categorías por equivalencia, se repetirá el protocolo de aprendizaje descrito en el exp. 7, en sujetos autistas de alto rendimiento. Al igual que en el experimento 7, cada sujeto tendrá una primera sesión para establecer la curva de aprendizaje en condiciones normales, y una segunda sesión durante la cual se aplicará tDCS previo al inicio del entrenamiento. Sin embargo en este caso, se aplicará tDCS excitatorio (1 mV, 10 min), sobre la región temporal anterior izquierda. Estudios previos han hallado un desempeño disminuido en tareas de aprendizaje por equivalencia en sujetos autistas respecto de controles normales (23). Se espera por tanto un incremento en los valores de la curva de aprendizaje en condiciones de estimulación mediante tDCS respecto del sham.

#### **Cuarto año**

#### Experimento 9) Análisis de la adquisición de categorías funcionales por aprendizaje de gramática artificial en sujetos normales

Con el objetivo de analizar el posible rol del lóbulo temporal en la adquisición de categorías funcionales de tipo "sintácticas", se realizará un protocolo de gramática artificial (24). Previamente se realizará la aplicación sham de tDCS. Luego se entrenarán a los sujetos a las reglas combinatorias de una gramática artificial, presentando en formato audiovisual oraciones compuestas por 5 o 6 no-palabras. Se empleará una gramática artificial con un léxico de 16 palabras artificiales, fonotácticamente correctas. Las secuencias de la gramática se construirán a partir de dos estructuras posibles (25). Durante el entrenamiento se presentarán dos bloques sucesivos de entrenamiento por exposición pasiva, intercalados con dos bloques de entrenamiento con feedback correctivo. En cada uno de estos bloques se presentaron 40 secuencias construidas de acuerdo a las reglas de la gramática (20 por cada tipo de estructura), de izquierda a derecha en la pantalla de la computadora y de a una palabra por vez, con un intervalo de 200 ms entre la aparición de cada palabra. Una vez presentada la secuencia, permanecerá en la pantalla durante dos segundos antes de pasar a la siguiente. En los bloques de entrenamiento por feedback los sujetos deberán decidir si las secuencias presentadas obedecen a las reglas del lenguaje inventado o no, y recibirán feedback en cada ensayo de acuerdo a su respuesta. Las violaciones consistirán en todos los casos en presentar palabras en posiciones incorrectas. En cada bloque se presentarán 30 secuencias, 15 gramaticalmente correctas y 15 con violaciones. Durante la fase de testeo posterior, se presentarán nuevas secuencias, 50 % de ellas construidas de acuerdo a las reglas de la gramática y 50% no. Los sujetos deberán decidir si cada secuencia presentada es gramatical, presionando un botón al final de la secuencia. En esta etapa se presentarán 160 secuencias, 80 gramaticales y 80 violaciones sintácticas (errores combinatorios). Mediante este protocolo se obtendrá la curva de aprendizaje en condiciones basales al medir el porcentaje de respuestas correctas en las fases de feedback y en la fase de testeo. En una segunda sesión, se entrenará a los sujetos en un protocolo similar al de la primera sesión, pero con una nueva gramática que poseerá 12 no palabras nuevas, y nuevas reglas combinatorias. Se aplicará tDCS inhibitorio (1 mV, 10 min) previo al inicio del primer ensayo sobre el lóbulo temporal anterior izquierdo. Se espera que la inhibición de esta región no afecte el nivel de aprendizaje logrado en condiciones basales, ya que diversos estudios han mostrado que este tipo de tareas involucran una activación diferencial predominantemente de regiones frontales izquierdas (26).

### Experimento 10) Análisis de la adquisición de categorías funcionales por aprendizaje de gramática artificial en sujetos autistas

Con el objetivo de analizar el posible rol del lóbulo temporal en la adquisición de categorías funcionales de tipo “sintácticas”, se repetirá el protocolo del experimento 9 en autistas de alto rendimiento. En este caso, en la segunda sesión, se aplicará tDCS excitatorio (1mV, 10 min) sobre el lóbulo temporal anterior izquierdo. Resultados previos han mostrado un desempeño normal en tareas de aprendizaje de gramáticas artificiales en sujetos autistas (27). Por lo tanto no se espera una mejoría en la curva de aprendizaje en este caso.

### **Quinto año**

A lo largo de este año, se procederá a la integración de los resultados obtenidos en los experimentos llevados a cabo durante la tesis, llevándose a cabo la escritura de la tesis para su presentación final. Para el análisis de los datos obtenidos se llevará a cabo en cada experimento una estadística de Anova de medidas repetidas, con factor intrasujeto Condición (sham vs. Estimulación/inhibición).

### **Factibilidad**

El presente plan de trabajo se realizará bajo la dirección del Dr. Alejandro Wainselboim, cuya experticia en el área del aprendizaje de categorías formales y funcionales, especialmente gramáticas artificiales y relaciones de equivalencia, asegura el desarrollo de los protocolos experimentales adecuados para el desenvolvimiento del plan de trabajo propuesto. Por otra parte, se realizará en colaboración con el LPEN (INCYT, INECO), y la co-dirección del Dr. Agustín Ibáñez, cuyo trabajo en el área de la cognición social es de amplio reconocimiento. De esta manera se asegura poder acceder a la población de pacientes autistas requerida para encarar el presente plan de tesis. Por otra parte, INECO cuenta actualmente con el equipo de tDCS necesario para llevar a cabo el plan de trabajo propuesto. Tanto el grupo de lingüística (INCIHUSA) como INECO poseen el equipamiento (software y computadoras) necesario para presentar estímulos visuales en los protocolos descriptos, y procesar los datos obtenidos.

### **Referencias bibliográficas**

- 1) J Child Psychol Psychiatry. (2009) 50(3): 224–234
- 2) Developmental Review (2007) 27: 224–260
- 3) Neuropsychologia (2008) 46: 49–62
- 4) Brain (2012);135:949–60.
- 5) Neurosci Biobehav Rev (2008);32:123–42.
- 6) Journal of Integrative Neuroscience (2003), 2 (2): 149-158
- 7) Perception (2006) 35: 837-845
- 8) Brain Research (2010) 1353: 168-175
- 9) Cereb Cortex (2014) 25(9), 2584-2593
- 10) Neuroimage (2011) 55(4):1847-52
- 11) PNAS (2010)107: 2717–22
- 12) Medical Hypotheses (2014) 83: 164-168
- 13) Cereb Cortex. (2007) 17(1): 37–43.
- 14) Neuropsychology (2002) 16:327–224.
- 15) Annu. Rev. Psychol. (2005) 56:149–78
- 16) Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev., 4: 129–136
- 17) Journal of Experimental Psychology. (1968) 77:353–36
- 18) Journal of the International Neuropsychological Society (2003), 9: 394-406.
- 19) Psychon Bull Rev. (2010); 17(6): 862–868
- 20) Journal of the Experimental Analysis of Behavior (1984), 37: 5–22.
- 21) Behavior and Philosophy. (2001); 29: 221–244.
- 22) Behav Brain Funct. 2008 Feb 1;4:6
- 23) Research in Autism Spectrum Disorders (2013) 7: 418–431
- 24) Journal of Verbal Learning and Behavior (1968) 6: 855-863.
- 25) Brain Research (2011) 1373: 131-143.
- 26) Brain and Language (2012), 120: 83-95
- 27) The Quarterly Journal of Experimental Psychology, (2010) 63: 1789–1812.