



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

Eficiencia en la memoria de trabajo asociada al rs2180619 del gen CNRI

TESIS

Que para obtener el título de:

Licenciada en Psicología

Presenta:

Talía Vianney Román López

Directora de Tesis:

Dra. Alejandra Evelyn Ruiz Contreras

Revisora de Tesis:

Lic. Olga Araceli Rojas Ramos

Sinodales:

Dr. Óscar Zamora Arévalo

Dr. Octavio César García González

Dr. Rodrigo Pedroza Llinás

Ciudad Universitaria, Abril 2014



Facultad
de Psicología



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis se desarrolló en el Laboratorio de Neurogenómica Cognitiva, a cargo de la Dra. Alejandra E. Ruiz Contreras, en la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Autónoma de México con apoyo económico de CONACyT, Proyecto 176196.

Agradezco a CONACyT (Proyecto 176196) por la beca recibida.

Agradecimientos

A la Dra. Alejandra Ruiz, quien me ha acompañado y guiado en mi crecimiento profesional. Siempre comprometida, dispuesta a orientarme, a compartirme sus conocimientos y a incitarme siempre a ir más allá, gracias por el infinito apoyo.

A la Lic. Olga Rojas a quien desde que conozco me ha brindado apoyo académico con mucha calidez, siempre comprometida e interesada, gracias por los comentarios y sugerencias a este trabajo, por guiarme, por buscar salidas y soluciones en todo este proceso que, a veces, ha resultado tortuoso. Es un placer haber podido ser su estudiante. Mil gracias.

A los doctores Óscar Zamora, Octavio García y Rodrigo Pedroza, que con sus atinados comentarios me ayudaron a mirar mi trabajo desde diferentes perspectivas, a defenderlo, a criticarlo y finalmente, hacerlo crecer. Gracias nuevamente.

A mis papás, por apoyarme incondicionalmente en mis aventuras. Por mostrarme queriendo o sin querer, lo hermosa que es la vida y apoyarme, impulsarme a vivirla. Gracias por educarme y guiarme a ser una mujer comprometida y responsable. Por festejar conmigo todos mis logros. Porque aún así “grandota” me sostienen entre sus brazos cuando más los necesito. Los amo. A mis hermanos César y Fer, porque aunque somos extremadamente diferentes siempre estamos ahí, por alegrarse de mis alegrías, por apoyarme en mis tristezas, por llenarme de amor. No tengo palabras que me alcancen para decirles cuanto agradezco su presencia en mi vida.

Many, mil gracias por tu amor, tu paciencia e impaciencia, tu interés por entenderme. Por cuidarme cuando lo necesitaba por estar siempre dispuesta. Por tu sinceridad, y porque no hay mujer que me haya mostrado más de cómo ser fuerte que tú.

A mi abue Luz, gracias por tu cariño. A mis tíos por escucharme siempre atentos. A los López y los Lara, siempre pendientes y apoyándome, por construir bellos momentos juntos.

A mis princesas Cami, Dana y Ale, que así pequeñitas me recuerdan con sus preciosas risas y aventuras que la vida se alegra de pequeñas cosas, porque sin querer, me refrescan la mirada en la vida de los adultos.

A Diego y Óscar, tan en su papel de hermanos/primos grandes guiándome y alegrándose de mi trabajo. A Gaby, por ser mi mejor amiga/prima, te amo (y así se resume toda la fortuna de conocerte).

A ti, porque es innegable tu huella en mi vida. Gracias porque nunca me dejaste darme por vencida aún en mis momentos más fatalistas (y mira que son cada 5 minutos), porque en todos estos años me has llenado de experiencias que me han hecho inmensamente feliz, pero sobre todo me han hecho crecer. Por tu apoyo en absolutamente todos los sentidos. Gracias Manuel por todo lo que hemos construido.

A Edith, por estos increíbles 6 años. Gracias por tu amor, tus risas y tus regaños, por tu paciencia mientras “hacia la tesis”, por enseñarme que las amigas sí existen. A Caro, Anahí y Annel, por ser desde el inicio las acompañantes incondicionales en esta travesía de volvernos psicólogas.

Gracias a la pandilla, a mis amigos los neuropsicólogos, a mis amigos los investigadores por todos los momentos que hemos construido juntos. A TODOS, TODOS mis amigos, quienes han llenado mi vida de alegrías y buenas charlas.

A todos mis compañeros y amigos del Laboratorio de Neurogenómica Cognitiva: Cin, Uli, Lore, Migue, Ivett, Antonio, Ale G., porque además de lo académico, son mis amigos. Con nuestras eternas pláticas y las recurrentes risas (hasta el dolor de estómago) hacen que disfrute mucho mi estancia en el laboratorio y cuando uno tiene un lugar de trabajo que es agradable, en todos los aspectos, los proyectos caminan mejor. Esta tesis es mía pero es, también, construida por ustedes. Gracias.

A Ale infinitamente gracias, porque he crecido académicamente a tu lado. Por tu apoyo incondicional no sólo en lo académico sino también en lo personal. Más de una vez tus palabras han calmado mis angustias y me han llenado de esperanzas. Gracias por compartirme tus alegrías y la confianza que me has otorgado, por permitirme ser parte de momentos importantes de tu vida, gracias por incitarme siempre a ser mejor y ayudarme a serlo.

A todos los que me faltaron aquí (sin que se ofendan) pero que viven en mi corazón, es increíble que no me quepan en una hoja, soy infinitamente afortunada de ser querida y apoyada por tan bellas personas...

A mi segunda casa, la UNAM, que a lo largo de estos últimos 7 años en ella me ha llenado de oportunidades de crecimiento personal y profesional. Porque la UNAM me cambió la vida, porque en ella he conocido a personas muy importantes en mi vida, porque en ella he descubierto mi vocación. Me llena de orgullo poder pertenecer a esta casa de estudios porque una vez que ingresas es imposible quitarte el puma del corazón.

Índice

RESUMEN.....	7
1. ANTECEDENTES.....	8
1.1 MEMORIA DE TRABAJO	9
1.1.1. TAREA <i>n-back</i>	19
1.2 NEUROFISIOLOGÍA DE LA MEMORIA DE TRABAJO	20
1.2.1. REDES NEURONALES INVOLUCRADAS EN LA MEMORIA DE TRABAJO	20
1.2.2 NEUROQUÍMICA DE LA MEMORIA DE TRABAJO	23
1.3 SISTEMA ENDOCANABINOIDE	27
1.3.1 RECEPTORES A ENDOCANNABINOIDES.....	28
1.3.2 ENDOCANNABINOIDES	31
1.3.3 RELACIÓN ENTRE CANNABINOIDES Y MEMORIA DE TRABAJO	37
1.3.4 DIFERENCIAS INDIVIDUALES EN MEMORIA DE TRABAJO ASOCIADAS AL GEN QUE CODIFICA PARA EL RECEPTOR CB1	41
1.3.4.1 GEN CNR1.....	42
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	50
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	50
4. OBJETIVO GENERAL	51
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
5. HIPÓTESIS.....	51
5.1 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	51
6. MÉTODO	53
6.1 PARTICIPANTES	53
6.2 MATERIALES	53
6.2.1 APARATOS.....	54
6.2.2 INSTRUMENTOS	54
6.2.2.1 <i>Carta de consentimiento informado</i>	54
6.2.2.2 <i>Cuestionario de Datos generales y de antecedentes neurológicos y/o psiquiátricos</i>	55
6.2.2.3 <i>Evaluación de consumo de sustancias psicoactivas</i>	55
6.2.2.4 <i>Inventario de Edimburgo</i>	56
6.2.2.5 <i>Inventario de Depresión de Beck</i>	56

6.2.2.6	<i>Inventario de Ansiedad de Beck</i>	57
6.2.2.7	<i>Subescala de vocabulario del WAIS III</i>	57
6.3	TAREA <i>n-back</i>	58
6.4	GENOTIPIFICACIÓN.....	59
6.5	PROCEDIMIENTO.....	61
6.6	ANÁLISIS DE DATOS.....	62
7.	RESULTADOS.....	65
7.1	DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	65
7.2	EJECUCIÓN DE LA TAREA <i>n-back</i>	67
7.2.1	%RC.....	67
7.2.2	<i>d'</i>	68
7.2.3	TR.....	69
7.2.4	ANÁLISIS SUBSECUENTES.....	69
8.	DISCUSIÓN.....	73
9.	LIMITACIONES Y SUGERENCIAS.....	79
10.	CONCLUSIÓN.....	80
11.	REFERENCIAS.....	81
	ANEXO.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA SIGNIFICADO

Δ 9-THC	Δ 9-Tetrahidrocanabinol
%RC	Porcentaje de Respuestas Correctas
2-AG	2-Aquidonilglicerol
5-HTT	Trasportador de serotonina
A	Adenina
ABHD12	Serina hidrolasa α - β dominio 12
ABHD6	Serina hidrolasa α - β dominio 6
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AEA	Anandamida
AMPc	Adeninmonofostato Cíclico; AMP cíclico
ANOVA	Análisis de la varianza
C	Citosina
CB1	Receptor a cannabinoides 1
CB2	Receptor a cannabinoides 2
CFP	Corteza Frontopolar
CI	Coficiente Intelectual
CMS	Corteza Motora Suplementaria
CNR1	Gen que codifica para receptor a cannabinoides 1
CO	Corteza Occipital
CP	Corteza Parietal
CPF	Corteza Prefrontal
CPF _{DL}	Corteza Prefrontal Dorsolateral
CPF _L	Corteza Prefrontal Lateral
CPF _{VL}	Corteza Prefrontal Ventrolateral
<i>d'</i>	<i>d</i> prima
DA	Dopamina
DGL	Diacilglicerol lipasa
DSM IV	Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, cuarta edición.
eCBs	Endocannabinoides
FA	Falsas Alarmas
FAAH	Hidrolasa de ácidos grasos amidados
fMRI	Imagen por Resonancia Magnética Funcional
G	Guanina
GABA	Ácido gamma-amino butírico
HDS	Honestly Significant Difference
IP ₃	Inositoltrifosfato

PHW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
PLA1	Fosfolipasa A1
PLC	Fosfolipasa C
PLD	Fosfolipasa D
L	Alelo Largo: <i>long</i>
LP	Largo Plazo
MAGL	Monoacilglicerol lipasa
MANOVA	Análisis Multivariado de la Varianza
Met	Metionina
MT	Memoria de Trabajo
PAM	Peptidil-amida- α -monooxigenasa
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
NMDA	Receptor a glutamato N-metil de Aspartato
NT	Sistemas de Neurotransmisión, Neurotransmisores
S	Alelo Corto: <i>short</i>
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Single Nucleotide Polymorfism
SRIP	Stenberg Item Recognition Paradigm
T	Timina
TDA-H	Trastorno por Déficit de Atención con/sin Hiperactividad
TR	Tiempo de Reacción
Val	Valina
Z	Puntaje Z

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	NOMBRE	PÁGINA
Figura 1.	Modelo actual de memoria de trabajo.	13
Figura 2.	Tarea <i>n-back</i> (A 2-back, B 3-back).	20
Figura 3.	Distribución del receptor CB1 en cerebro humano.	24
Figura 4.	Activación del receptor CB1 por endocannabinoides.	32
Figura 5.	Estructura química de la Anandamida.	33
Figura 6.	Degradación de la anandamida por la FAAH a ácido aráquidónico y etanolamina.	33
Figura 7.	Estructura química del 2-AG.	34
Figura 8.	Hidrolización del 2-AG resultando ácido araquidónico y glicerol.	35
Figura 9.	Estructura química de la oleamida.	36
Figura 10.	Cambio en la actividad de la red de memoria de trabajo asociada a la administración de Δ^9 -THC.	39
Figura 11.	Conformación del gen CNR1.	42
Figura 12.	Desempeño en la tarea <i>n-back</i> asociado al polimorfismo AATn del gen CNR1.	43
Figura 13.	Muestra de diferentes SNPs del gen CNR1.	45
Figura 14.	Diferencias en la precisión de las respuestas en una tarea de mantenimiento de información en la memoria de trabajo entre sujetos con genotipo AA y GG del rs2180619.	46
Figura 15.	Precisión en la respuesta, por condición experimental, en la tarea de mantenimiento de información asociada al genotipo del rs2180619.	47
Figura 16.	Tiempos de reacción en función de la condición experimental y el genotipo del rs2180619.	48
Figura 17.	Porcentaje (%) de participantes de la muestra para cada genotipo del rs2180619.	65
Figura 18.	Porcentaje de respuestas correctas (%RC), a los estímulos <i>target</i> y <i>non-target</i> , en función del Genotipo (AA, AG, GG) y la Complejidad de la tarea (2-back, 3-back).	67
Figura 19.	Índice de discriminación (d' ; Media \pm EEM) a los estímulos <i>target</i> y <i>non-target</i> en función del genotipo (AA, AG, GG) y la complejidad de la tarea (2-back, 3 back).	68
Figura 20.	Ejemplo de gráfico obtenido en la discriminación alélica para el rs2180619.	92

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	NOMBRE	PÁGINA
Tabla 1.	Características sociodemográficas de la muestra	66
Tabla 2.	Frecuencias de mujeres por fase hormonal en función del genotipo del rs2180619.	71

RESUMEN

La memoria de trabajo (MT) depende de sistemas de neurotransmisión y neuromodulación, uno de ellos es el sistema endocannabinoide. El receptor a cannabinoides 1 (CB1) está ampliamente distribuido en el Sistema Nervioso Central (SNC) humano incluida la red involucrada en MT. La activación del CB1 disminuye la eficiencia en la MT. Este receptor es codificado por el gen CNR1; el genotipo GG del polimorfismo rs2180619 de este gen se ha asociado con mayores niveles de ansiedad, abuso de sustancias y menor eficiencia en el mantenimiento de información en MT. El objetivo de esta tesis fue demostrar si el genotipo GG estaba también asociado con menor eficiencia (comparado con el genotipo AA) en la actualización y manipulación de información en MT, para lo que fue utilizada una tarea *n-back* con dos niveles de complejidad (2 y 3-*back*) en una muestra (n=131) de jóvenes mexicanos sanos. Observamos interacciones significativas entre la complejidad de la tarea y el genotipo para *d* prima (*d'*) y el porcentaje de respuestas correctas (%RC). Para el %RC los análisis revelaron que no hay diferencias significativas de los participantes con genotipo AA en función de la complejidad de la tarea (2 y 3-*back*), pero sí para los participantes con los genotipos AG y GG. Nuestros resultados muestran que la eficiencia en las capacidades de actualización y manipulación de información en la memoria de trabajo difieren en función de los alelos del rs2180619 del gen CNR1. Los homocigotos AA tienen la misma eficiencia conductual aún cuando la dificultad de la tarea incrementa, mientras que los sujetos con al menos un alelo G muestran menor eficiencia con el aumento en la complejidad de la tarea.

1. ANTECEDENTES

Las actividades que realizamos en la vida cotidiana requieren, en parte, del adecuado funcionamiento de la memoria que nos permite mantener información y acceder a otra almacenada.

La memoria de trabajo es un tipo de memoria que está dirigida a una meta y que involucra el mantenimiento, la actualización y la manipulación constante de información (Baddeley, 2001). Por ejemplo, usamos memoria de trabajo al hacer una llamada telefónica, ya que mantenemos en nuestra memoria la secuencia de números y después la tecleamos. Esto requiere que mantengamos la información, actualicemos qué números ya marcamos y cuáles siguen, con el objetivo de comunicarnos con alguien.

La función cerebral subyace a la memoria de trabajo, diversas regiones cerebrales intervienen en esta función, reguladas por diversos sistemas de neurotransmisión y de neuromodulación. Uno de los sistemas de neuromodulación que participa en la memoria de trabajo es el sistema endocannabinoide (Ruiz-Contreras et al., 2014), del cual se han descrito dos receptores: el receptor a cannabinoides 1 (CB1) y el receptor a cannabinoides 2 (CB2). El CB1, en contraste con el CB2, está ampliamente distribuido en el Sistema Nervioso Central (SNC), en áreas como el hipocampo, el estriado, el cerebelo y la corteza cerebral; su función principalmente es modular la transmisión sináptica. El gen CNR1 codifica para el receptor CB1.

Actualmente, sabemos que las variaciones genéticas pueden provocar no sólo cambios fenotípicos estructurales, sino también funcionales. Se ha descrito que existen variaciones genéticas (por ejemplo, el polimorfismo de un solo

nucleótido, SNP, por sus siglas en inglés) que predisponen a sujetos a enfermedades. Particularmente, para el CNR1 está el rs2180619 que se ha asociado con patologías como ansiedad y adicción, y recientemente hemos demostrado también, con diferencias en el mantenimiento de información en una tarea de memoria de trabajo (Ruiz-Contreras et al., 2014).

En esta tesis se estudió la participación del sistema endocannabinoide en la memoria de trabajo a partir de la asociación de la eficiencia conductual en función de los genotipos para el rs2180619 del gen CNR1. Debido a que todos los humanos presentamos alguna variación en esta región, es de interés conocer si el polimorfismo de riesgo para ansiedad, adicción y menor eficiencia de mantenimiento de información en la memoria, también está asociado a un deterioro en la eficiencia de otros sistemas de la memoria de trabajo como la manipulación y la actualización de información, en sujetos psiquiátrica y neurológicamente sanos pero que presentan el alelo de riesgo. Esta información permitirá esclarecer y aumentar el conocimiento sobre el sistema endocannabinoide en la función de memoria de trabajo en humanos y permitirá explicar diferencias individuales en la eficiencia cognitiva.

1.1 MEMORIA DE TRABAJO

La memoria de trabajo (MT), de acuerdo al modelo propuesto por Baddeley y Hitch (1974), es un sistema integrador conformado por varios componentes, que permite el almacenamiento, manipulación y actualización de información y está orientado a la realización de una meta, además de que participa en otros procesos cognitivos (Baddeley, 2001).

A diferencia del modelo tradicional de memoria propuesto por Atkinson y Shiffrin (1968), en donde la memoria a corto plazo es un almacén que permite conservar información desde segundos a algunos minutos y que controla el flujo de información hacia el almacén a largo plazo, el modelo de memoria de trabajo de Baddeley y Hitch implica un “espacio de trabajo” que tiene una capacidad limitada pero que, además del almacenamiento breve de información, permite el control de las demandas de procesamiento (Baddeley y Hitch, 1974). Es decir, mientras el modelo tradicional contempla almacenes de información pasivos y seriales, el modelo de memoria de trabajo de Baddeley y Hitch manipula y coordina la integración de información (sensorial o proveniente del almacén a largo plazo, LP) para generar trozos de información (con significado) necesarios para la demanda actual (Sternberg, 2011).

De acuerdo con este modelo, la memoria a largo plazo existe, pero no es un almacén estático sino que provee sólo la parte de información necesaria a la memoria de trabajo “activa” (Sternberg, 2011).

Este modelo de memoria de trabajo fue descrito con tres componentes, el bucle fonológico, la agenda visoespacial y el ejecutivo central; más recientemente fue agregado un cuarto componente: el búfer episódico (Baddeley, 2001; Sternberg, 2011).

El bucle fonológico está compuesto, a su vez, por el sistema de ensayo articulatorio (llamado por algunos sistema de repaso subvocal; Baddeley, 2001; Sternberg, 2011) y un almacén fonológico. De acuerdo a lo descrito por Baddeley (2001), el almacén fonológico es un depósito de información auditiva que la retiene por pocos segundos, mientras que el sistema de ensayo articulatorio funciona

como un sistema de repaso que permite mantener la información acústica e incluso, conservar información visual transformada a un código fonológico, por ejemplo, leer un texto (Baddeley, 2001; Smith y Kosslyn, 2008).

La agenda visoespacial es un subsistema que mantiene temporalmente y manipula la información visual y espacial, ayudando a la resolución de problemas visoespaciales (e.g. Decidir si cabe el automóvil para estacionarse en un espacio determinado) y la orientación en el espacio de objetos o de nosotros mismos (Baddeley, 2001). Aunque regularmente se asume que sólo integra información de tipo visual, la propuesta actual es que este subsistema una información de los estímulos de tipo táctil y cinestésicos (Baddeley et al., 2011).

El Búfer episódico funciona como una interfaz, un almacén temporal multidimensional en el que interactúan los otros subsistemas del modelo (agenda visoespacial y bucle fonológico) y el ejecutivo central. El búfer episódico funciona como un puente en el que se puede integrar información de diferentes modalidades en un "episodio" único que, a su vez, está regulado por el ejecutivo central (Baddeley, 2000; Baddeley et al., 2011). De acuerdo con la propuesta actual del modelo (ver Figura 1), el búfer episódico integra, vía el bucle fonológico, información relacionada con sonidos (e.g. música y sonidos ambientales) y el lenguaje (e.g. lectura, escritura, incluido leer y el lenguaje de signos); a través de la agenda visoespacial se integra información acerca de colores, formas, relaciones espaciales, características táctiles y cinestésicas de los estímulos; además, se sugiere también que el búfer episódico integra la información de olores y sabores. Como subsistema de almacenamiento y manipulación temporal

posee una capacidad limitada para integrar episodios o trozos de información “*chunks*” (Baddeley et al., 2011).

Finalmente, el componente que coordina la interacción de los otros subsistemas es el ejecutivo central. En un inicio, fue descrito como un pequeño homúnculo que controlaba e integraba la información de los otros subsistemas (Baddeley, 2001), sin embargo, dicha explicación es limitada. Posteriormente, con base en trabajos de otros autores sobre atención, se propuso que el ejecutivo central es un sistema de control atencional y conductual, que coordina la información de los diferentes subsistemas: enfocando la atención a situaciones desconocidas, dividiendo la atención o bien priorizando la intervención de algún subsistema sobre los otros de acuerdo a la demanda ambiental (Baddeley, 2000; Baddeley, 2001).

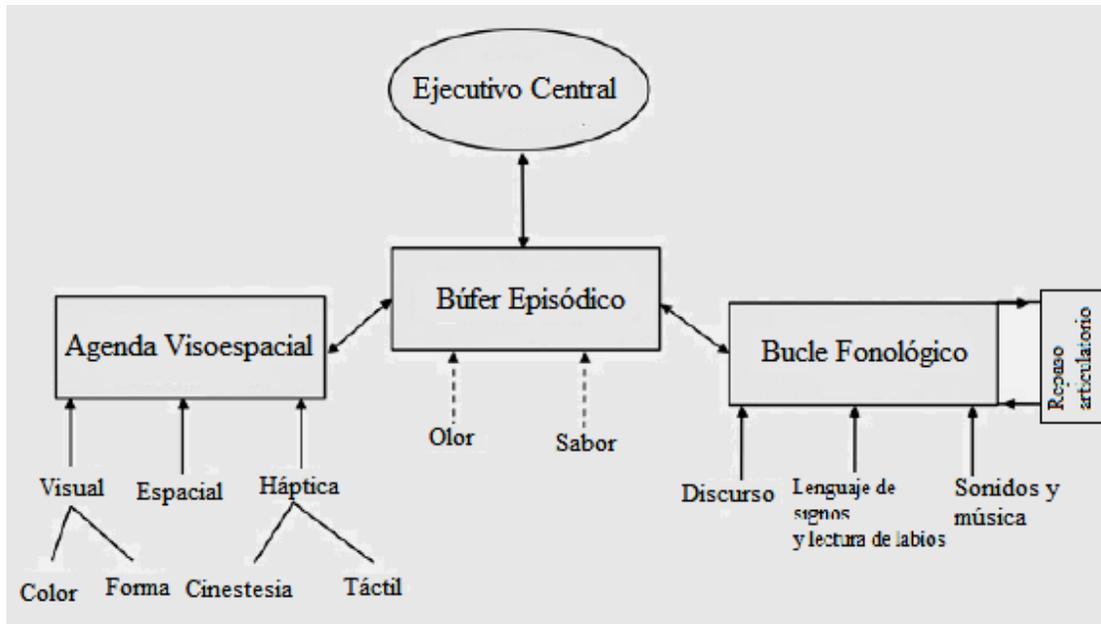


Figura 1. Modelo actual de memoria de trabajo. Los rectángulos grandes representan los subsistemas: Agenda Visoespacial, Bucle Fonológico y Búfer Episódico; mientras que el rectángulo pequeño representa el “repetición articulatoria” parte del Bucle Fonológico. Las flechas señalan los diferentes tipos de información que se está integrando a cada subsistema; se describe de forma más específica a qué tipo de información se refieren los términos “Visual” y “Háptica”. Se observa además, cómo la información de la Agenda Visoespacial y del Bucle Fonológico, tienen una conexión recíproca con el Búfer Episódico que es el encargado de integrar la información en episodios únicos con sentido. Además, se observa que el Ejecutivo Central (en la parte más alta y en un óvalo), conecta directa y recíprocamente con el Búfer Episódico. Se representa, así, un modelo jerárquico: en la parte más baja la entrada de información sensorial, en la parte media la integración de la información sensorial recibida y en la parte más alta la modulación, control de subsistemas (modificado al español de Baddeley et al., 2011).

El modelo de Baddeley y Hitch (1974) es una propuesta que ha resultado ventajosa para el estudio de la memoria de trabajo porque plantea a un modelo dinámico en el que se integran diferentes tipos de información del ambiente inmediato (información entrante por las vías sensoriales) e información recuperada de la memoria a LP. Sin embargo, como cualquier modelo teórico aún tiene algunos problemas y es imposible asegurar que la memoria de trabajo funcione, exclusivamente, como menciona el modelo, por ejemplo, hay mayor evidencia

sobre la participación y posible funcionamiento del búcle fonológico (al que incluso, se ha asociado con regiones cerebrales como el área de Broca y áreas motoras), pero existen problemas para determinar, con evidencia, cómo es que la agenda visoespacial integra estos dos tipos de información (*i.e.* visual y espacial) y se desconoce aún más cómo podría ser la integración de información táctil y cinéstica (recientemente agregadas al modelo). Las más grandes debilidades del modelo, reconocidas por el mismo Baddeley (2001; Baddeley et al., 2011), están en la participación del búfer episódico y el ejecutivo central. Para el primero la investigación es muy reciente sobre los mecanismos de integración de “episodios” y cómo es que el cerebro lo hace. Se ha propuesto que el hipocampo podría estar altamente involucrado en esta “unión” de información (*revisado por* Baddeley et al., 2011), pero aún no hay estudios concluyentes. Para el ejecutivo central, el panorama es aún más desconocido; pasar de la propuesta del pequeño homúnculo que dirigía a los otros subsistemas a un sistema de control, monitoreo y organización ha sido un avance para el modelo, el problema es que la propuesta actual lo plantea como un modelo prioritariamente atencional dejando de lado los sistemas de control y organización sin establecer, además, cómo es que está interactuando con los otros subsistemas. Al mismo tiempo, se ha propuesto que estaría relacionado con la participación de regiones cerebrales frontales (que se han descrito participan como un sistema de control ejecutivo, por ejemplo, planeación, toma de decisiones y atención selectiva; Baars y Gage, 2010) pero ignora por ejemplo, la participación de regiones parietales asociadas altamente con sistemas atencionales (Fan et al., 2005).

Dadas las dificultades antes mencionadas el objetivo de esta tesis fue estudiar a la memoria de trabajo como proceso cognitivo (en el que se incluyen el mantenimiento, la manipulación y la actualización de información dirigida a un objetivo) más que una validación del modelo antes descrito.

Actualmente, existen diferentes tareas cognitivas con las que puede medirse la memoria de trabajo. Entre las más utilizadas (con modificaciones) se encuentran las tareas: de demora o mantenimiento, las tareas de ordenamiento y las tareas de *n-back*.

Tareas de demora o mantenimiento. En cada ensayo se presenta: un estímulo clave, posteriormente un periodo de retraso y finalmente un estímulo prueba. El sujeto debe indicar si el estímulo prueba que se presentó es igual o no al que fue presentado antes del periodo de retraso (Sternberg, 2011).

Una de las tareas más utilizadas es la de Sternberg (*Sternberg Item-Recognition Paradigm, SRIP*), que consiste en la presentación de un estímulo clave, regularmente un conjunto de letras o números (regularmente de 3 a 9; a mayor cantidad de letras o números, mayor complejidad o carga, para la memoria de trabajo; Fletcher y Henson, 2001). Primero, aparece el estímulo clave, luego un periodo de retraso, y luego un estímulo señal (*e.g.* un asterisco que indica que una serie de letras viene enseguida). En esta serie se presentan estímulos prueba (*i.e.* letras si esa es la versión de la tarea) de manera individual entre los que se encuentran algunos que formaban parte del estímulo clave y otros que no. La tarea de los sujetos consiste indicar en cada una de los estímulos prueba si eran el estímulo clave o no (Sternberg, 1966). Se considera una tarea de memoria de

trabajo, principalmente de mantenimiento de información, porque los sujetos deben conservar “en línea” el estímulo clave para emitir su respuesta en los estímulos prueba (Fletcher y Henson, 2001).

Existen también tareas de mantenimiento espacial, por ejemplo, se les presenta a los sujetos una secuencia de estímulos clave (círculos rojos de forma independiente), con dos dificultades (2 o 4 círculos), seguida de un periodo de retraso (e.g. 16 s) y finalmente un estímulo prueba (un aro rojo), los sujetos deben determinar si el estímulo prueba se encontraba o no en alguna de las localizaciones de los estímulos clave presentados (Driesen et al., 2013). En otras, de mayor complejidad, se le presenta a los sujetos primero un estímulo clave con 3 o más figuras de diferentes colores (e.g. tres cuadrados: un rojo, un verde y un amarillo) en tres localizaciones en la pantalla, después hay un periodo de retraso (e.g. 900 ms), finalmente un estímulo prueba donde se presenta sólo una figura de color (un cuadrado morado) en una ubicación de la pantalla, el sujeto debe determinar si la ubicación y el color corresponden a alguna de las presentadas en el estímulo clave o si son distintos (Anderson et al., 2011).

Una variante de estas tarea utilizada en monos es la presentación de una pantalla con un punto de fijación al centro y un estímulo clave (un punto) en una localización específica (tomando como referencia al punto de fijación), un periodo de retraso (e.g. 3.5 s), seguida de la presentación de una pantalla sólo con el punto de fijación. Se evalúa si los monos recuerdan la ubicación del estímulo clave observando en esta última pantalla (punto de fijación solo) sus movimientos sacádicos, se espera que si el sujeto recuerda la ubicación del estímulo clave mire a esa dirección de la pantalla ante la presentación del punto de fijación (Zhou et

al., 2011). Sin embargo, a diferencia a las tareas de mantenimiento en humanos, para aumentar la complejidad de la tarea entre el periodo de retraso y el estímulo prueba pueden presentarse 1 o más pantallas independientes, con un punto en la pantalla y el punto de fijación (similares al estímulo clave), como distractores. Lo que se espera es que los monos en el estímulo prueba miren a la dirección en donde se localizaba el primer estímulo (clave), y no a la localización donde aparecieron los distractores.

De manera general las tareas de mantenimiento, sea en humanos o en monos, se ha observado que a mayor dificultad (*i.e.* a mayor número de elementos en el estímulo clave, mayor carga; en monos mayor cantidad de distractores), la eficiencia disminuye, observándose un menor porcentaje de respuestas correctas y mayor tiempo de reacción (Anderson et al., 2011; Driesen et al., 2013; Zhou et al., 2011).

Como puede observarse, a pesar de que las tareas de mantenimiento son muy utilizadas como medida de memoria de trabajo, una de las desventajas del uso de éstas es que, en las diferentes investigaciones, existe gran variabilidad del intervalo de tiempo de mantenimiento (periodo de retraso) que se establece, lo que dificulta la comparación de los resultados entre estudios.

Tareas de ordenamiento. En éste tipo de tareas se le presenta a los sujetos una pantalla con un estímulo inicial de letras, por ejemplo, “*BHCMD*” seguida de un periodo de retraso o mantenimiento (*e.g.* 8 s) sin presentación de estímulos. Al terminar el periodo de retraso se le presenta un estímulo prueba: un dígito y una letra (*e.g.* “2C”). El sujeto debe indicar si la posición de la letra que se presenta corresponde o no, a la posición en el estímulo inicial indicada por el

dígito. En el caso del ejemplo anterior la prueba es indicar si la letra C en el estímulo inicial fue presentado en la segunda posición, la respuesta que el sujeto debería emitir es “no” porque la letra “C” se encontraba en la tercera posición. Se considera que las tareas de ordenamiento son tareas de memoria de trabajo, porque requieren de mantenimiento de la información en un periodo breve (unos segundos) y manipulación de la misma al tener que hacer la comparación de la posición que el dígito prueba indica y la que se presentó en el estímulo inicial (Fletcher y Henson, 2001). Una de las formas de medir la ejecución de las tareas de ordenamiento es comparándola con la ejecución en una tarea de mantenimiento (conservando el mismo número de letras en el estímulo clave), donde no importa la posición u orden de las letras del estímulo clave, por lo que se asume que es una tarea de menor dificultad. Se observa que en las tareas de ordenamiento el porcentaje de respuestas correctas disminuye y el tiempo de reacción aumenta sugiriendo que el proceso de manipulación resulta de mayor complejidad que sólo el mantenimiento de la información (D’Esposito et al., 1999).

Tareas de n-back. En las tareas *n-back*, los sujetos deben ir comparando una serie de estímulos consecutivos con los estímulos presentados *n* ensayos atrás (Sternberg, 2011). Este tipo de tarea se describe con mayor detalle en el siguiente apartado. Se considera una tarea de memoria de trabajo porque combina el mantenimiento y manipulación constante de información. Además, requiere que el sujeto haga un monitoreo constante los estímulos anteriores en la secuencia. Es decir, que simultáneamente el sujeto actualice, mantenga y manipule información cada vez que se presenta un nuevo estímulo (Fletcher y Henson, 2001). Comparada con las tareas de mantenimiento y ordenamiento, que

solo se enfocan en un aspecto, la tarea *n-back* resulta una ventaja para estudiar memoria de trabajo porque se enfoca en el mantenimiento, la manipulación y la actualización de manera simultánea.

1.1.1. TAREA *n-back*

La tarea *n-back* (en español *n-atrás*), consiste en presentar a los sujetos una serie de estímulos que pueden ser verbales (letras, palabras, números) o no verbales (imágenes, caras, puntos); la tarea del sujeto consiste en responder si el estímulo que está siendo presentado en el momento actual es igual al que se le presentó *n* ensayos atrás (ver Figura 2). Cuando la letra actual es igual a la letra presentada *n-atrás* se denomina estímulo *target*, mientras que, en los ensayos en el que la letra es diferente, es *non-target*. Las tareas más frecuentemente empleadas son de 0-3 estímulos (Baars y Gage, 2010; Jonides et al., 1997; Owen et al., 2005). La dificultad de la tarea es mayor cuando la comparación *n-atrás* aumenta, es decir, una condición *3-back* es más complicada que una condición 2 o *1-back*, puesto que la carga en memoria de trabajo aumenta (Baars y Gage, 2010). Como ya ha sido mencionado, esta tarea es usada como medida de memoria de trabajo debido a que demanda al sujeto un constante mantenimiento, manipulación y actualización de información (Fletcher y Henson, 2001; Jonides et al., 1997). Es decir, por un lado se requiere el almacenamiento de los estímulos presentados y la constante actualización de información cada vez que se presenta un nuevo estímulo; además de desechar aquéllos que ya no son requeridos para la comparación actual (Jonides et al., 1997).

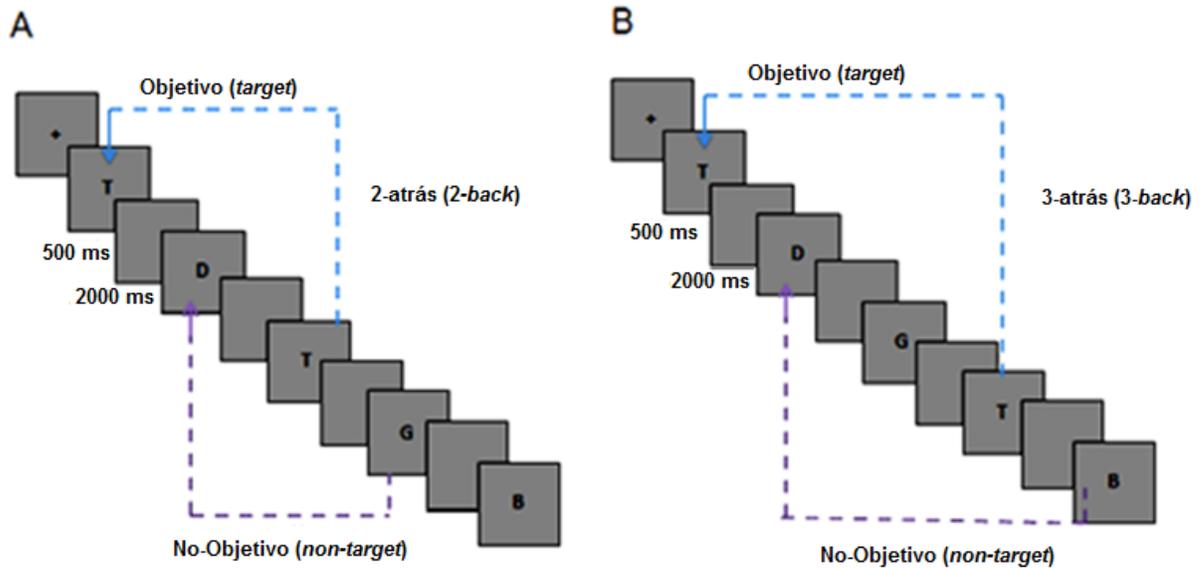


Figura 1

Figura 2. Tarea *n-back* (A 2-back, B 3-back) presentación consecutiva de una serie de letras donde los sujetos deben detectar si la letra actual es igual o no al estímulo presentado *n* ensayos atrás. En los ensayos en los que la letra actual es igual a la letra presentada *n*-atrás son los estímulos *target*, mientras que, en los ensayos donde son diferentes son *non-target*. En este ejemplo cada letra se presenta 500 ms con un intervalo entre estímulo de 2000 ms.

1.2 NEUROFISIOLOGÍA DE LA MEMORIA DE TRABAJO

1.2.1. REDES NEURONALES INVOLUCRADAS EN LA MEMORIA DE TRABAJO

Para la identificación de las redes o regiones del SNC que participan en la memoria de trabajo se han utilizado diversas técnicas entre las que se encuentran los estudios con neuroimagen. Así, la región cerebral que ha sido principalmente asociada con memoria de trabajo es la corteza prefrontal (CPF; Baars y Gage, 2010). Diversos estudios han evaluado la memoria de trabajo con la tarea *n-back* y han descrito regiones consistentemente asociadas a esta tarea, por ejemplo, la

corteza prefrontal dorsolateral (CPF DL) se ha asociado con la reorganización, la manipulación, el mantenimiento y recuperación de información (Bor et al., 2003; Jonides et al., 1998; Veltman et al., 2003). En un estudio Cohen et al. (1997) utilizaron la tarea *n-back* para estudiar la participación de la CPF DL en el mantenimiento de información en la memoria de trabajo. Demostraron, con resonancia magnética funcional (fMRI por sus siglas en inglés; *Funcional Magnetic Resonance Image*)¹, que en los periodos de retraso entre estímulos esta región se encontraba hiperactiva y que al aumentar el periodo de retraso interestímulo la hiperactivación de esta región también se mantenía por mayor tiempo. Además, la hiperactividad de la CPF DL fue mayor en las tareas de carga mayor (2 y 3-*back*) comparado con las de baja (0 y 1-*back*), sugiriendo el aumento de información a mantener requería de una mayor participación de esta región.

Otros trabajos como el de Veltman et al. (2003) han tratado de establecer qué regiones del lóbulo frontal están participando en el mantenimiento y cuáles en la manipulación de la información en la memoria de trabajo. Veltman et al. (2003) utilizaron la tarea de Sternberg verbal con 6 niveles de complejidad (Carga 2-7 letras) para determinar las regiones cerebrales participantes en el mantenimiento de información y la tarea *n-back* con 4 niveles de complejidad (0 a 3-*back* letras)

¹La Resonancia Magnética Funcional o fMRI (siglas en inglés, Funcional Magnetic Resonance Image), es una técnica que a través del análisis BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) mide el nivel de cambio en la oxigenación de las regiones cerebrales. La principal fuente de energía neuronal es el consumo de oxígeno y glucosa, cuando las neuronas están activas los niveles de consumo de oxígeno aumentan (Matesú et al., 2008; Ogawa y Sung, 2011). La activación es observable debido a que el resonador es capaz de detectar este cambio porque la hemoglobina desoxigenada es fácilmente magnetizada, lo que permite sugerir que las regiones con mayor cambio en la señal magnética están activas durante el procesamiento (Matesú et al., 2008; Ogawa y Sung, 2011). Sin embargo, para obtener los parámetros de activación durante las tareas se necesita el análisis de la activación en reposo o de una condición control. A la activación de una condición experimental se le resta la activación en reposo (o de la condición control) para observar así la activación debida a la condición experimental (Matesú et al., 2008; Ogawa y Sung, 2011).

para determinar las relacionadas con la manipulación y actualización de información. Sus resultados indicaron que en ambas tareas se activaron (a mayor complejidad mayor activación para ambas tareas) regiones comunes como: la CPDFL, la corteza frontopolar (CFP), la corteza prefrontal ventrolateral (CPFVL), la corteza parietal (CP), la corteza temporal inferior, la corteza occipital (CO), el cerebelo y la corteza motora suplementaria (CMS). Sin embargo, aunque la CPFDL, la CPFVL, la CP, la CMS y el cerebelo se activaron en ambas tareas, éstas se activaron más en la tarea *n-back*. Estos resultados sugieren que existe una red frontal que participa de forma consistente en la memoria de trabajo como proceso cognitivo, tanto en mantenimiento como en manipulación de información, sin embargo, la tarea *n-back* es una tarea de mayor demanda, especialmente en manipulación y actualización de información en comparación con la tarea de Sternberg, y las regiones hiperactivas (*i.e.* la CPFDL, la CPFVL, la CP la CMS y el cerebelo) podrían estar más asociadas a este proceso.

Además, la CPFVL, se ha relacionado con la identificación espacial (Smith et al., 1996), el recuerdo intencional de información (para su uso inmediato) y con el mantenimiento de información relevante, inhibiendo la que no lo es (Baars y Gage, 2010; Dove et al., 2001).

La CFP, se ha visto involucrada en la resolución de problemas (*e.g.*, las reglas para resolver una tarea), coordinando, monitoreando e integrando información de diferentes operaciones simultáneas, por ejemplo, la tarea *n-back* requiere que, al mismo tiempo, se esté monitoreando la serie de estímulos presentados, la incorporación constante de estímulos nuevos y el desecho de los

que ya no se requieren, además de ir haciendo las comparaciones para determinar si los estímulos son iguales o no a n-atrás (Owen et al., 2005).

Con respecto a la CP, se ha descrito que existen zonas asociadas con procesos como el mantenimiento y recuperación de información verbal (Jonides et al., 1998).

De acuerdo a los hallazgos anteriores es posible sugerir que existe una amplia red neuronal en la corteza cerebral que está involucrada en la memoria de trabajo. Esta red depende de diversos sistemas neuroquímicos, que se ha observado afectan diferencialmente a la memoria de trabajo (Ellis y Nathan, 2001), los cuales se describen a continuación.

1.2.2 NEUROQUÍMICA DE LA MEMORIA DE TRABAJO

Entre los sistemas neuroquímicos y, específicamente, los sistemas de neurotransmisión (NT) que se han relacionado con la memoria de trabajo se encuentran: el dopaminérgico (Mattay et al., 2002), el noradrenérgico (Ramos et al., 2008), el colinérgico (Zhou et al., 2011), el glutamatérgico (Driesen et al., 2013) y el serotoninérgico (Anderson et al., 2011). A continuación se describen diversos estudios que evidencian la participación de cada uno de estos sistemas.

- **Dopamina**

Los estudios han analizado la participación del sistema dopaminérgico en la memoria de trabajo debido a las proyecciones desde los núcleos de síntesis de dopamina (DA), en el mesencéfalo hasta la CPF, conocidas como vías mesocorticales (Kandel et al., 2013). En un estudio realizado por Mattay et al. (2002) se describió que existen diferencias en la ejecución de una tarea de

memoria de trabajo dependiente de las concentraciones basales de DA en la CPF. De acuerdo con este estudio las concentraciones de DA afectan a la eficiencia de la memoria de trabajo en forma de una U invertida: un aumento o disminución en la concentración “óptima” de DA, disminuye la eficiencia en la memoria de trabajo (Mattay et al., 2002).

- **Noradrenalina**

Ramos et al. (2008), mostraron que el uso de un agonista para receptores beta-adrenérgicos, el clenbuterol administrado en CPF a ratas e intramuscularmente a monos aumentó el porcentaje de respuestas correctas en la ejecución en tareas de memoria de trabajo en ambas especies. Las ratas realizaron una tarea de alternancia en un laberinto en “T”. A los sujetos se les dejaba en el brazo más largo de este laberinto y se les enseñó la existencia de un reforzador (una chispa de chocolate) al final de los otros dos brazos. Una vez que aprendieron la tarea, se colocaba el reforzador alternando la localización, es decir, el reforzador en un ensayo se encontraba en el brazo izquierdo, en el siguiente ensayo en el brazo derecho y así sucesivamente. Una vez que recogían el reforzador, eran retirados del laberinto en diferentes intervalos (1.5 a 5 s) como periodo de retraso o mantenimiento. El buscar el reforzador en el brazo contrario al del ensayo anterior era considerado como una respuesta correcta.

Por otro lado, los monos resolvieron una tarea denominada Aparato de la Prueba General de Wisconsin (WGTA por sus siglas en inglés; *Wisconsin General Testing Apparatus*) que consistió en colocar en uno o más pozos un reforzador (comida), los monos no tienen acceso a los reforzadores sólo observan su localización. Posteriormente, se coloca una pantalla oscura en intervalos desde 0

a 20 s cubriendo los pozos. Después de este intervalo, la pantalla oscura se retiraba y los monos podían elegir uno de los pozos, una respuesta correcta era cuando seleccionaban un pozo con reforzador (y podían obtenerlo). Además, el aumento en el porcentaje de respuestas correctas tras la administración de clenbuterol se previno al bloquear a los receptores beta-adrenérgicos, con el antagonista ICI 118,551. La sola administración de ICI 118,551, no tuvo efectos en la ejecución. Estos resultados demuestran que el aumento de noradrenalina mejora la eficiencia en memoria de trabajo.

- **Glutamato**

En humanos se ha descrito que la administración aguda de ketamina (un antagonista de los receptores glutamatérgicos N-metil de aspartato, NMDA), vía intravenosa, en una tarea de memoria de trabajo de mantenimiento espacial (*ver descripción de la tarea en la página 10*; Driesen et al., 2013) disminuye el porcentaje de respuestas correctas en comparación con la administración de un vehículo. Además de reducir la activación de la corteza prefrontal lateral (CPFL) durante la resolución de la tarea (Driesen et al., 2013). Sugiriendo que la reducción de glutamato disminuye la eficiencia en memoria de trabajo.

- **Acetilcolina**

Se ha demostrado en primates no humanos (monos *Rhesus*; Zhou et al., 2011) la participación del sistema colinérgico en la memoria de trabajo con la administración intramuscular de escopolamina, un antagonista para los receptores muscarínicos. En este estudio se evaluó la memoria de trabajo con una tarea de mantenimiento espacial para monos (*ver descripción de la tarea en la página 10*; Zhou et al., 2011). Se observó que la escopolamina disminuyó el porcentaje de

respuestas correctas de forma dosis dependiente (a mayor dosis, menor porcentaje de respuestas correctas; Zhou et al., 2011).

- **Serotonina**

La participación de la serotonina en la memoria de trabajo es menos clara (Ellis y Nathan, 2001), sin embargo, estudios sobre variaciones genéticas han demostrado asociaciones entre variaciones específicas en la región reguladora del gen SLC6A4, que codifica para el transportador de serotonina (5-HTT), y memoria de trabajo. Se ha observado que el intercambio de un nucleótido en la región reguladora promueve diferentes longitudes de la secuencia, por lo que se les ha denominado el alelo corto (*S short* en inglés) y el alelo largo (*L* en inglés). Se ha demostrado que el alelo *S* tiene como consecuencia una menor eficiencia transcripcional, esto es, hay una menor síntesis de transportador a serotonina, en comparación con el alelo *L*. En consecuencia, la recaptura de serotonina es menor en los sujetos portadores de uno o dos alelos *S* (Heils et al., 1996, citado en Nakamura et al., 2000). En memoria de trabajo, se ha observado que los sujetos que son portadores de un alelo *S*, tienen mayor capacidad en memoria de trabajo (mantenimiento espacial de figuras de colores; *ver descripción de la tarea en la página 10*; Anderson et al., 2011) comparados con los homocigotos para el alelo *L* (Anderson et al., 2011).

Los ejemplos anteriores permiten observar que la eficiencia de la memoria de trabajo depende del funcionamiento la neuroquímica del cerebro. Sin embargo,

estos estudios están dirigidos a la evaluación al mantenimiento de información y no a la actualización de información de la memoria de trabajo.

Además de los neurotransmisores clásicos, la comunicación neuroquímica del cerebro también está regulada por otros sistemas que se conocen como sistemas de neuromodulación (Burrows, 1996; Hoyle, 1985). Por un lado, los neurotransmisores son sustancias endógenas sintetizadas en la neurona presináptica, que se almacenan hasta su liberación en las terminales nerviosas. Su liberación ocurre posterior a la estimulación de la neurona presináptica y afecta a una neurona posináptica (Burrows, 1996; Hoyle, 1985). Mientras que los neuromoduladores son sustancias endógenas que al ser liberadas por la neurona afectan a un grupo de neuronas vecinas de forma presináptica modulando así, la liberación de los neurotransmisores (Burrows, 1996; Hoyle, 1985).

El conocimiento sobre cómo participan estos moduladores en la función cognitiva y, específicamente, en la memoria de trabajo es mucho menor. Uno de estos sistemas de neuromodulación es el sistema endocanabinoide (Pistis et al., 2002), objetivo de esta tesis, que a continuación se describe.

1.3 SISTEMA ENDOCANABINOIDE

El sistema endocannabinoide, involucra un conjunto de lípidos y proteínas que fueron descubiertos como resultado del estudio de los efectos y sitios de recepción, del principal componente de la marihuana (*Cannabis sativa*), el Δ 9-Tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC; Di Marzo et al., 2004; Pertwee, 1999; Pistis et al. 2002) en el SNC. El primer sitio descrito de recepción del Δ 9-THC fue una proteína acoplada a una proteína G inhibidora, al que se le denominó receptor a

cannabinoides 1 (CB1; Matsuda et al., 1990; Pertwee, 1999). Este hallazgo sugirió la existencia de moléculas endógenas que, de manera natural, eran afines a este receptor. Actualmente, se ha descrito que el sistema endocannabinoide, está compuesto por dos receptores: el receptor a cannabinoides 1 (CB1; Matsuda et al., 1990; Pertwee, 1999) y el receptor a cannabinoides 2 (CB2; Munro et al., 1993); ligandos endógenos como: la anandamida, el 2-Araquidonilglicerol (2-AG; Piomelli, 2003) y la oleamida (Lambert y Di Marzo, 1999); y enzimas que degradan a estos ligandos como: la hidrolasa de ácidos grasos amidados (FAAH) para la anandamida (Fowler et al., 2001) y la oleamida (Cravatt et al., 1995), así como, la monoacilglicerol lipasa (MAGL) y la serina hidrolasa α - β -hidrolasa dominio 6 y 12 (ABHD6 and ABHD12) para el 2-AG (Blankman et al., 2007). Es debido a la afinidad del Δ 9-THC que todo este sistema ha sido denominado sistema endocannabinoide. El cual se describe con mayor detalle a continuación.

1.3.1 RECEPTORES A ENDOCANNABINOIDES

- **Receptor CB1**

El receptor CB1, como se mencionó anteriormente, es un receptor acoplado a una proteína G inhibidora (Matsuda et al., 1990; Pertwee, 1999); este receptor está ubicado principalmente en la presinápsis, se encuentra ampliamente distribuido en el SNC como en la corteza del cíngulo, el putamen, el hipocampo, el cerebelo, el puente, el tálamo, la corteza prefrontal dorsolateral y en general en la corteza cerebral (Dean et al., 2001; Wong et al., 2010).

En la Figura 3 se muestra una imagen donde puede observarse la amplia distribución de este receptor *in vivo*, realizada con tomografía por emisión de

positrones (PET por sus siglas en inglés; *Positron Emission Tomography*)² por Burns et al. (2007) en el que se utilizó un radiomarcador ($[^{18}\text{F}]\text{MK-9470}$), agonista inverso, con alta afinidad al receptor CB1.

En el estudio de Burns et al. (2007), se observa la presencia del receptor en el tálamo e hipocampo y en mayor concentración en el estriado, la corteza posterior del cíngulo y la corteza frontal (ver Figura 3). Debido a la amplia distribución en el cerebro del receptor CB1 (e.g. en regiones frontales) y su función neuromoduladora es posible que participe en la modulación de la memoria de trabajo.

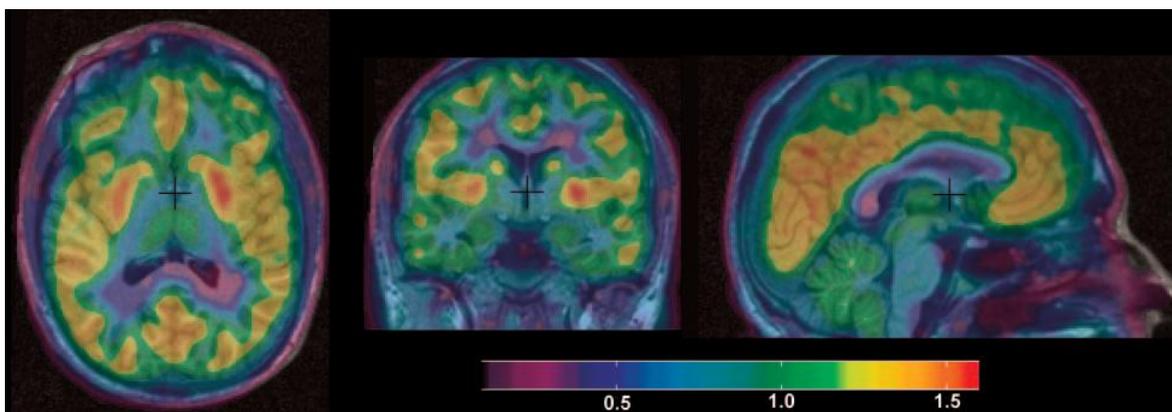


Figura 3. Distribución del receptor CB1 en cerebro humano. En la imagen se observa un corte transversal, un corte coronal y un corte sagital de cerebro humano; la escala de colores en tonos amarillos y rojizos indican mayor pegado del radiomarcador $[^{18}\text{F}]\text{MK-9470}$, es decir, mayores concentraciones del receptor CB1 (estriado, la corteza posterior del cíngulo y la corteza frontal) comparado con las regiones con tonos azules y morados que indican menor concentración (tálamo e hipocampo; tomada de Burns et al., 2007). El receptor CB1 podría estar participando en la memoria de trabajo debido a su amplia distribución CB1 en regiones cerebrales involucradas con ésta (e.g. las regiones frontales; tomado de Burns et al., 2007).

² La técnica PET permite obtener imágenes de sujetos *in vivo*. Esta técnica consiste en la inyección de un radiomarcador (regularmente administrado por vía intravenosa) que se adhiere a los tejidos de interés (Olinger y Fessler, 1997). Este radiomarcador emite un positrón (que es un electrón cargado positivamente y antipartícula de éste). Cuando el radio marcador emite el positrón, éste aniquila al electrón, el choque entre positrón y electrón se generan dos fotones que viajan en direcciones contrarias y las cuales son detectadas por el tomógrafo como coincidentes en el espacio generando así una imagen que se reestructura en computadora con un software especializado (Raichle, 1980; Olinger y Fessler, 1997).

La activación del receptor CB1 inhibe a la adenilatociclasa lo cual disminuye los niveles de AMP cíclico (AMPC) intracelular. El AMPC de manera natural fosforila los canales de potasio cerrándolos, sin embargo, al disminuir los niveles de AMPC los canales de potasio permanecen abiertos y las neuronas se repolarizan, disminuyendo así la probabilidad de que se siga liberando el neurotransmisor de la neurona presináptica (Howlett et al., 1986; revisado por Svízenská et al., 2008).

Se ha descrito que la activación con agonistas de receptores CB1 disminuyen la liberación de glutamato en las células de Purkinje, y liberación de GABA en la CPF (Maejima et al., 2001; Pistis et al., 2002). Esto es, en algunos casos la inhibición de la liberación de neurotransmisores excitadores, como el glutamato, disminuye la probabilidad de despolarización esas neuronas, pero, en otras ocasiones al inhibir la liberación de un neurotransmisor inhibitor, como el GABA, aumenta la probabilidad de despolarización. De esta forma la activación del receptor CB1 modula la neurotransmisión.

- **Receptor CB2**

Posterior a la descripción del receptor CB1, se describió otro receptor a cannabinoides denominado receptor a cannabinoides 2 (CB2; Munro et al., 1993), también acoplado a proteína G, que se encuentra principalmente distribuido en tejido inmune, sistema nervioso periférico (revisión de Svízenská et al., 2008) y más recientemente se ha descrito que también se encuentra distribuido en el SNC de roedores (Brusco et al., 2008; Romano-López et al., 2012). En ratas, por

ejemplo, se ha observado que la administración de cocaína disminuye la proliferación neuronal en el hipocampo, pero, la administración de un antagonista al receptor CB2 (el AM630), contrarresta este efecto aumentando la proliferación. Esto sugiere, que el receptor CB2 interviene en los cambios neurogénicos, en este caso provocados por la administración de cocaína, en regiones como el hipocampo (Blanco-Calvo et al., 2014).

En ratones, se ha observado que la administración de agonistas específicos al CB2, como el JWH133, en células del núcleo accumbens inhiben la autoadministración de cocaína, lo que sugiere que el receptor CB2 también está participando en el sistema de motivación-recompensa (Xi et al., 2011).

Sin embargo, en el SNC humano sólo se ha detectado en células microgliales perivasculares (en el cerebelo) sugiriendo que, aún en el SNC humano, su función parece ser de tipo inmunomodulador (Nuñez et al., 2004).

1.3.2 ENDOCANNABINOIDES

Los endocannabinoides (eBCs), son moléculas lipídicas endógenas que no están almacenadas, sino que se sintetizan en la neurona postsináptica en el momento en que aumenta el flujo de Ca^{2+} intracelularmente (ver Figura 4; Di Marzo et al., 1998). Los más estudiados son la anandamida, el 2-Araquidonilglicerol (2-AG; Piomelli, 2003) y la oleamida (Lambert y Di Marzo, 1999).

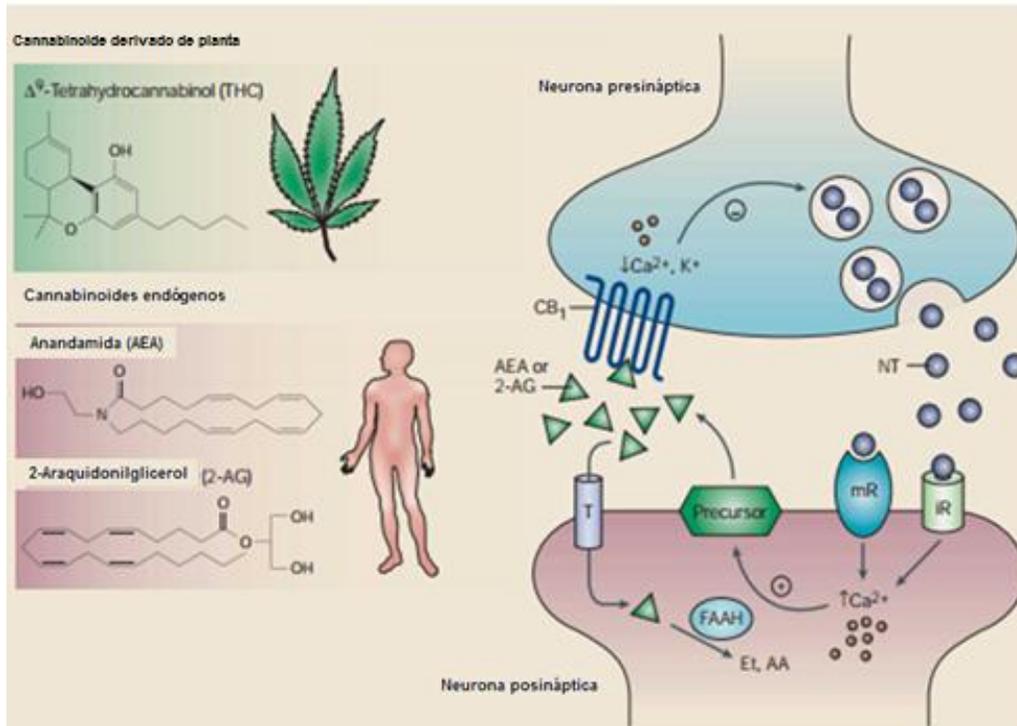


Figura 4. Activación del receptor CB1 por endocannabinoides. Se observa en azul la neurona présináptica liberando neurotransmisor (círculos azules), que activa a receptores de la neurona posináptica (en rojo) provocando la entrada de calcio (Ca^{+2}). Este aumento de Ca^{+2} intracelular promueve la síntesis de los endocannabinoides (eBCs; triángulos verdes representando a 2AG o AEA) a partir de precursores membranales (hexágono verde). Una vez sintetizados estos son liberados al espacio sináptico y activan al receptor a cannabinoides 1 (CB1) en la presinapsis (representado en azul como una cadena proteica transmembranal) la activación de éste disminuye los niveles de Ca^{+2} y K^{+} (por la disminución de AMPc, no ilustrado) disminuyendo la probabilidad de que el neurotransmisor se siga liberando (representado con \ominus). En la posinapsis los eCBs son degradados por sus respectivas enzimas (en la imagen se muestra un óvalo azul en representación de la FAAH, descrita más adelante; modificada al español de Guzmán, 2003)

Anandamida. Fue el primer endocannabinoide identificado, también denominado *N*-araquidoniletanolamina (AEA; Piomelli, 2003). Ésta posee mayor afinidad por el receptor CB1 que por el CB2 (Felder et al., 1995). Se genera a partir de la ruptura de la fosfatidiletanolamina de la membrana celular, por la *N*-aciltransferasa, produciendo *N*-araquidonil-fosfatidiletanolamina, a ésta la fosfolipasa D (PLD) la cataliza en anandamida (ver Figura 5; Piomelli, 2003).

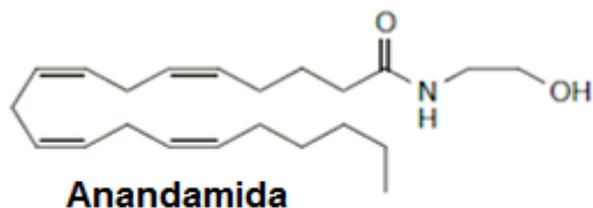


Figura 5. Estructura química de la Anandamida. Se observa su constitución por ácido araquidónico y etanolamine (AEA; modificada al español de Piomelli, 2003).

La anandamida se difunde fácilmente a través de la membrana fosfolipídica (y con la ayuda de un potencial transportador de AEA). Intracelularmente, es rápidamente hidrolizada por hidrolasa de ácidos grasos amidados (FAAH; que se encuentra adherida a las membranas intracelulares) convirtiéndose en ácido araquidónico y etanolamina (ver Figura 6; Fowler et al., 2001; revisado por Piomelli, 2003).

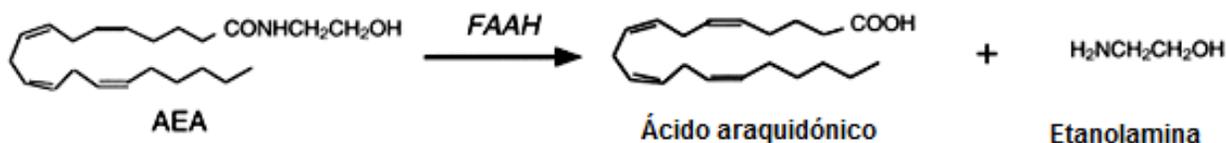
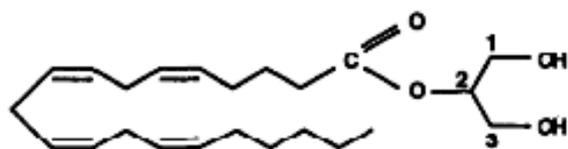


Figura 6. Degradación de la anandamida por la FAAH a ácido araquidónico y etanolamina (modificada al español de Fowler et al., 2001).

2-Araquidonilglicerol. El segundo endocannabinoide descubierto fue el 2-araquidonilglicerol (2-AG), un éster formado por ácido araquidónico y glicerol (ver Figura 7). Fue descubierto por primera vez en intestino de perro (Mechoulam et al., 1995) y se observó que el 2-AG posee mayor afinidad al CB1 en comparación con el CB2. Además, conductualmente las ratas a las que les administró 2-AG, por vía intravenosa, presentaron signos similares a la administración de Δ^9 -THC como

la reducción de actividad espontánea, hipotermia y reducción en la percepción del dolor (antinocicepción; Mechoulam et al., 1995).



2-araquidonilglicerol (2-Ara-Gl)

Figura 7. Estructura química del 2-AG. Se observa formada por una cadena de ácido araquidónico y glicerol (modificada al español de Mechoulam et al., 1995).

Posterior a su descripción y aislamiento en el intestino de perro se descubrió su presencia en el cerebro de rata (Sugiura et al., 1995). Actualmente se sabe que el 2-AG se sintetiza a demanda en la postsinápsis a partir de precursores fosfolipídicos de la membrana celular (Blankman et al., 2007) por dos posibles vías; la primera, al ser despolarizada la célula posináptica, la fosfolipasa C (PLC) hidroliza al fosfatidilinositol, liberando dos moléculas: inositoltrifosfato (IP₃) y diacilglicerol (2-AG). El 2-AG es catalizado por la diacilglicerol lipasa (DGL) formando al 2-AG. La segunda vía es la hidrolización del fosfatidilinositol por la fosfolipasa A1 (PLA1) formando 2-araquidonil-lisofosfolipido el cual a su vez es hidrolizado por la lisofosfolipasa C, resultando 2-AG (Piomelli, 2003; Sugira et al., 1995).

De la misma forma que la anandamida, el 2-AG se difunde en la membrana celular y es inactivado rápidamente por enzimas que lo hidrolizan (ver Figura 8, Blankman et al., 2007). En cerebro de ratón fue demostrado por Blankman et al. (2007) que la degradación del 2-AG depende principalmente de la monoacilglicerol

lipasa (MAGL; localizada en las terminales presinápticas) y secundariamente por enzimas serina hidrolasa α - β -hidrolasa dominio 6 y 12 (ABHD6 and ABHD12; ubicadas en la membrana celular).

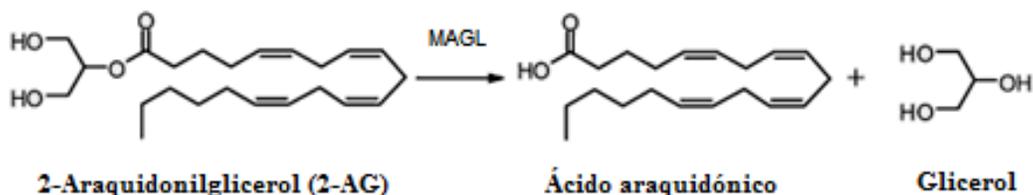


Figura 8. Hidrolización del 2-AG resultando ácido araquidónico y glicerol (modificada al español de Blankman et al., 2007).

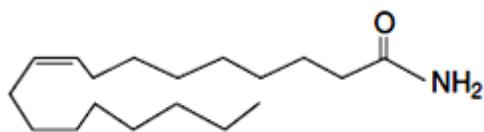
A nivel conductual, el estudio de Busquets-García et al., (2011) probaron en ratas que el aumento de anandamida disminuyó la eficiencia en tareas de memoria de forma aguda y crónica, pero esto no sucede cuando aumenta el 2-AG (inhibiendo farmacológicamente a la FAAH y a la MAGL, respectivamente). De esta forma se concluyó que estos endocannabinoides, a nivel central, tienen efectos diferentes sobre la conducta.

Oleamida. Es una amida de ácidos grasos conocida también como (cis-9-octadecenamida) que ha sido descrita como un inductor de sueño endógeno (Cravatt et al., 1995). Por ejemplo, Herrera-Solís et al. (2010) demostraron que la administración aguda (una sola administración) de 25 μ g aguda y una subcrónica (una administración diaria por 15 días) de oleamida incrementó el de Movimientos Oculares Rápidos (MOR)³ en ratas.

³ Sueño MOR y No MOR. El sueño MOR es la fase del sueño caracterizada por movimientos oculares rápidos, actividad eléctrica cerebral de frecuencia alta y baja amplitud, así como pérdida del tono muscular. El resto de las fases de sueño se denominan sueño no MOR (Pinel, 2007).

En otro estudio, realizado por Reyes-Prieto et al. (2012) se observó en ratas que el ser separadas de sus madres por 3 horas diarias desde el día postnatal 2 hasta el 16 disminuía la cantidad de minutos de sueño MOR y sueño no MOR, en comparación con un grupo control, que no había sido sometido a la separación materna. La administración de oleamida, en ratas que habían sido separadas de sus madres restableció la cantidad de minutos de sueño MOR y no MOR; esto es, incrementó la cantidad de minutos de sueño y se igualaron con la cantidad de minutos del grupo que no había sido sometido a separación materna.

Además, se ha descrito la participación de la oleamida en la termorregulación, antinocicepción (Fedorova et al., 2001), en la ingestión de alimentos (Martínez-González et al., 2004) y como un potencial ansiolítico (Wei et al., 2007). Está formado por una cadena alquilo y una terminal amida primaria (ver Figura 9).



Oleamida

Figura 9. Estructura química de la oleamida. Se observa la cadena alquilo y la terminal amino primaria R=O-NH₂ (modificada al español de Mueller y Driscoll, 2009).

Se han propuesto varias vías para la síntesis de oleamida, una de ellas es su síntesis por la enzima peptidil-amida- α -monooxigenasa (PAM) que convierte a la oleoilglicina en oleamida. Otra vía propuesta es la condensación que realiza el citocromo C de la oleoil-coenzima A y el amoniac (revisado por Mueller y Driscoll, 2009). Su degradación, de la misma forma que la anandamida, depende de la

FAAH, que hidroliza a la oleamida en ácido oléico y amoniaco (Cravatt et al., 1995).

La descripción de los receptores, las moléculas endógenas que los activan y las enzimas que degradan a estos endocannabinoides demuestra que existe todo un sistema endógeno para el cual el $\Delta 9$ -THC es sólo un agonista exógeno.

1.3.3 RELACIÓN ENTRE CANNABINOIDES Y MEMORIA DE TRABAJO

Dadas las interacciones del sistema endocannabinoide con diferentes sistemas de neurotransmisión, se ha estudiado la participación del sistema endocannabinoide en la función cognitiva (e.g. la memoria de trabajo), con la administración de agonistas exógenos, principalmente, el $\Delta 9$ -THC (Bossong et al., 2012; Silva de Melo et al., 2005) y endocannabinoides como la AEA y el 2-AG (Wise et al., 2012).

Como ya ha sido mencionado, el principal componente psicoactivo de la marihuana es el $\Delta 9$ -Tetrahydrocannabinol ($\Delta 9$ -THC; Pertwee, 1999; Di Marzo et al., 2004). La marihuana (*Cannabis sativa*) es la droga ilícita, en la mayor parte del mundo, de mayor consumo (UNDOC, Informe Mundial sobre las Drogas 2012). El consumo de marihuana se ha asociado con un deterioro en diferentes funciones cognitivas, entre las que se encuentra la memoria de trabajo (Solowij y Pesa, 2010). Por ejemplo, en un estudio en ratas se midió la memoria de trabajo en un laberinto radial. Esta tarea se llevó a cabo en un laberinto de ocho brazos. Se les enseñó a las ratas a recoger un cacahuete, como reforzador, que se encontraba al final del brazo. En la fase experimental se dejó a las ratas en el centro y debían

entrar a cada uno de los ocho brazos por el reforzador. Se usa como una tarea de memoria de trabajo, porque se asume que las ratas deben mantener información acerca de cuáles brazos ya han visitado (y tomado el reforzador), cuáles no y evitar reingresar a uno que ya habían visitado (Silva de Melo et al., 2005). La administración de $\Delta 9$ -THC en la corteza prefrontal e intraperitonealmente mostró que las ratas aumentaban la cantidad de errores (entradas a brazos que ya habían visitado), en ambas condiciones, comparadas con la administración de un vehículo (Silva de Melo et al., 2005).

En humanos se compararon los efectos de administración de $\Delta 9$ -THC contra una condición placebo durante la evaluación de memoria de trabajo con el Paradigma de Sternberg (*ver descripción de la tarea* página 9; Sternberg, 1966) con 5 niveles de dificultad (el estímulo clave podía tener 1, 3, 5, 7 o 9 letras; Bossong et al., 2012). Se observó igualmente que el porcentaje de respuestas correctas fue menor y los tiempos de reacción (TR) aumentaron bajo los efectos de $\Delta 9$ -THC. Además, con fMRI, se observó que la actividad cerebral se modificó, bajo los efectos del $\Delta 9$ -THC, en el conjunto de áreas (cerebelo, ínsula, CPFDL, núcleo caudado, giro temporal inferior izquierdo, giro parietal inferior, precuenus, corteza anterior del cíngulo) que los autores identificaron, en un estudio previo, como una red de procesamiento de memoria de trabajo. Para observar los cambios en la actividad cerebral, Bossong et al. (2012) realizaron la resta de la actividad de las condiciones de dificultad 3, 5, 7 y 9 contra la activación de la dificultad 1 como punto de comparación. Sus resultados muestran que en la condición placebo el aumento de la actividad de esta red de MT es progresivamente mayor al aumentar la dificultad de la tarea, pero cuando los

sujetos estaban bajo los efectos de la administración del $\Delta 9$ -THC esta tendencia desapareció. En todas las condiciones, aún en la de menor dificultad (3 estímulos): se mantuvo un nivel alto de activación en comparación con la condición placebo (ver Figura 10). Esto indica que inclusive en las condiciones de baja dificultad, los sujetos bajo los efectos del $\Delta 9$ -THC, procesaron la información como en las condiciones de alta complejidad.

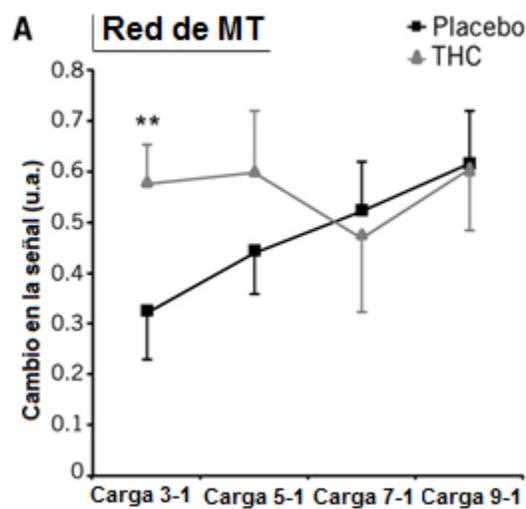


Figura 10. Cambio en la actividad BOLD de la red de memoria de trabajo asociada a la administración de $\Delta 9$ -THC. En la gráfica se observa en el eje de las abscisas el nivel de dificultad (restando al nivel de dificultad 3, 5, 7 y 9 la actividad observada en la dificultad 1; *Carga 3-1*, *Carga 5-1*, *Carga 7-1*, *Carga 9-1*) en el eje de las ordenadas se ve el nivel de cambio en la señal magnética como resultado de los cambios de oxigenación por activación de la red de memoria de trabajo en función de la dificultad de la tarea. Se observa que en la condición placebo (línea negra) y bajo los efectos de THC (línea gris; modificada al español de Bossong et al., 2012).

En ratones, Wise et al. (2012) midieron memoria de trabajo utilizando el laberinto de Morris y el efecto que tenía la inactivación de la FAAH y la MAGL (teniendo como consecuencia mayores niveles de AEA y 2-AG). El laberinto de Morris es un laberinto circular lleno de agua que cubre una plataforma de escape, los ratones son colocados en el agua y deben encontrar la localización de la

plataforma oculta, una vez que encuentran la localización se les deja en ella unos segundos y después son retirados del laberinto. Se considera una tarea de memoria de trabajo espacial porque los ratones deben recordar en cada ensayo la localización de la plataforma, una de las medidas de eficiencia es la latencia de escape. Si los ratones recuerdan la localización de la plataforma les toma menos tiempo llegar a ella en cada ensayo subsiguiente. La inactivación de la FAAH y la MAGL se realizó con la administración de JZL184 y se observó que las ratas a las que se les administró JZL184 tuvieron menor eficiencia, es decir, tardaban más segundos en encontrar (y pararse) en la plataforma de escape comparadas con las ratas del grupo control. Este decremento en la eficiencia fue bloqueado con un antagonista al receptor CB1, el rimonabant. Sugiriendo que el aumento de AEA y 2-AG, disminuye la eficiencia en memoria de trabajo espacial.

Sin embargo, a menos de que se utilicen cannabinoides endógenos en modelos animales, existen problemas para estudiar la participación del sistema endocannabinoide y la función cognitiva en humanos. Uno de ellos es que administrar $\Delta 9$ -THC es invasivo, además, de que no es posible realizarlos en México por restricciones legales. Actualmente, otra forma de estudiar la participación del sistema endocannabinoide en la función cognitiva es asociando diferencias en la eficiencia cognitiva con variaciones en genes que codifican para proteínas del sistema endocannabinoide, por ejemplo, para el receptor CB1 (Ruiz-Contreras et al., 2011; Ruiz-Contreras et al., 2013 y 2014).

Además, el estudio de variaciones genéticas representa una ventaja para aproximarse al conocimiento de diferencias individuales en la eficiencia en la memoria de trabajo. Se ha observado, con correlatos electrofisiológicos, que es

posible diferenciar a sujetos sanos en sujetos de alta y baja capacidad de memoria de trabajo sugiriendo la existencia de bases neurofisiológicas de esta variabilidad entre sujetos (Vogel et al., 2005).

1.3.4 DIFERENCIAS INDIVIDUALES EN MEMORIA DE TRABAJO ASOCIADAS AL GEN QUE CODIFICA PARA EL RECEPTOR CB1

Para entender el estudio de las variaciones genéticas se requiere de la descripción de los aspectos básicos que subyacen a estas variaciones. A continuación se describe qué es el ADN y qué son los genes, su localización y su composición.

El ADN, molécula que se encuentra en el núcleo de las células, está formado por unidades estructurales éstas se componen de: una base nitrogenada (Adenina: A, Guanina: G, Citosina: C y Timina: T), un azúcar de cinco carbonos (2-Desoxirribosa) y un grupo fosfato, en conjunto, estos tres componentes forman la unidad denominada nucleótido. Para su identificación un nucleótido recibe el nombre de la base nitrogenada que lo conforma (Klug et al., 2006).

Un gen es una secuencia de ADN (que ocupa un lugar específico en el cromosoma) y la unidad fundamental que codifica a una proteína (Klug et al., 2006). Los genes tienen formas alternativas que se denominan alelos. Los organismos que presentan reproducción sexual, como los seres humanos, obtienen una pareja de genes que codifican a la misma proteína, uno que es otorgado por la madre en el óvulo y otro por el padre, vía el espermatozoide (Klug et al., 2006). Los genes que otorgan ambos padres pueden, o no, ser idénticos por

lo que se dice que los organismos poseemos dos alelos del mismo gen. La composición alélica resultante se denomina genotipo (Klug et al., 2006).

Los genes poseen diferentes tipos de variaciones que dan origen a las diferencias individuales entre sujetos, incluyendo la eficiencia cognitiva (Ruiz-Contreras et al., 2013 y 2014).

1.3.4.1 GEN CNR1

El gen CNR1 se encuentra en el cromosoma 6q14-15 posee 4 exones (regiones del gen que se expresan) y cuatro intrones (ver Figura 11; Zhang et al., 2004). Nuestro grupo, ha reportado previamente asociaciones entre el gen CNR1, que codifica para el receptor CB1, y la memoria de trabajo (Ruiz-Contreras et al., 2013 y 2014).

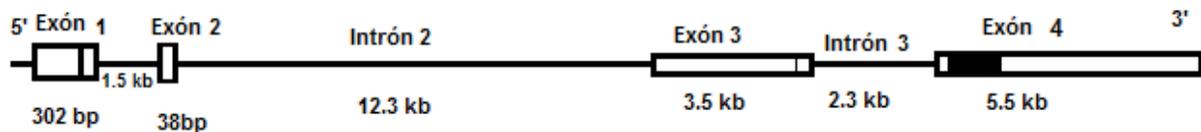


Figura 11. Conformación del gen CNR1. En una vista del gen de 5' a 3' se muestran la localización de sus 4 exones (marcados por los rectángulos) y 3 intrones (líneas continuas entre los rectángulos) las líneas más oscuras dentro de cada exón indican regiones que son codificadas a proteína, el resto del rectángulo son regiones que no se traducen (*i.e.* los exones son transcritos a ARN pero sólo las regiones oscuras son traducidas a proteína). Además se indican cuántos pares de bases (*bp*; *kb kilobases*) forman cada exón e intrón (*i.e.* exón 1: 302 bp, exón 2: 38 b, exón 3: 3.3 kb, exón 4: 5.5 kb, intrón 1: 1.5 kb, intrón 2: 12.3 kb, intron 3: 2.3 kb; modificada al español de Zhang et al., 2004).

Ruiz-Contreras et al. (2013), evaluaron las diferencias en la eficiencia en memoria de trabajo con la tarea *n-back* asociada a la variación genética dada por la repetición de un triplete de nucleótidos (AATn), localizado a 18,086 pares de bases del inicio del sitio de transcripción del exón 4 del gen CNR1 (Zhang et al.,

2004) Este polimorfismo se repite entre individuos en un número diferente de veces. Ruiz-Contreras et al. (2013), reportaron que los sujetos con $\leq 12/\leq 12$ repeticiones AAT fueron más eficientes en comparación con quienes tuvieron $>12/>12$ repeticiones (ver Figura 12).

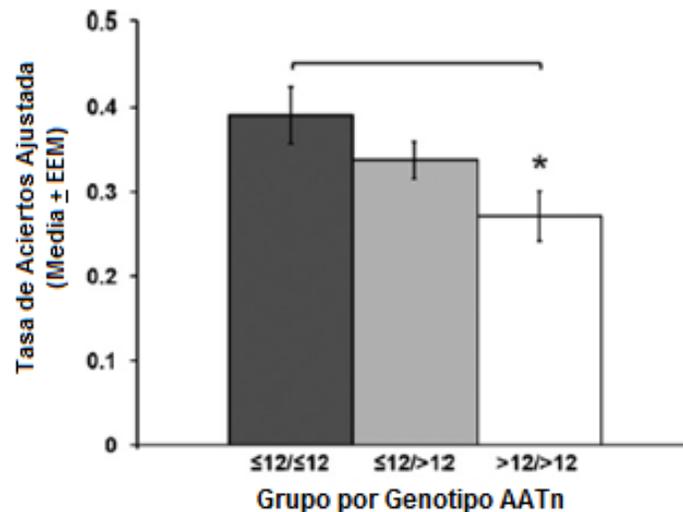


Figura 12. Desempeño en la tarea n-back asociado al polimorfismo AATn del gen CNR1. En el eje de las abscisas se agrupan los sujetos por genotipos (número de repetidos del AATn en tres grupos: $\leq 12/\leq 12$, $\leq 12/>12$ y $>12/>12$), en el eje de las ordenadas se muestra la Media \pm EEM ajustada de aciertos para las tareas 2 y 3-back como medida de precisión de la respuesta. Resultan significativamente ($p=0.03$) más eficientes los jóvenes participantes en el grupo con $\leq 12/\leq 12$ repeticiones en comparación con los del grupo con $>12/>12$ (modificada al español de Ruiz-Contreras et al., 2013).

Las desventajas de seguir estudiando este polimorfismo es que tiene una alta variabilidad en las combinaciones posibles de polimorfismos entre los sujetos, como para poder comparar grupos de individuos con una n estadísticamente apropiada, por lo que se requiere una gran cantidad de sujetos; además de que este polimorfismo localiza en una región no codificante del gen de la que no se ha descrito su función (Zhang et al., 2004; NCBI).

Existen otro tipo de variaciones genéticas como los SNPs (por sus siglas en inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) que, como su nombre indica, consisten en el cambio de un solo nucleótido por otro, en una región específica del gen. Una posibilidad de estos cambios es que pueden provocar la alteración de la secuencia de aminoácidos modificando la función de la proteína, ya sea porque existe un aumento en la expresión de la proteína o porque la modificación en la secuencia facilita o dificulta el pegado del ligando con su receptor. También puede ocurrir que los SNPs se ubiquen en regiones reguladoras, es decir, secuencias en el ADN que funcionan como señalización para las proteínas implicadas en el inicio de la transcripción de genes. Las regiones reguladoras, permiten controlar la transcripción de genes y, por tanto, los niveles de proteínas sintetizadas en las células (Riethoven, 2010) y tengan como consecuencia que se modifique la expresión (aumento, disminución o el silenciamiento) del gen, modificando así la cantidad o las propiedades de la proteína sintetizada (revisado por Wang et al., 2005). Sin embargo, en algunos casos, aunque haya este intercambio de un solo nucleótido ambas secuencias posibles codifican para el mismo aminoácido (e.g. en el cambio del nucleótido **GAA** a **GAG** ambas secuencias codifican para el aminoácido glutamina) por lo que son denominados SNPs sinónimos (NCBI, 2005; Klug et al., 2006).

En el caso del gen CNR1 se ha identificado el SNP rs2180619 localizado a -3068 pares de bases del inicio de sitio de la transcripción del exón 1 (ver Figura 13), es decir, está en una región potencialmente reguladora del gen; aquí se intercambia una A por una G (Zhang et al., 2004). A pesar de que aún no se ha demostrado cuál es el efecto fisiológico de este intercambio de nucleótidos, el

rs2180619 podría involucrar diferencias en la expresión del gen y, en consecuencia, diferencias en la cantidad o constitución del receptor CB1 sintetizado.

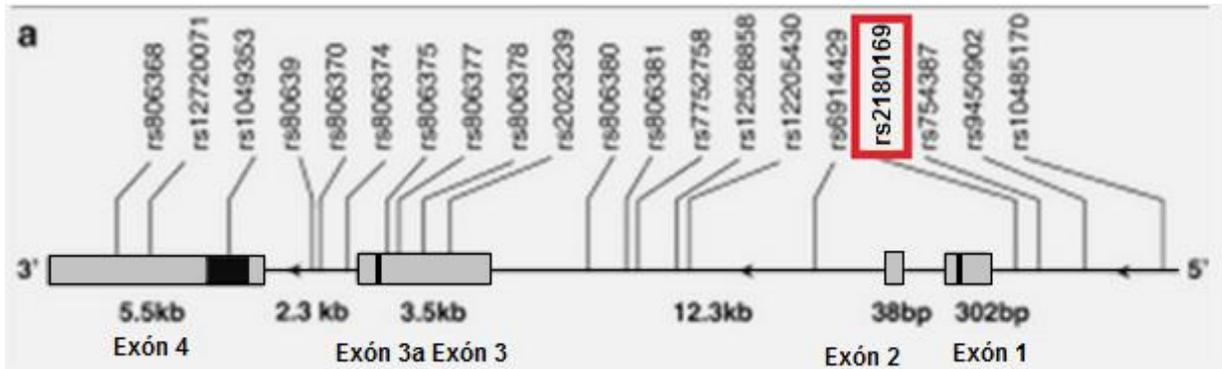


Figura 13. Muestra de diferentes SNPs del gen CNR1. En una vista de 3' a 5' se muestran los exones e intrones del gen con la especificación respectiva de los pares de bases que los conforman. Además se indican los diversos SNPs que se han identificado para el gen. En rojo se enmarca la localización específica del rs2180619 (modificada al español de Tiwari et al., 2012). rs: reference SNP; bp: pares de bases y kb: kilobases.

En estudios previos para el rs2180619 se ha observado, por ejemplo, que los sujetos con genotipo GG presentan mayores niveles de ansiedad que quienes poseen genotipo AA (Lazary et al., 2009); además, se ha asociado mayor frecuencia del genotipo GG con abuso de sustancias que el genotipo AA (Zhang et al., 2004). Sin embargo, hasta hace poco no se conocía si este polimorfismo podría ser también un genotipo de riesgo para la función cognitiva. Recientemente, Ruiz-Contreras et al. (2014) demostramos que sujetos sanos (*i.e.* sin antecedentes neurológicos ni psiquiátricos y sin dependencia a sustancias) con genotipo GG tienen menor eficiencia en una tarea de mantenimiento de información en la memoria de trabajo (*ver* Figura 14). En la tarea se les presentaba primero una pantalla con un punto de fijación, posteriormente una serie de cuatro imágenes (*i.e.* dos rostros y dos escenas) que se presentaban en

orden aleatorio, posteriormente un punto de fijación y después de éste, un estímulo prueba al que los sujetos debían contestar si había estado o no dentro de la serie de 4 estímulos presentada previamente.

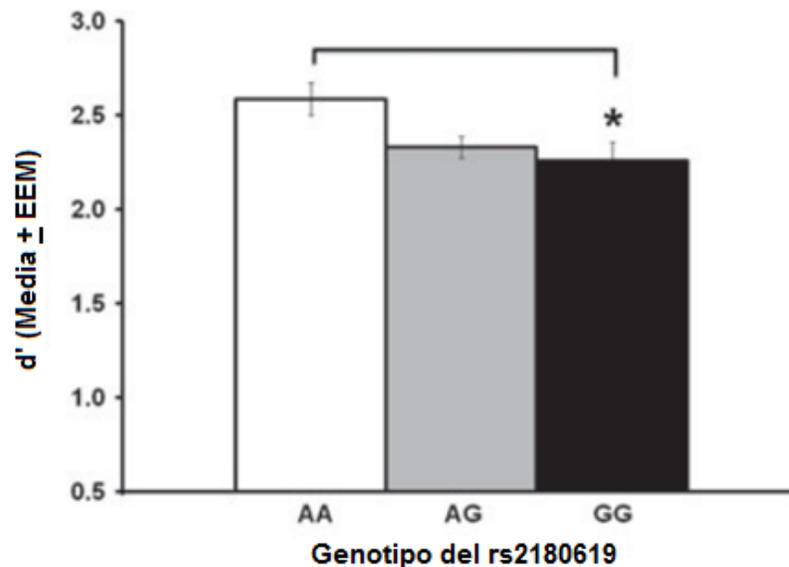


Figura 14. Diferencias en la precisión de las respuestas en una tarea de mantenimiento de información en la memoria de trabajo entre sujetos con genotipo AA y GG del rs2180619. En el eje de las abscisas se agrupan los diferentes genotipos del rs2180619. En el eje de las ordenadas se observa el índice de discriminación d' prima (d') que permite evaluar la precisión de las respuestas de los sujetos (modificada al español de Ruiz-Contreras et al., 2014).

Además de ser una tarea de mantenimiento, la tarea tenía cuatro condiciones experimentales, dos de ellas permitieron evaluar la distractibilidad de los sujetos (*i.e.* la capacidad para inhibir información irrelevante). Una condición pedía atender a los rostros (recordar rostros) e ignorar las escenas y otra condición donde tenían que atender las escenas (recordar escenas) e ignorar los rostros (el estímulo prueba era un rostro o una escena respectivamente). La tercera condición estaba orientada a evaluar el efecto de la carga en la memoria de trabajo, es decir, los sujetos debían atender a ambos tipos de estímulos (recordar ambos), y por tanto, el estímulo prueba podía ser una escena o un

rostro. En la cuarta condición se les pedía que vieran pasivamente los rostros y las escenas pero el estímulo prueba era una flecha, los sujetos debían indicar hacia qué sentido estaba orientada, además, en la instrucción se les indicaba cuál sería el sentido de la flecha lo que volvía a esta condición una tarea de tiempo de reacción simple funcionando así como una condición control, sin la participación de MT.

En los resultados se observaron diferencias en la precisión de respuesta entre los genotipos AA y GG en la condición de mayor carga para la memoria de trabajo, es decir, en la condición recordar ambos tipos de estímulos siendo los GG menos eficientes (Ruiz-Contreras et al., 2014) lo cual apoya los resultados generales en la tarea presentada anteriormente (ver Figura 15).

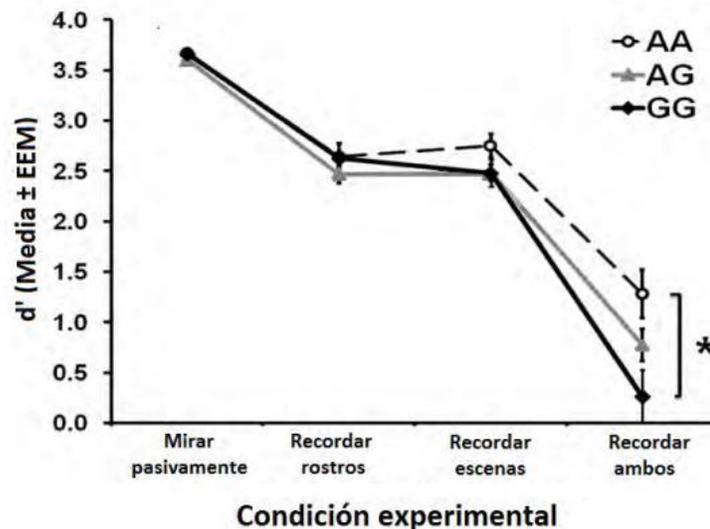


Figura 15. Precisión en la respuesta, por condición experimental, en la tarea de mantenimiento de información asociada al genotipo del rs2180619. En el eje de las abscisas se observa la condición experimental (*i.e.* Mirar pasivamente, Recordar rostros, Recordar escenas, Recordar ambos) y en el eje de las ordenadas el índice de discriminación d' . Se observó menor eficiencia en los sujetos de genotipo GG que los AA en la condición recordar ambos tipos de estímulos (*i.e.* rostros y escenas) la cual es la condición con mayor carga para la memoria de trabajo (modificada al español de Ruiz-Contreras et al., 2014).

Además, se midieron los tiempos de reacción entre las condiciones y se observó que los sujetos con genotipo GG tardaron más en responder en la condición recordar escenas (ignorar rostros; ver Figura 16) lo que sugiere que son más vulnerables a distraerse ante cierto tipo de estímulos (Ruiz-Contreras et al., 2014).

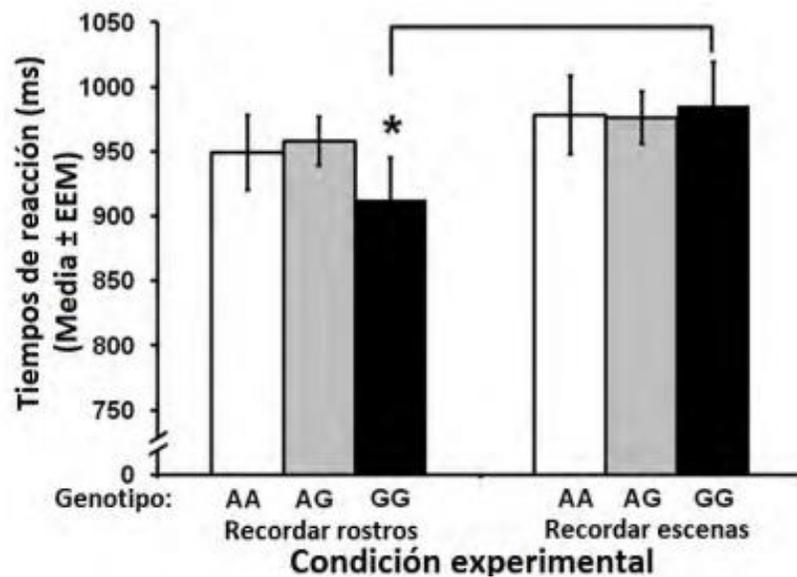


Figura 16. Tiempos de reacción en función de la condición experimental y el genotipo del rs2180619. En el eje de las abscisas se agrupan a los diferentes genotipos del rs2180916 (*i.e.* AA, AG, GG) por condición experimental (*i.e.* recordar rostros y recordar escenas); en el eje de las ordenadas está el Tiempo de Reacción en ms. Se observa que los sujetos con genotipo GG tardan más en emitir su respuesta en la condición atender escenas comparado con la condición recordar rostros, mientras que para los otros dos genotipos esto no sucede (modificada al español de Ruiz-Contreras et al., 2014).

Estos resultados apoyan la hipótesis de que el genotipo GG es un genotipo de riesgo en la eficiencia de la memoria de trabajo, además de lo previamente reportado, es decir, mayores niveles de ansiedad y mayor frecuencia en el abuso de sustancias (Lazary et al., 2009).

Como se ha mencionado la memoria de trabajo se compone de tres principales funciones: el mantenimiento, la manipulación y actualización de

información (Baddeley, 2001). El estudio de Ruiz-Contreras et al. (2014), proporciona información sólo de una de estas tres funciones, el mantenimiento, por lo que resulta de interés evaluar si este SNP puede considerarse de riesgo en la manipulación y actualización de información de la memoria de trabajo pues, en conjunto, estas tres funciones permiten la orientación de la conducta dirigida por objetivo.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La memoria de trabajo es la capacidad que tenemos para actualizar, mantener y manipular información dirigida a una meta. En las áreas cerebrales que regulan la memoria de trabajo (como la corteza cerebral) se expresa el receptor CB1, que forma parte del sistema endocannabinoide y participa en la neuromodulación de otros sistemas neuroquímicos asociados también a memoria de trabajo. El receptor CB1 es codificado por el receptor CNR1. El alelo G del rs2180619 del CNR1 se ha asociado a mayores niveles de ansiedad, abuso de sustancias y disminución en la capacidad de mantener información en la memoria de trabajo. Sin embargo, se desconoce si este genotipo es también de riesgo para otras características de la memoria de trabajo como la manipulación y la actualización de información, por lo tanto, es necesaria la utilización de una tarea que exija mayor demanda en estos dos aspectos, para lo cual la tarea *n-back* resulta una ventaja; ya que además de demandar el mantenimiento de la información, es una tarea que requiere de una constante manipulación y actualización de la misma.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferente ejecución conductual entre los diferentes genotipos del rs2180619 del gen CNR1 en la actualización y manipulación de información de la memoria de trabajo?

4. OBJETIVO GENERAL

Mostrar si la eficiencia conductual en la capacidad de manipular y actualización información en la memoria de trabajo difiere entre los genotipos del rs2180619 del gen CNR1.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mostrar si existen diferencias en el índice de discriminación entre estímulos *target* y *non-target*, porcentaje de respuestas correctas y el tiempo de reacción en la tarea *n-back* en función del genotipo del rs2180619 del gen CNR1.
- Mostrar si existen diferencias en el índice de discriminación entre estímulos *target* y *non-target*, porcentaje de respuestas correctas y el tiempo de reacción en la tarea *n-back* en función de la dificultad de la tarea, asociadas a los diferentes genotipos del rs2180619 del gen CNR1.

5. HIPÓTESIS

Los participantes con el genotipo de riesgo GG en el rs2180619 tienen menor eficiencia en la manipulación y actualización de información de la memoria de trabajo en comparación con los participantes con genotipo AA.

5.1 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- Los participantes con genotipo de riesgo GG en el rs2180619 del gen CNR1 tienen una menor eficiencia en el índice de discriminación de estímulos *target* y

non-target, porcentaje de respuestas correctas y tiempo de reacción en comparación con los participantes con genotipo AA.

- Los participantes con genotipo de riesgo GG en el rs2180619 del gen CNR1 tienen un menor índice de discriminación de estímulos *target* y *non-target*, porcentaje de respuestas correctas y el tiempo de reacción en comparación con los participantes con genotipo AA, en función de la dificultad de la tarea.

6. MÉTODO

6.1 PARTICIPANTES

Fue una muestra intencional por conveniencia de 131 participantes (71 mujeres y 61 hombres), reclutados mediante volantes, carteles, correos electrónicos y a través de redes sociales. Todos los participantes leyeron una carta de consentimiento informado y la firmaron cuando aceptaron su participación en el estudio.

Solo fueron aceptados aquellos participantes que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: tener entre 20 y 30 años, ser diestro, tener visión normal o corregida, no haber consumido alguna droga ilícita al menos en los últimos 12 meses previos al estudio, se permitió el consumo de cafeína, nicotina y alcohol, sin embargo no debían presentar ni haber presentado dependencia a ninguna sustancia, no padecer o tener antecedentes directos de enfermedades neurológicas y/o psiquiátricas, no presentar depresión ni ansiedad y tener un manejo de vocabulario adecuado para su edad.

Criterios de eliminación: Dejar de participar en el estudio de manera voluntaria. Ningún participante abandonó el estudio.

Esta investigación fue aprobada por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM.

6.2 MATERIALES

Se utilizaron dispositivos Oragene DNA (Genotek, Ottawa), uno por participante, para la recolección de muestras de saliva para realizar la genotipificación. Para la purificación de ADN y discriminación alélica se utilizaron

Microtubos, PrepIT, hielo, etanol al 95%, etanol al 75% y sondas con un fluorocromo específicas para elSNP rs2180619, para A, un flourocromo rojo y para G, un flourocromo verde.

6.2.1 APARATOS

Se utilizó una computadora para la presentación de la tarea con una pantalla de 15.4 pulgadas, con una resolución de 1024 x 768 pixeles, los estímulos (descritos en 6.3) se presentaron en color negro (rojo: 0, verde: 0 y azul: 0) en una pantalla de fondo en color gris (rojo: 200, verde: 200 y azul: 200). La captura de respuestas fue en milisegundos (véase 6.3) con dos cajas de respuestas (una izquierda y una derecha). Para la genotipificación se utilizó un termobloque Eppendorf® *Thermomixer Comfort* (para la incubación de sustancias en el proceso), una centrifuga y un espectrofotómetro (el cual permitió determinar la concentración y pureza del ADN de las muestras) Nanodrop-1000 v3.2.1 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh).

6.2.2 INSTRUMENTOS

Los siguientes cuestionarios fueron utilizados como forma de exploración para el cumplimiento de los criterios de inclusión.

6.2.2.1 Carta de consentimiento informado. Es un documento en que se explicitó a los sujetos la justificación, objetivos del estudio y beneficios del mismo. Se especificó que se les daría a cada participante sus resultados de la variación del gen analizado y su desempeño en la tarea de memoria. Se detalló el procedimiento de la sesión experimental, incluidos los cuestionarios a realizar, la

tarea en computadora y la muestra de saliva que donaron. Se explicó que no había riesgos asociados al estudio y se les aclaró que la decisión de participar en el estudio era voluntaria, sin consecuencias desfavorables para ellos y que toda la información proporcionada únicamente sería utilizada por los investigadores de forma confidencial y con fines académicos.

6.2.2.2 Cuestionario de Datos generales y de antecedentes neurológicos y/o psiquiátricos. Se recopilaron mediante un cuestionario de preguntas cerradas datos generales: nombre, teléfono, edad, dirección, escolaridad, años de estudio, existencia de algún padecimiento actual, consumo de fármacos, existencia de padecimientos neurológicos o psiquiátricos, o antecedentes de los mismos en línea directa (padres, hermanos, el sujeto o sus hijos).

6.2.2.3 Evaluación de consumo de sustancias psicoactivas. Es un cuestionario cerrado no autoaplicable en el que se preguntó a los participantes sobre el consumo a lo largo de toda su vida de sustancias psicoactivas como: cafeína, nicotina, alcohol, marihuana, cocaína, narcóticos, estimulantes, alucinógenos, inhalantes, tranquilizantes o sustancias como esteroides, pastillas dietéticas o para dormir. El consumo de cafeína, nicotina y alcohol durante los últimos 12 meses previos al estudio estuvo permitido siempre y cuando el participante no presentara dependencia a cualquiera de ellas. La presencia de dependencia se determinó de acuerdo con los criterios del Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales cuarta edición (DSM IV por sus siglas en inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*), donde se considera dependiente si se cumple 3 de 7 criterios, por ejemplo, el haber tratado de dejar de consumir sustancia y haber fracasado. Además, para el alcohol se determinó que el

participante había presentado abuso si cubría 1 de 4 criterios, por ejemplo, haber estado intoxicado en alguna situación donde corría riesgo físico. Mientras que el consumo de cualquier otra sustancia psicoactiva en los últimos 12 meses o haber presentado dependencia a éstas en algún momento de su vida, los excluyó de la investigación.

6.2.2.4 Inventario de Edimburgo. Este inventario permitió determinar la lateralidad de los participantes (Oldfield, 1971). El cuestionario consta de 12 preguntas en donde los participantes indican cuál es su preferencia de uso de manos y otras partes del cuerpo, de acuerdo a una escala likert de cinco opciones (se indica entre paréntesis el puntaje que se da a cada respuesta): “Derecha muy preferente (dos puntos para la derecha)”, “derecha preferente (un punto para la derecha)”, “indiferente (un punto para la derecha y uno para la izquierda)”, “izquierda preferente (un punto para la izquierda)” e “izquierda muy preferente (dos puntos para la izquierda)”. A continuación se hizo la sumatoria de los puntos asociados al lado derecho y al izquierdo, posteriormente se realiza el siguiente

cálculo:
$$\frac{\text{Puntos Derecha} - \text{Puntos izquierda}}{\text{Puntos Derecha} + \text{Puntos izquierda}} \times 100$$

Se consideraron diestros aquellas personas que obtuvieron un puntaje igual o mayor a +40 puntos.

6.2.2.5 Inventario de Depresión de Beck. Inventario autoaplicable que mide síntomas asociados con depresión de acuerdo a los criterios del DSM IV, el cual posee sensibilidad clínica, un coeficiente de consistencia interna $\alpha=0.90$ y un coeficiente de confiabilidad en estabilidad $\alpha=0.92$ (Steer et al., 2000; Beck et al., 1996). Consta de 21 reactivos, divididos en bloques de cuatro oraciones cada uno.

Para calificar, a cada oración se le asigna un puntaje de 0 a 3. Los participantes seleccionaron una oración, de las cuatro posibles por reactivo, que mejor correspondía con su estado de ánimo en la última semana, incluyendo el día de la sesión experimental. Aquéllos que puntuaron ≥ 30 puntos fueron excluidos de la investigación, debido a que a partir de este puntaje se considera que el sujeto posee síntomas severos de depresión.

6.2.2.6 *Inventario de Ansiedad de Beck.* Es un inventario autoaplicable que consta de 21 síntomas asociados a ansiedad. Este inventario mide la severidad de los síntomas de ansiedad en adolescentes y adultos tomando en cuenta síntomas cognoscitivos y fisiológicos; tiene una alta consistencia interna ($\alpha=0.92$; Beck et al., 1988). Las respuestas están ordenadas en una escala tipo likert acerca de cuánto le ha molestado al participante cada síntoma (e.g. mareos, bochornos, nerviosismo, terror) en la última semana incluyendo el día de la sesión experimental. La asignación de puntajes es de 0-3, Nada o poco (0), Más o menos (1), Moderadamente (2), Muy severamente (3). Aquéllos que puntuaron ≥ 26 fueron excluidos de la investigación debido a que a partir de éste puntaje se consideran síntomas severos de ansiedad.

6.2.2.7 *Subescala de vocabulario del WAIS III.* Es una subprueba de la Escala de Inteligencia de Weschler para Adultos III (WAIS III) no autoaplicable. Se les pide a los sujetos que den las definiciones de una serie de 33 palabras que van aumentando progresivamente en dificultad (e.g. reparar, renuente, ominoso) las cuales se puntúan con 2, 1 o 0 puntos (Weschler, 2003). La puntuación se asigna dependiendo del contenido de la definición. Las respuestas se califican con 2 puntos cuando se define con un buen sinónimo correcto, se indica un uso

principal, una clasificación general o un uso figurativo correcto; con 1 punto cuando la respuesta no es incorrecta pero es pobre en contenido, vago, con un uso menor, con un ejemplo pero sin elaboración del concepto y definiciones con palabras relacionadas. Con 0 puntos cuando no se muestra comprensión de la palabra cuando son vagas, triviales y gran pobreza de contenido (Weschler, 2003). Esta prueba refleja capacidades como formación de conceptos, riqueza semántica y verbal (Amador, 2013). Se utilizó como medida de control, para asegurar que los resultados no se explicaran por el coeficiente intelectual (CI) de nuestros sujetos. Es una subprueba de rápida aplicación y el puntaje obtenido en ella es un indicador con una correlación del $r=0.80$ con el CI Total de la prueba. Es, comparada con las otras subpruebas, la que posee mayor correlación con el CI Total (Tulsky y Zhu, 2003).

6.3 TAREA *n-back*

Los participantes resolvieron la tarea *n-back* verbal usando letras como estímulos, con dos niveles de dificultad, 2 y 3-*back* (ver Figura 2. A y B), que se resolvieron en bloques independientes y de manera contrabalanceada entre sujetos. Se les presentó a los participantes en el centro de la pantalla una secuencia semialeatoria de 120 estímulos (B, C, D, G, P y T) que aparecieron una por una en un ángulo de visión horizontal de 0.50° y un ángulo de visión vertical de 0.90° . Cada letra se presentó por 500 ms y el intervalo entre cada letra fue de 2500 ms. La tarea del sujeto consistió en determinar si la letra que estaba viendo en ese momento en pantalla era igual (estímulo *target*), o diferente (estímulo *non-*

target) a dos (*2-back*) o tres (*3-back*) letras atrás, dependiendo de la condición experimental. El 20% para ambas condiciones fueron estímulos *target*. El sujeto tenía 2500 ms para responder a partir del inicio de la presentación de la letra. Su respuesta fue registrada con las cajas de respuesta, presionando un botón si la letra actual era *igual*, y otro botón si la letra era *diferente*. Se contrabalanceo entre sujetos el botón (del dedo índice izquierdo o derecho) con que el participante respondía al estímulo *target* y al *non-target*. La programación de la tarea fue a través del software E-prime v.1.2.

6.4 GENOTIPIFICACIÓN

Se obtuvo una muestra de saliva para la genotipificación en los dispositivos Oragene (DNA Genotek, Ottawa). Cada muestra se extrajo y se colocó en microtubos de donde se tomaron alícuotas de 1 ml (todos los microtubos usados durante el proceso fueron rotulados). Las muestras fueron incubadas 60 minutos en el termobloque Eppendorf® *Thermomixer Comfort*. Posteriormente, se adicionó PrepIT mezclándose e incubándose en hielo durante 10 minutos. Se centrifugaron las muestras por 5 minutos en los microtubos. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 900 µl de sobrenadante y se transfirieron a microtubos nuevos. En estos se agregaron 600 µl de etanol al 95% y se mezcló. Las muestras fueron nuevamente centrifugadas por 2 minutos y decantándose el sobrenadante. Se agregó 250 nl de etanol ahora al 75% y se dejaron incubar a temperatura ambiente por 1 min. Se decantó el sobrenadante y se voltearon sobre toallas absorbentes los microtubos para que la pastilla de ADN permaneciera en el fondo de éstos permitiendo que el líquido restante saliera hasta quedar seco. La pastilla

de ADN se resuspendió con agua, a partir de la cual se verificó en el espectrofotómetro Nanodrop-1000 v3.2.1 su concentración (óptimo mayores a 10ng/μl) y pureza (entre 1.7 y 2). Para la reacción de discriminación alélica se usaron 20 ng totales de ADN.

Posteriormente, se usó la técnica de discriminación alélica TaqMan®, la cual combina la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permitiendo amplificar la porción correspondiente al CNR1, además de un paso de detección de los alelos específicos con un fluorocromo utilizando sondas específicas para el SNP rs2180619 (TaqMan® SNP Genotyping Assay cat. #4351379). Con esta técnica de discriminación alélica se imitó la acción de la polimerasa para la duplicación de segmentos específicos de ADN, a través de un termociclador, con los *primers* (FWD-CCCACCTCCATGGCAGAGA, y RVS-CAACCACGACCCCTAAAAGA AA). Las sondas, por su parte, se adhirieron al sitio específico del rs2180619, y una vez que se polimerizaron, ese segmento se amplificó la fluorescencia, detectada por el software, que permitió detectar el alelo G – fluorescencia verde, A – fluorescencia roja (un ejemplo del gráfico generado por el software en la discriminación alélica para el rs2180619, se presenta en el anexo).

Para comprobar la validez de la discriminación alélica, las muestras fueron analizadas por duplicado (corroborándose al 100% los resultados). Además se utilizaron controles (*i.e.* análisis de agua sin ADN), los cuales resultaron negativos.

6.5 PROCEDIMIENTO

Se citó a cada participante en el laboratorio para realizar una entrevista y la sesión experimental en el mismo día, la duración de la sesión fue variable y dependía de cuánto tiempo tardaba cada participante en responder los instrumentos.

Las entrevistas y las sesiones experimentales las realizamos integrantes del Laboratorio de Neurogenómica Cognitiva quienes fuimos entrenados previamente en la aplicación de los cuestionarios y las tareas en computadora. Al llegar los participantes se les preguntaba a los sujetos si habían consumido algún alimento, bebida saborizada, fumado o besado a alguien en el boca una hora antes de la sesión, si su respuesta era afirmativa se les pedía enjuagaran su boca con agua simple con el objetivo de que la muestra de saliva, donada al final de la sesión, no estuviera contaminada. Posteriormente, se les dio a leer la carta de consentimiento informado (*ver* 6.2.2.1), y una vez que aceptaron su participación, se les aplicaron los cuestionarios e instrumentos antes referidos (*ver* 6.2.2). Cuando se confirmaba por medio de los cuestionarios que cumplían con los criterios de inclusión, pasaban a una computadora en donde se aplicaban las tareas cognitivas con una duración aproximada de 15 min. Se contrabalanceó el orden de aplicación de 2 y 3-*back*, la mitad de los participantes respondieron primero a 2-*back* y después 3-*back*. Tal como ha sido referido en el apartado 6.3, se usaron dos versiones (izquierda y derecha) para contrabalancear la mano con que deberían responder al estímulo *target*.

Al terminar las tareas en computadora se les pidió resolvieran la subescala de vocabulario del WAIS (ver 6.2.2.6). Al finalizar se les pidió donaran la muestra de saliva en los dispositivos Oragene (DNA Genotek, Ottawa).

Las muestras fueron conservadas a temperatura ambiente y posteriormente fueron llevadas al Instituto Nacional de Medicina Genómica para su genotipificación. Una vez que fueron conocidos los genotipos de los participantes, éstos fueron agrupados para los análisis estadísticos correspondientes.

6.6 ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó el cálculo del equilibrio de Hardy-Weinberg a través de un análisis de χ^2 para determinar la distribución de proporciones alélicas del rs2180619.

Además, se hicieron comparaciones entre los genotipos del rs2180619 para hacer la descripción sociodemográfica de la muestra y controlar que las diferencias obtenidas en memoria de trabajo no fueran explicadas por alguna de estas variables. Los análisis realizados fueron: un análisis de χ^2 en función del genotipo para la n de hombres y mujeres; análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con variable independiente genotipo (AA, AG, GG) para las variables dependientes: edad, años de escolaridad y puntaje en la subescala de vocabulario del WAIS III; análisis Kruskal-Wallis con la variable independiente genotipo (AA, AG, GG) para las variables dependientes: puntaje del Inventario de Edimburgo, puntaje del Inventario de Depresión de Beck e Inventario de Ansiedad de Beck.

Para el análisis de la ejecución en la tarea *n-back*, la variable independiente entre grupos fue *Genotipo rs2180619* (AA, AG, GG) y la variable para medidas repetidas fue la *Complejidad de la tarea* (2 y 3-back).

Las variables dependientes fueron porcentaje de respuestas correctas (%RC), *d* prima (*d'*) y tiempo de reacción (TR).

El %RC, como medida de la ejecución de la tarea, se obtuvo del total de respuestas correctas a los estímulos *target* (responder “igual”) y *non-target* (responder “diferente”).

Se calculó *d'* como medida de discriminación entre los estímulos *target* y *non-target*. La *d'* se utilizó como índice de discriminación porque en la tarea *n-back* medidas como número o porcentaje de respuestas correctas a los estímulos *target* no siempre reflejan eficiencia, un participante podría siempre presionar el botón para indicar que el estímulo es igual a *n*-atrás, sin importar si el estímulo realmente fue igual, y se obtendría así un 100% de respuestas correctas (Haatveit et al., 2010). El cálculo de *d'* proviene de la teoría de detección de señales (Haatveit et al., 2010); esta teoría plantea cuatro posibilidades de respuesta en la detección de los estímulos: aciertos, falsas alarmas, errores y rechazos correctos. Para el cálculo de *d'* como medida de discriminación se requieren los *Aciertos* y *las falsas alarmas*. En los *Aciertos* se presenta un estímulo *target* y el participante responde con el botón “igual” (respuesta correcta) mientras que en las *falsas alarmas* se presenta un estímulo *non-target* y el participante presiona “igual” (respuesta incorrecta). La obtención de *d'* se calculó: $d' = Z_{\text{Aciertos}} - Z_{\text{FA}}$. Para lo que fue necesario calcular la tasa de Aciertos con la fórmula: *Aciertos / Total de estímulos target* y el cálculo de la tasa de Falsas Alarmas: *Falsas Alarmas / Total de estímulos non-target*. Una vez calculadas ambas tasas se buscó el puntaje *Z* para cada una en Excel® usando la siguiente fórmula: *NORMSINV(Aciertos)* y *NORMSINV(FA)*, posteriormente fue posible restarlos de acuerdo a la fórmula

mencionada previamente. Este índice permitió observar la discriminación de los estímulos de los participantes, una $d' \leq 0$ indica aproximadamente un 50% (o menos) de precisión en las respuestas sugiriendo que el participante estuvo respondiendo de manera aleatoria, mientras que altos puntajes de d' indican que el estímulo *target* fue altamente distinguido del *non-target* (Stanislaw y Todorov, 1999).

Para el caso de los TR (*i.e.* el intervalo entre la aparición del estímulo y emisión de la respuesta; Hensen, 2006), estos fueron medidos en ms y registrados automáticamente por el software, a partir de la aparición del estímulo en la pantalla.

Estas medidas conductuales fueron comparadas entre genotipos a través de un ANOVA mixto, con los factores Genotipo (AA, AG, GG) por complejidad de la tarea (*2-back* y *3-back*), para determinar si existían diferencias conductuales entre grupos. Se consideraron significativos los resultados con una $p < 0.05$. Para determinar entre qué comparaciones de las realizadas en el ANOVA mixto resultaban estadísticamente diferentes se usó la prueba post-hoc Tukey Kramer HSD (*Honestly Significant Difference*) para N desiguales.

7. RESULTADOS

7.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Las frecuencias genotípicas, para el rs2180619, de la muestra fueron: AA=30; AG=77; GG=24. En la Figura 17 se muestran estas frecuencias en porcentajes.

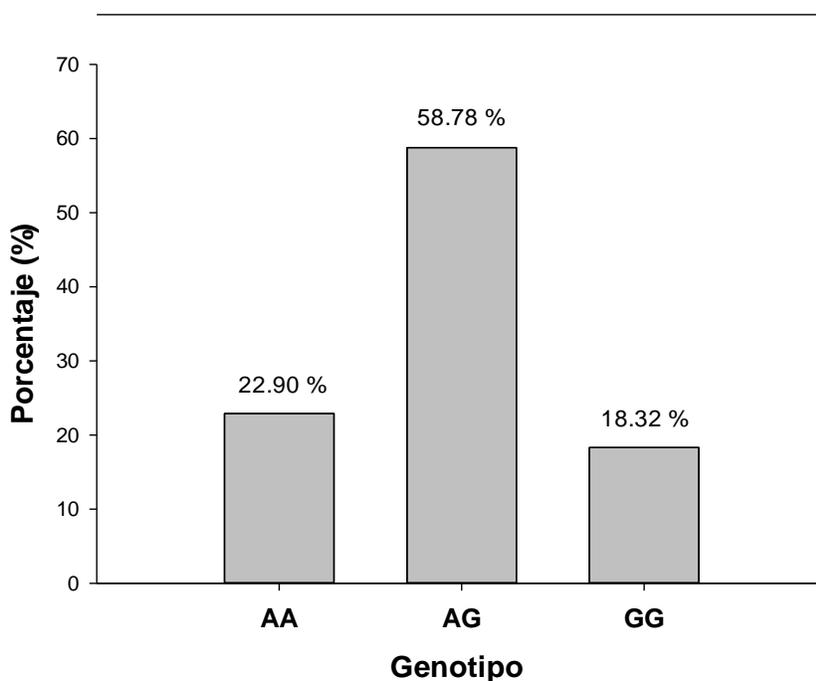


Figura 17. Porcentaje (%) de participantes de la muestra para cada genotipo del rs2180619.

Las frecuencias alélicas fueron: A=137; G=101 (A=57.56 %; G= 42.44 %). Se observaron diferencias en la distribución alélica $\chi^2=4.13$ $p=0.04$ por lo que no se obtuvo el equilibrio de Hardy-Weinberg en esta muestra.

En el análisis de las características sociodemográficas de la muestra (Tabla 1) no se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables medidas en función del genotipo.

Tabla 1. Características sociodemográficas de la muestra

	Genotipos para el rs2180619			Prueba estadística	p
	AA	AG	GG		
Hombres/Mujeres	14/16	36/41	10/14	$\chi^2 = 0.20$	0.90
Edad (años; Media \pm EEM)	22.93 \pm 0.53	22.96 \pm 0.33	23.54 \pm 0.59	F (2,128)= 0.401	0.67
Escolaridad (años; Media + EEM)	16.26 \pm 0.32	15.89 \pm 0.20	15.91 \pm 0.36	F (2,128)= 0.49	0.61
Inventario de Edimburgo [Mediana (Rango)]	95 (55-100)	90.45 (45-100)	90.5 (60-100)	H (2, N=131)= 0.18	0.91
Inventario de Depresión de Beck [Mediana (Rango)]	5 (0-17)	5(0-19)	4.5 (0-18)	H (2, N=131)= 0.25	0.88
Inventario de Ansiedad de Beck [Mediana (Rango)]	5.5(0-22)	4(0-19)	5(0-17)	H (2, N= 131) =1.66	0.44
Subescala de Vocabulario WAIS III (puntuaciones naturales; Media \pm EEM)	40.83 \pm 1.24	41.51 \pm 0.77	44.75 \pm 1.39	F (2,128)= 2.61	0.08

EEM: Error Estándar de la Media; WAIS III: *Subescala de vocabulario* de la Escala de Inteligencia de Weschler para Adultos III.

7.2 EJECUCIÓN DE LA TAREA *n-back*

7.2.1 %RC

Con la finalidad de medir la ejecución de la tarea se analizó el %RC. En este análisis no se observaron diferencias significativas en función del Genotipo (AA, AG, GG) $p=0.45$, pero sí se observaron diferencias significativas en función de la Complejidad (2-back, 3-back) $F(1,128)=27.22$ $p<0.001$ y una interacción significativa entre Genotipo x Complejidad $F(2,128)=4.55$ $p=0.012$, el análisis *post-hoc* mostró que el %RC para 3-back fue menor que 2-back sólo para los sujetos con genotipo AG y GG, pero no para los AA (ver Figura 18).

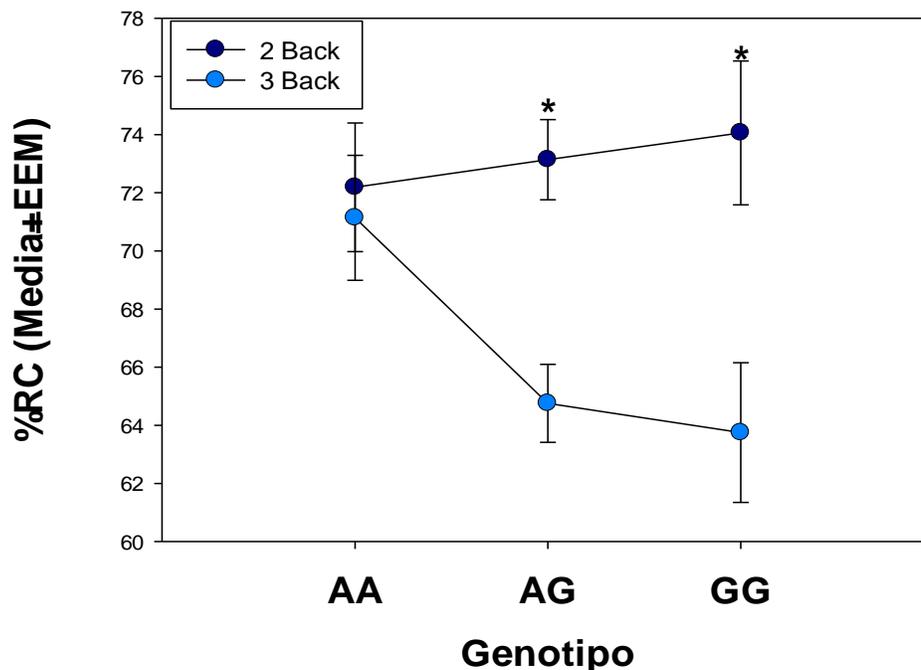


Figura 18. Porcentaje de respuestas correctas (%RC), a los estímulos *target* y *non-target*, en función del Genotipo (AA, AG, GG) y la Complejidad de la tarea (2-back, 3-back). Se muestra en azul oscuro los resultados de la condición 2-back y en azul claro los resultados de la condición 3-back. El * indica interacción significativa entre Genotipo x Complejidad $F(2,128)=4.55$ $p=0.012$.

7.2.2 d'

Se calculó d' con la finalidad medir el índice de discriminación entre los estímulos *target* y *non-target*. Los análisis conductuales de la ejecución de 2 y 3-*back* demostraron que, en d' , no se observaron diferencias por Genotipo (AA, AG, GG) $p=0.87$. Resultó significativo el efecto de Complejidad (2-*back*, 3-*back*) $F(1,128)=95.16$ $p<0.001$ y la interacción Genotipo x Complejidad $F(2,128)= 3.92$ $p=0.02$ (Figura 19); el análisis *post-hoc* mostró que las diferencias significativas se encuentran en la ejecución de 2-*back* y 3-*back* en todos los genotipos.

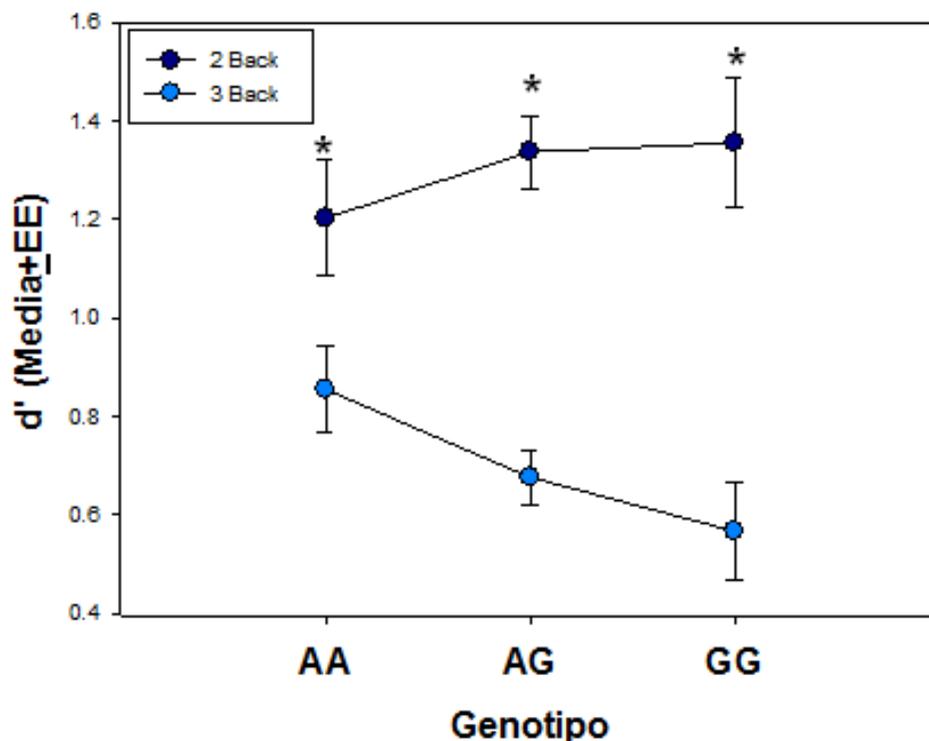


Figura 19. Índice de discriminación (d' ; Media \pm EEM) a los estímulos *target* y *non-target* en función del genotipo (AA, AG, GG) y la complejidad de la tarea (2-*back*, 3-*back*). En azul oscuro los resultados de la condición 2-*back* y en azul claro los resultados de la condición 3-*back*. * Interacción significativa entre Genotipo x Complejidad $F(2,128)= 3.92$ $p=0.02$.

Debido a que gráficamente se observa que las diferencias entre 2 y 3-back son distintas en función del genotipo, se realizó un ANOVA de una vía en el que se consideró como variable independiente el Genotipo (AA, AG, GG) y como variable dependiente la Diferencia de d' entre 2 y 3-back [$d'(2-back - 3-back)$]. Este análisis resultó significativo $F(2,128)= 3.91$ $p=0.02$. La diferencia de d' en la complejidad fue menor en los sujetos AA que en los sujetos GG, mientras que los sujetos AG no difirieron de los otros dos genotipos.

7.2.3 TR

Se midieron los TR con la finalidad de medir el intervalo entre la aparición del estímulo y la emisión de la respuesta de los participantes. No se obtuvieron resultados significativos en función del Genotipo $p= 0.88$, la interacción resultó significativa $p=0.02$, sin embargo, el análisis *post-hoc* mostró que no existían diferencias estadísticamente significativas.

7.2.4 ANÁLISIS SUBSECUENTES

Debido a que no se controló con una medida de laboratorio clínico los niveles hormonales asociados al ciclo menstrual en el que se encontraban las mujeres se realizó un Análisis Multivariado de la Varianza (MANOVA) en el que se consideraron como variables entre grupos Genotipo (AA, AG, GG) y Sexo (hombre, mujer) para d' , %RC y TR.

En d' la variable Sexo no resultó significativa ($p=0.71$); ni en interacción con las otras variables Genotipo x Sexo ($p=0.62$); Genotipo x Sexo x Complejidad ($p=0.50$). Se obtuvieron los mismos efectos de los análisis generales: Genotipo

$p=0.93$; Complejidad $F(1,125)=92.60$ $p<0.001$; Genotipo x Complejidad $F(2, 125)=4.13$ $p=0.018$.

Para el %RC la variable Sexo no resultó significativa ($p=0.20$), ni mostró interacciones con los otros factores Genotipo x Sexo ($p=0.76$); Complejidad x Sexo ($p=0.80$); Genotipo x Sexo x Complejidad ($p=0.57$). De la misma forma que para d' , se conservaron los efectos observados en el análisis original Genotipo ($p=0.48$); Complejidad $F(1,125)=26.75$ $p<0.001$; Genotipo x Complejidad $F(2, 125)=4.71$ $p=0.01$.

Para los TR se mantuvieron los resultados del análisis original: Genotipo ($p=0.99$); Sexo ($p=0.017$); Complejidad ($p=0.046$); Genotipo x Sexo ($p=0.81$); Complejidad x Genotipo ($p=0.03$); Complejidad x Sexo ($p=0.43$); Complejidad x Sexo x Genotipo ($p=0.92$). A pesar de que las variables Sexo y Complejidad, así como, la interacción Complejidad x Genotipo resultaron significativos, el análisis *post-hoc* demostró que no hubo diferencias estadísticas en ninguna de las comparaciones.

Además, como análisis adicional y para observar si la distribución de frecuencias de la fase hormonal de las mujeres podría afectar nuestros resultados, las mujeres fueron clasificadas en una tabla de frecuencias en función del genotipo y la fase del ciclo hormonal en la que se encontraban (ver Tabla 2). La fase se calculó, asumiendo normalidad del ciclo menstrual, a partir del autorreporte de las participantes de las fechas del primer día de su última menstruación y la del primer día de la menstruación posterior a la sesión

experimental se excluyeron 7 mujeres de la muestra inicial (n=71) debido a que no se tenían las fechas de su menstruación para el cálculo, quedando una n=64.

Las mujeres fueron clasificadas en Fase Folicular y Fase Lútea, tomando como inicio de la Fase Lútea el día de ovulación (calculado con base en las fechas referidas; Sloane, 2002). Sin embargo, las participantes en la Fase Folicular fueron reclasificadas en Menstruación (o Fase Folicular Temprana) y Fase Folicular Tardía debido a que se ha reportado que las concentraciones de estradiol son estadísticamente distintas en estas fases (*i.e.* Menstruación= 110±59 pmol/l y Folicular tardía= 324±260 pmol/l; Thim et al., 2014) y se han observado diferencias en la ejecución en la memoria de trabajo comparando estas fases (medido con tareas *n-back*; Joseph et al., 2012). La Fase de Menstruación o Fase Folicular temprana se determinó con una duración de 5 días (día 1 al 5; de acuerdo al promedio observado en la literatura; NWHIC, 2002).

De esta manera, quedaron entonces: Menstruación o Folicular Temprana, Folicular Tardía y Fase Lútea.

Tabla 2. Frecuencias de mujeres por fase hormonal en función del genotipo del rs2180619.

	AA	AG	GG	TOTAL
Menstruación o Fase Folicular Temprana	3	3	2	8
Fase Folicular Tardía	6	15	3	24
Fase Lútea	5	19	8	32
TOTAL	14	37	13	64

Posterior a la clasificación se realizó un análisis de χ^2 para determinar estadísticamente si la distribución de las frecuencias por Fase Hormonal (Menstruación o Folicular Temprana, Folicular Tardía y Fase Lútea) en función del Genotipo (AA, AG, GG) podrían afectar los resultados. No se obtuvieron diferencias significativas entre las frecuencias de mujeres en las diferentes fases en función del genotipo ($p=0.49$).

8. DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que existe una interacción entre el genotipo y la complejidad de la tarea en el %RC y el nivel de discriminación (medido por d'), mientras que para los TR no se encontraron resultados que permitan asociar la velocidad de procesamiento en la memoria de trabajo con el rs2180619.

Se observó que, el %RC para los participantes con genotipo AG y GG, fue menor en *3-back* comparado con *2-back*; mientras que los participantes AA no difirieron en función de la complejidad. Lo anterior sugiere que para los participantes AA el aumento de la complejidad no constituyó un reto a su capacidad para actualizar y manipular información en memoria de trabajo, pero para los sujetos portadores de al menos un alelo G, el aumento en la complejidad de la tarea resultó en una alta demanda evidenciada por la disminución en su eficiencia.

Medido con d' , se observa que al aumentar la complejidad de 2 a *3-back* la eficiencia disminuye en todos los genotipos. Diversos estudios han mostrado este efecto de complejidad (McAllister et al., 2001; Jonides, 1997) por ejemplo, Jonides et al. (1997) demostraron que en sujetos sanos al aumentar la complejidad de la tarea desde *0-back* hasta *3-back* aumentaron los errores significativamente. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, la mayoría de las investigaciones reportan la eficiencia sólo con el %RC (e.g. McAllister et al., 2001; Zhang et al., 2014). Utilizamos d' como medida de eficiencia porque, como ya ha sido referido, resulta un análisis con mayor precisión para evaluar si los sujetos han discriminado entre los estímulos *target* y *non-target* (Haatveit et al., 2010). En este sentido, nuestros resultados son confiables al haber replicado el efecto de

complejidad con este índice (d'), tal como se ha reportado (Haatveitet al., 2010). El análisis de las diferencias entre d' de 2-back y d' de 3-back en función del genotipo mostró que la diferencia es significativamente mayor para los sujetos GG comparados con los AA, lo que permite sugerir que a los sujetos AA les afecta menos el aumento en la dificultad que los sujetos GG.

La disminución de la eficiencia en la memoria de trabajo en situaciones de alta demanda, podría ser explicado por una baja eficiencia en la atención (Awh et al., 2006; Fougny, 2008), ya que se ha observado que la atención y la memoria de trabajo tienen una estrecha relación (Awh et al., 2006; Vogel et al., 2005).

Por ejemplo, en tareas en las que se compara el desempeño de los sujetos cuando deben atender dos características de un solo estímulo (e.g. color y posición del estímulo) o una característica de dos estímulos (e.g. el color del estímulo A y la posición del estímulo B) y se les pregunta, tras un periodo de retraso, acerca de las características presentadas, se ha observado que la precisión de los reportes es mayor cuando se debe atender a dos características de un solo estímulo, comparado con atender una característica en dos estímulos, lo que sugiere la existencia de un límite de la información que puede ser mantenida y atendida simultáneamente (Awh et al., 2001). Lo anterior resulta consistente con nuestros resultados de complejidad, esto es, a mayor número de estímulos por mantener y atender (ante una actualización constante) menor eficiencia (*3-back* contra *2-back*).

Además, se ha propuesto que las diferencias individuales en la memoria de trabajo podrían estar explicadas por la eficiencia en el control atencional, es decir, los sujetos con mayor vulnerabilidad a la distracción o interferencia de información

irrelevante son menos eficientes en memoria de trabajo (Unsworth et al., 2009; Ruiz-Contreras et al., 2014).

En el estudio de Minamoto et al. (2010) clasificaron a sus participantes (con base en una tarea previa) en sujetos con alta y baja capacidad en memoria de trabajo. Posteriormente, resolvieron una tarea de mantenimiento de información con estímulos clave y estímulos distractores. Se observó que los sujetos con baja capacidad tuvieron menor precisión y mayores tiempos de reacción en la resolución de la tarea. Sugiriendo la existencia una relación entre ser vulnerable a la distracción y la baja capacidad en memoria de trabajo. De la misma forma, en el estudio de Vogel et al. (2005) se observó que la capacidad en memoria de trabajo estaba correlacionada con la eficiencia para filtrar información irrelevante, es decir, los sujetos con mayor eficiencia para filtrar información eran más eficientes en la memoria de trabajo.

En pacientes con Trastorno por Déficit de Atención con/sin Hiperactividad (TDA-H), se ha observado una mayor activación (comparados con los sujetos controles) de regiones frontales (las cuales, como se ha revisado previamente, están asociadas con la memoria de trabajo; Baars y Gage, 2010) en tareas 1 y 2-*back*; y se observó mayor activación en la condición 2-*back*; además, de una tendencia no significativa a cometer mayor número de no respuestas (Ehlis et al., 2008). Esto indica que a pesar de que no hay diferencias significativas en la eficiencia de la tarea, los problemas atencionales relacionados con el TDAH también podrían estar modificando la activación cerebral, que es más evidente cuando la demanda es mayor (2-*back*).

En sujetos jóvenes sanos, previamente mostramos que los sujetos con genotipo GG son más susceptibles a distraerse (Ruiz-Contreras et al., 2014). Los resultados de la presente tesis podrían deberse a una diferencia en el control de la atención en los portadores del alelo G (AG y GG) en tareas de memoria de trabajo de alta demanda en la actualización y manipulación de información, evidenciado por la disminución del %RC entre 2 y 3-back.

Cabe destacar que no existieron diferencias en función del genotipo en las características sociodemográficas, señaladas en la Tabla 1, lo que demuestra que estas variables no están explicando las diferencias encontradas en función del genotipo del rs2180619.

Además, los análisis suplementarios en los que se incluyó la variable Sexo, los cuales indicaron que no hubo resultados significativos asociados a esta variable, aunque sí se mantuvieron los efectos observados en los análisis principales (d' , %RC y TR). Estos análisis suplementarios, fueron realizados debido a que en la literatura existen resultados contradictorios sobre si la fase hormonal (para las participantes mujeres) afecta la eficiencia de la memoria de trabajo (Hampson y Morley, 2013) o no lo hace (Joseph et al., 2012). Aún con lo anterior, nuestros resultados son consistentes porque al agregarse la variable Sexo no hubo efectos con ésta ni interacciones con alguna otra variable dependiente. Se agregó además, un análisis de χ^2 que permitió determinar que no existían diferencias en la distribución de frecuencias de la fase hormonal de nuestras participantes en función del genotipo, lo que permite sugerir que en nuestra muestra la variable Sexo (y por ende la fase hormonal en la se encontraban las mujeres), no está modificando los resultados asociados con los genotipos del rs2180619.

El haber obtenido resultados significativos en la presente tesis permite sugerir que las variaciones genéticas, y específicamente las variaciones del rs2180619, son una posible explicación a las diferencias individuales que ya han sido reportadas en memoria de trabajo (Vogel et al., 2005).

Además, los resultados de este estudio aumentan el conocimiento sobre la asociación de los genotipos del rs2180619 con la memoria de trabajo, demostrando que no sólo se asocia con el mantenimiento de información (Ruiz-Contreras et al., 2014) sino también con la actualización y manipulación de información, en situaciones de alta demanda.

Específicamente para el rs2180619, se ha descrito *in silico* (i.e. simulación computacional) que existen diferencias alelo específicas (entre el alelo A y G) en la afinidad a factores de transcripción, sugiriendo que existen diferencias (dependientes del alelo que se porta) en la síntesis de receptor CB1 (Lazary et al., 2009). Previamente, se ha observado que ratones *knock-out* al receptor CB1 (i.e. modificados genéticamente para no expresar este receptor), comparados con ratones silvestres (ratones no modificados genéticamente con expresión del receptor CB1; ratones *wild-type*) son menos eficientes en memoria de trabajo, medido con el laberinto agua de Morris (*ver descripción del laberinto* página 33). Los ratones *knock-out* tienen mayores latencias de escape, rutas más largas para localizar la plataforma de escape y si se cambia la localización de la plataforma regresan más veces a la localización previa que los ratones *wild-type*, es decir, no recuerdan la nueva localización (Varvel y Litchman, 2002); lo que sugiere perseverancia en el mantenimiento de la información. En pacientes esquizofrénicos se ha observado que existen modificaciones en la expresión del

receptor CB1 en el cerebro (Dean et al., 2001) y, paralelamente se ha observado que tienen menor eficiencia en memoria de trabajo comparados con sujetos sanos (Johnson et al., 2006). En conjunto, estos hallazgos sugieren que las modificaciones en la cantidad de CB1 están asociados con los déficits observados con en MT en estos pacientes. Dado lo anterior, es posible hipotetizar que la presencia del alelo G del rs2180619 disminuye la cantidad de receptor CB1 sintetizado y los resultados de esta tesis darían un correlato conductual de esa expresión. Sin embargo, aún no se conoce el efecto funcional de este SNP sobre el receptor.

Esta tesis amplia el conocimiento de la participación del sistema endocannabinoide en la memoria de trabajo en humanos, lo cual resulta lógico dado que el receptor CB1 (codificado por el gen CNR1) se encuentra expresado en regiones involucradas en la memoria de trabajo (ver Figura 3; Burns et al., 2007). Si bien ya ha sido descrito que la memoria de trabajo se afecta con la administración de fármacos agonistas al CB1, tanto en ratas (Silva de Melo et al., 2005) como en humanos (Bossong et al., 2012), con nuestros resultados es posible demostrar que el sistema endocannabinoide está participando en la modulación de la actualización y manipulación de la información de memoria de trabajo, en sujetos sanos y sin estar el bajo efecto de un fármaco.

9. LIMITACIONES Y SUGERENCIAS

Nuestra principal limitante es que no se ha demostrado el efecto fisiológico del rs2180619 en la síntesis del CB1 y se desconoce si modifica la cantidad o las propiedades del CB1. Como se ha mencionado anteriormente, nuestra hipótesis es que la presencia del alelo G disminuye la expresión de la cantidad de receptor, sin embargo, es necesario investigar sobre el efecto fisiológico real de este polimorfismo. Una forma para determinarlo podría ser con el uso de PET y comparar si existen diferencias en la expresión del receptor en el SNC entre los genotipos así como, el estudio de otras posibles implicaciones a nivel conductual.

Otra de las limitaciones de nuestro estudio fue no haber tenido medidas hormonales sobre el momento de fase hormonal, en el que se encontraban las mujeres. Nuestros resultados del análisis general no mostraron diferencias cuando se agregó la variable Sexo, sin embargo, se sugiere que en próximos estudios se evalúe con precisión la fase hormonal de las participantes.

10. CONCLUSIÓN

Nuestros resultados muestran que la eficiencia en las capacidades de actualización y manipulación de información en la memoria de trabajo difieren en función de los alelos del rs2180619 del gen CNR1. Los homocigotos AA tienen la misma eficiencia conductual aún cuando la dificultad de la tarea incrementa, mientras que los sujetos con al menos un alelo G muestran menor eficiencia con el aumento en la complejidad de la tarea.

Además, los resultados de esta tesis demuestran la participación del sistema endocannabinoide en la modulación de la actualización y manipulación de la información en memoria de trabajo en sujetos sanos y sin estar el bajo efecto de un fármaco.

11. REFERENCIAS

- Amador, J. (2013). *Escala de inteligencia de Wechsler para Adultos IV (WAIS-IV)*. España: Universidad de Barcelona.
- Anderson, D., Bell A., & Awh, E. (2011). Polymorphisms in the 5-HTTLPR Gene Mediate Storage Capacity of Visual Working Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 24 (5), 1069–1076.
- Atkinson, R., & Shiffrin, R. (1968). Human memory: A proposed system and its control processes. *The psychology of learning and motivation (Volume 2)*. (pp. 89-195) New York: Academic Press.
- Awh, E., Dhaliwal, H., Christensen, S., & Matsukura, M. (2001). Evidence for two components of object-based selection. *Psychological Science*, 12 (4), 329-334.
- Awh, E., Vogel, E., & Oh, S. (2006). Interactions between attention and working memory. *Neuroscience*, 139, 201-208.
- Baars, B., & Gage, N. (2010). *Cognition, Brain and Consciousness, Introduction to cognitive neurosciences*. Estados Unidos: Elsevier.
- Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: A new component of working memory?. *Trends in Cognitive Sciences*, 4, 417–423.
- Baddeley, A. (2001). Is working memory still working?. *European Psychologist*, 7 (2), 85-97.
- Baddeley, A., & Hitch, G. (1974). Working Memory. *Advances in learning and motivation*, 8, 47-90.
- Baddeley, A. Richard, A., & Hitch, G. (2011) Binding in visual working memory: The role of the episodic buffer. *Neuropsychologia*, 49, 1393-1400.
- Beck, A., Norman, E., & Steer, R. (1988). An Inventory for Measuring Clinical Anxiety: Psychometric Properties. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 56 (6), 893-897.
- Beck, A., Steer, R., & Brown, G. (1996). *Manual for the Beck Depression Inventory-II*. Estados Unidos: Psychological Corporation.
- Blanco-Calvo, E., Rivera, P., Arrabal, S., Vargas, A., Pavón, F., Serrano, A., ..., & Rodríguez de Fonseca, F. (2014). Pharmacological blockade of either cannabinoid CB1 or CB2 receptors prevents both cocaine-induced conditioned locomotion and

- cocaine-induced reduction of cell proliferation in the hippocampus of adult male rat. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7 (106), 1- 13.
- Blankman, J., Simon, G., & Cravatt., B. (2007). A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Chemistry & Biology*, 14, 1347-1356.
- Bor, D., Duncan, J., Wilseman, R. & Owen, A. (2003). Encoding Strategies dissociate prefrontal activity from working memory demand. *Neuron*, 37, 361–367.
- Bossong, M., Jansma, J., van Hell, H., Jager, G., Oudman, E., Saliasi, E., ..., & Ramsey, E. (2012). Effects of δ 9-tetrahydrocannabinol on human working memory function. *Biological Psychiatry*, 71 (8), 693–699.
- Brusco, A., Tagliaferro, P., Saez, T., & Onaivi, E. (2008) Ultrastructural localization of neuronal brain CB2 Cannabinoid Receptors. *Annual N.Y. Academy of Sciences*, 1139, 450-457.
- Burns, D., Laere, K., Sanabria-Bohórquez, S., Hamill, T., Bormans, G., Eng, W., ..., & Hargreaves, R. (2007). [18 F]MK-9470, a positron emission tomography (PET) tracer for in vivo human PET brain imaging of the cannabinoid-1 receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (239), 9800-9805.
- Burrows, M. (1996). Neuromodulatory neurotransmitters and neurohormones. *The neurobiology of an insect brain*. Recuperado de <http://oxfordindex.oup.com/view/10.1093/acprof:oso/9780198523444.003.0005>
- Busquets-García, A., Piufhermanal, E., Pastor, A., De la Torre, R., Maldonado, R., & Ozaita, A. (2011) Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol, in memory and anxiety-like responses. *Biological Psychiatry*, 70 (5), 479-486.
- Cohen, J., Perlstein, W., Braver, T., Nystrom, L., Noll, D., Jonides, J., & Smith, E. (1997). Temporal dynamics of brain activation during a working memory task. *Nature*, 386 (6625), 604-608.
- Corbin, L., & Marquer, J. (2013). Is Sternberg's memory scanning task really a short-term memory task?. *Swiss Journal of Psychology*, 72(4), 181-196.

- Cravatt, B., Prospéro-García, O., Siuzdak, G., Henriksen, S., Boger, D., & Lerner, R. (1995). Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. *Science*, 268 (5216), 1506-1509.
- Dean, B., Sundram, S., Bradbury, R., Scarr, E., & Copolov D. (2001). Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*, 103 (1), 9-15.
- D'Esposito, M., Postle, B., Ballard, D., & Lease, J. (1999). Maintenance versus manipulation of information held in working memory: an event-related fMRI study. *Brain and Cognition*, 41 (1), 66-86.
- Dean, B., Sundram, S., Bradbury, R., Scarr, E., & Copolov, D. (2001). Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*, 103, 9–15.
- Di Marzo V., Melck, D., & Bisogno, T. (1998). Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosciences*, 21, 521–528.
- Di Marzo, V., Bifulco, M., & Petrocellis, L. (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews*, 3 (9), 771–784.
- Dove, A., Rowe, J., Brett, M., & Owen, A. (2001). Neural correlates of passive and active encoding and retrieval: a 3T fMRI study. *Neuroimage*, 13 (Suppl), 660.
- Driesen, N., McCarthy, G., Bhagwagar, Z., Bloch, M., Calhoun, V., D'Souza, D., ..., & Krystal, J. (2013) The Impact of NMDA Receptor Blockade on Human Working Memory-Related Prefrontal Function and Connectivity. *Neuropsychopharmacology*, 38, 2613-2622.
- Egashira, N., Matsuda, T., Koushi, E., Higashihara, F., Mishima, K., Chidori, S., ..., & Fujiwara, M. (2008). Δ^9 -tetrahydrocannabinol prolongs the immobility time in the mouse forced swim test: Involvement of CB₁ receptor and serotonergic system. *European Journal of Pharmacology*, 589 (1-3), 117-12.
- Ehlis, A., Bähne, C., Jacob, C., Herrmann, M., & Fallgatter, A. (2008). Reduced lateral prefrontal activation in adult patients with attention-deficit/hyperactivity disorder

- (ADHD) during a working memory task: A functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) study. *Journal of Psychiatric Research*, 42, 1060- 1067.
- Ellis, K. & Nathan, P. (2001). The pharmacology of the human working memory. *Internacional Journal of Neuropsychopharmacology*, 4, 299-313.
- Fan, J., McCandliss, B., Fossella, J., Flombaum, J., & Posner, M. (2005). The activation of attentional networks. *Neuroimage*, 26 (2), 471-479.
- Fedorova, I., Hashimoto, A., Fecik, M., Hedrick, M., Hanus, L., Boger, D., ..., & Basile, A., (2001). Behavioral evidence for the interaction of Oleamide with Multiple Neurotransmitter Systems. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 229, 332-342.
- Felder, C., Joyce, K., Briley, E., Mansouri, J., Mackie, K., Blond, O., ..., & Mitchel, R. (1995). Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors. *Molecular Pharmacology*, 48, 449-450.
- Fletcher, P. & Henson, R. (2001). Frontal lobes and human memory: insights from functional neuroimaging. *Brain*, 124 (5), 849-881.
- Fougnie, D. (2008). The Relationship between attention and working memory. En *New Research on Short-Term Memory*. (pp. 1-45) Estados Unidos: Nova Science Publishers.
- Fowler, C., Jonsson, K., & Tiger, G. (2001). Fattyacid amide hydrolase: biochemistry, pharmacology, and therapeutic possibilities for an enzyme hydrolyzing anandamide, 2-arachidonoylglycerol, palmitoylethanolamide, and oleamide. *Biochemical Pharmacology*, 62, 517-526.
- Gong, J., Onaivi, E., Ishiguro, H., & Liu, Q. (2006). Cannabinoid CB₂ receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Research*, 1071, 10-23.
- Guzmán, M. (2003). Cannabinoids: Potential anticancer agents. *Nature Reviews Cancer*, 3, 745-755.
- Haatveit, B., Sundet, K., Hugdahl, K., Ueland, T., Melle, I., & Andreassen, O. (2010). The validity of d prime as a working memory index: results from the "Bergen n-back task". *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 8, 871-880.

- Hampson E. & Morley E. (2013). Estradiol concentrations and working memory performance in women of reproductive age. *Psychoneuroendocrinology*, 38 (12), 2897-2890.
- Hensen, J. (2006) *Clocking the mind mental chronometry and individual differences*. Amsterdam: Elsevier.
- Herrera-Solís, A., Vásquez, K., & Prospéro-García, O. (2010). Acute and subchronic administration of anandamide or oleamide increases REM sleep in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 95 (1), 106-112.
- Howlett, A., Qualy, J., & Khachatrian, L. (1986). Involvement of Gi in the inhibition of adenylatecyclase by cannabimimetic drugs. *Molecular Pharmacology*, 29, 307–313.
- Hoyle, G. (1985). *Neuromodulatory neurotransmitters and neurohormones*. Estados Unidos: Neurobiology.
- Jonides, J., Schumacher, E., Smith, E., Koeppe, R., Reuter-Lorenz, P., ..., & Willis, C. (1998). The Role of Parietal Cortex in Verbal Working Memory. *The Journal of Neuroscience*, 18 (13), 5026-5034.
- Jonides, J., Schumacher, E., Smith, E., Lauber, E., Minoshima, S., & Koeppe, R. (1997). Verbal working memory load affects regional brain activation as measured by PET. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 9 (4), 462-475.
- Johnson, M., Morris, N., Astur, R., Calhoun, V., Mathalon, D., Kiehl, K., & Pearlson, G., (2006). A functional magnetic resonance imaging study of working memory abnormalities in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 60 (1), 11-21.
- Joseph, J., Swearingen, J., Corbly, C., Curry, T., & Kelly, T., (2012) Influence of estradiol on functional brain organization for working memory. *Neuroimage*, 59 (3), 2923-2931.
- Kandel, E., Schwartz, J., & Jessell, T. (2013). *Principles of neural science*. New York: McGraw-Hill.
- Klug, W., Cummings, M., & Spencer, C. (2006). *Conceptos de genética*. España: Pearson Educacion; Prentice Hall.
- Lachman, H., Papolos, D., Saito, T., Yu, Y., Szumlanski, C., & Weinshilboum, R. (1996). Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a

- functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics*, 6 (3), 243-250.
- Lambert, D. & Di Marzo, V. (1999). The palmitoylethanolamide and oleamide enigmas: are these two fatty acid amides cannabimimetic?. *Current Medicinal Chemistry*, 6 (8), 757-773.
- Lazary, J., Lazary, A., Gonda, X., Benko, A., Molnar, E., Hunyady, L., ..., & Bagdy, G. (2009). Promoter variants of the cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) in interaction with 5-HTTLPR affect the anxious phenotype. *American Journal of Medical genetics, Part B*, 150B (8), 1118-1127.
- Maejima, T., Hashimoto, K., Yoshida, T., Aiba, A., & Kano, M. (2001). Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. *Neuron*, 31(3), 463-475.
- Martínez-González, D., Bonilla-Jaime, H., Morales-Otal, A., Henriksen, S., Velázquez-Moctezuma, J., & Prospéro-García, O. (2004). Oleamide and anandamide effects on food intake and sexual behavior of rats. *Neuroscience Letters*, 364 (1), 1-6.
- Matesú, F., Ríos, M., & Cabestrero, R. (2008). *Neuroimagen, Técnicas y procesos cognitivos*. España: Elsevier.
- Matsuda, L., Lolait, S., Brownstein, M., Young, A., & Bonner, T. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Letters of Nature*, 346, 561-564.
- Mattay, V., Tessitore, A., Callicott, J., Bertolino, A., Goldberg, T., Chase, T., ..., & Weinberger, D. (2002). Dopaminergic modulation of cortical function in patients with Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 51 (2), 152-164.
- McAllister, T., Sparling, M., Flashman, L., Guerin, S., Mamourian, A., & Saykin, A. (2001). Differential working memory load effects after mild traumatic brain injury. *Neuroimage*, 14 (5), 1004-1012.
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., & Kaminski, N. (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*, 50 (1), 83-90.

- Melo, L., Lima, C., & Nakamuri-Palacios, E. (2011). Clozapine and SCH 23390 prevent the spatial working memory disruption induced by Δ^9 -THC administration into the medial prefrontal cortex. *Brain Research*, 1382, 230-237.
- Minamoto, T., Osaka, M., & Osaka, N. (2010). Individual differences in working memory capacity and distractor processing: possible contribution of top-down inhibitory control. *Brain Research*, 1335, 63-73.
- Mueller, G. & Driscoll, W. (2009). Biosynthesis of oleamide. *Vitamins and hormones*, 81, 55-78.
- Munro, S., Thomas, K., & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365 (6441), 61-65.
- Nakamura, M., Ueno, S., Sano, A., & Tanabe, H. (2000). The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. *Molecular Psychiatry*, 1 (5), 32-38.
- National Women's Health Information Center, NWHIC (2002). *Menstruation and the Menstrual Cycle*. Recuperado de <http://web.archive.org/web/20061111002722/http://www.4woman.gov/faq/menstru.pdf>.
- NCBI (2005). *National Center for Biotechnology Information: SNP Class Definitions*. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK44488/>.
- NCBI (s.f.). *National Center for Biotechnology Information*. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1268>
- Nuñez, E., Benito, C., Pazos, R., Barbachano, A., Fajardo, O., González, S., ..., & Romero, J. (2004). Cannabinoid CB2 Receptors are expressed by perivascular microglial cells in the human brain: An immunohistochemical Study. *Synapse*, 53, 208-213.
- Ogawa, S. & Sung, Y. (2011). *Functional magnetic resonance imaging*. Recuperado de http://www.scholarpedia.org/article/Functional_magnetic_resonance_imaging
- Oldfield, R. (1971). The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 9 (1), 97-113.
- Olinger, J. & Fessler, J. (1997). Positron Emission Tomography. *Signal Processing Magazine*, 14 (1), 43-55.

- Owen, A., McMillan, K., Laird, A., & Bullmore, E. (2005). N-Back Working Memory Paradigm: A Meta-Analysis of Normative Functional Neuroimaging Studies. *Human Brain Mapping, 25*, 46–59.
- Pertwee, R. (1999). The pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands: an overview. *International Journal of Obesity, 30*, S13–S18.
- Pinel, J. (2007). *Biopsicología*. España: Pearson, Addison Wesley.
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews Neuroscience, 4* (11), 873–884.
- Pistis, M., Ferraro, L., Flore, G., Tanganelli, S., Gessa, L., & Devoto, P. (2002). D-Tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Research, 948*, 155–158.
- Raichle, M. (1980). *Positron-Emission Tomography*. Estados Unidos: Brain Metastasis.
- Ramos, B., Colgan, L., Nou, E., & Arnsten, A. (2008). Beta2 adrenergic agonist, clenbuterol, enhances working memory performance in aging animals. *Neurobiology of Aging, 29* (7), 1060-1069.
- Reyes-Prieto, N., Romano-López, A., Pérez-Morales, M., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A., & Prospéro-García, O. (2012). Oleamide restores sleep in adult rats that were subjected to maternal separation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior, 103* (2), 308-312.
- Riethoven, J. (2010). Regulatory regions in DNA: promoters, enhancers, silencers, and insulators. *Methods in Molecular Biology, 674*, 33-42.
- Romano-López, A., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A., Carriosa, R., & Prospéro-García, O. (2012). Maternal separation and proclivity for ethanol intake: a potential role of the endocannabinoid system in rats. *Neuroscience, 25* (223), 296-304.
- Ruiz-Contreras A., Carrillo-Sánchez K., Barrera-Tlapa, M., Ortega-Mora I., Román-López, T., Rosas-Escobar, C., ..., & Prospéro-García, O. (2014). Performance in working memory and attentional control is associated with the rs2180619 SNP in the CNR1 gene. *Genes, Brain and Behavior, 13* (2), 173-178.
- Ruiz-Contreras, A., Carrillo-Sánchez, K., Gómez-López, N., Vadillo-Ortega, F., Hernández-Morales, S., Carnevale-Cantoni, A., ..., & Prospéro-García, O. (2013).

- Working memory performance in young adults is associated to the AATn polymorphism of the CNR1 gene. *Behavioural Brain Research*, 236, 62-66.
- Ruiz-Contreras, A., Delgado-Herrera, M., García-Vaca, P., Almeida-Rosas G., Soria-Rodríguez, G., Soriano-Bautista, A., ..., & Prospéro-García, O. (2011). Involvement of the AATn polymorphism of the CNR1 gene in the efficiency of procedural learning in humans. *Neuroscience Letters*, 494 (3), 202-206.
- Scitable, Nature Education (2013). *Hardy-Weinberg equilibrium*. Recuperado de <http://www.nature.com/scitable/definition/hardy-weinberg-equilibrium-122>.
- Silva de Melo, L., Cruz, A., Rios-Valentim, S., Marinho, A., Mendonça, J., & Nakamura-Palacios, E. (2005). Delta(9)-THC administered into the medial prefrontal cortex disrupts the spatial working memory. *Psychopharmacology*, 183 (1), 54–64.
- Sloane, E. (2002). *Biology of woman* 4ta. Edición. Estados Unidos: DELMAR Thompson Learning.
- Smith, E. & Kosslyn, S. (2008). *Procesos cognitivos: modelos y bases neurales*. Madrid: Pearson/Prentice Hall.
- Smith, E., Jonides J., & Koeppe, R. (1996). Dissociating Verbal and Spatial Working Memory Using PET. *Cerebral Cortex*, 6, 11-20.
- Solowij, N. & Pesa, N. (2010). Cognitive abnormalities and cannabis use. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32, Sup. 1.
- Stanislaw, H. & Todorov, N. (1999). Calculation of signal detection theory measures. *Behavior Research Methods, Instruments & Computers*, 31 (1), 137-149.
- Steer, R., David J., Rissmiller, D., & Beck, A. (2000). Use of the Beck Depression Inventory-II with depressed geriatric inpatients. *Behaviour Research and Therapy*, 38, 311-318.
- Sternberg, R. (2011). *Psicología Cognoscitiva*. México, D.F: Cengage Learning.
- Sternberg, S. (1966). High-speed scanning in human memory. *Science*, 153, 652-654.
- Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., ..., & Waku, K. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: A possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 215 (1), 89-97.
- Svízenská, I., Dubový, P., & Sulcová, A. (2008). Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system

- structures a short review. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 90 (4), 501–511.
- Thim, M., Weis, S., Hausmann, M., & Surm, W. (2014). Menstrual cycle effects on selective attention and its underlying cortical networks. *Neuroscience*, 31 (258), 307-17.
- Tiwari, A., Zai, C., Likhodi, O., Voineskos, A., Meltzer, H., Lieberman, J., ..., & Kennedy, J. (2012). Association study of cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene in tardive dyskinesia. *Pharmacogenomics Journal*, 12 (3), 260-266.
- Tulsky, D. & Zhu, J. (2003) *Escala Weschler de Inteligencia para Adultos III: Manual Técnico*. México: Manual Moderno.
- United Nations Office for Drug Control (2012). *World Drug Report 2012*. Vienna: UNDOC.
- Unsworth, N., Spillers, G., & Brewer, G. (2009). Examining the relations among working memory capacity, attention control, and fluid intelligence from a dual-component framework. *Psychology Science Quarterly*, 51 (4), 388-402.
- Varvel, S. & Litchman, H. (2002). Evaluation of CB1 Receptor Knockout Mice in the Morris Water Maze. *The Journal of the Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301, 915–924.
- Veltman, D., Rombouts, S., & Dolan, R. (2003). Maintenance versus manipulation in verbal working memory revisited: an fMRI study. *Neuroimage*, 18 (2): 247-256.
- Vogel, E., McCollough, A., & Machizama, M. (2005). Neural measures reveal individual differences in controlling access to working memory. *Nature*, 438 (24), 5000-5003.
- Wang, X. Tomso, D., Liu, X., & Bell D. (2005). Single nucleotide polymorphism in transcriptional regulatory region and expression of environmentally responsive genes. *Toxicology an Applied pharmacology*, 207, 84-90.
- Wechsler, D. (2003). *Escala Weschler de Inteligencia para Adultos III*. México: Manual Moderno.
- Wei, X., Yang, J., Dong, Y., & Wu C. (2007). Anxiolytic-like effects of oleamide in group-housed and socially isolated mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 6, 1189-1195.

- Wise, L., Long, K., Abdullah, R., Long, J., Cravatt, B., & Lichtman, A. (2012). Dual fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase blockade produces THC-like Morris water maze deficits in mice. *ACS Chemical Neuroscience*, 3 (5), 369-378.
- Wong, D., Kuwabara, H., Horti, A., Raymond, V., Brasic, J., Guevara, M., ..., & Cascella, N. (2010). Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [11C]OMAR. *Neuroimage*, 52 (4), 1505–1513.
- Xi, Z., Peng, X., Li, X., Song, R., Zhang, H., et al., & Gardner, E. (2011). Brain cannabinoid CB₂ receptors modulate cocaine's actions in mice. *Nature Neuroscience*, 14 (9), 1160-1166.
- Zhang, P-W, Ishiguro, H., Ohtsuki, T., Hess, J., Carillo, F., Walther, D., ..., & Uhl G. (2004). Human cannabinoid receptor 1: 50 exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. *Molecular Psychiatry*, 9, 916–931.
- Zhou, X., Qi, X., Douglas, K., Palaninathan, K., Sug Kang, H., Buccafusco, J., ..., & Constantinidis, C. (2011). Cholinergic modulation of working memory activity in primate prefrontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, 106, 2180-2188.

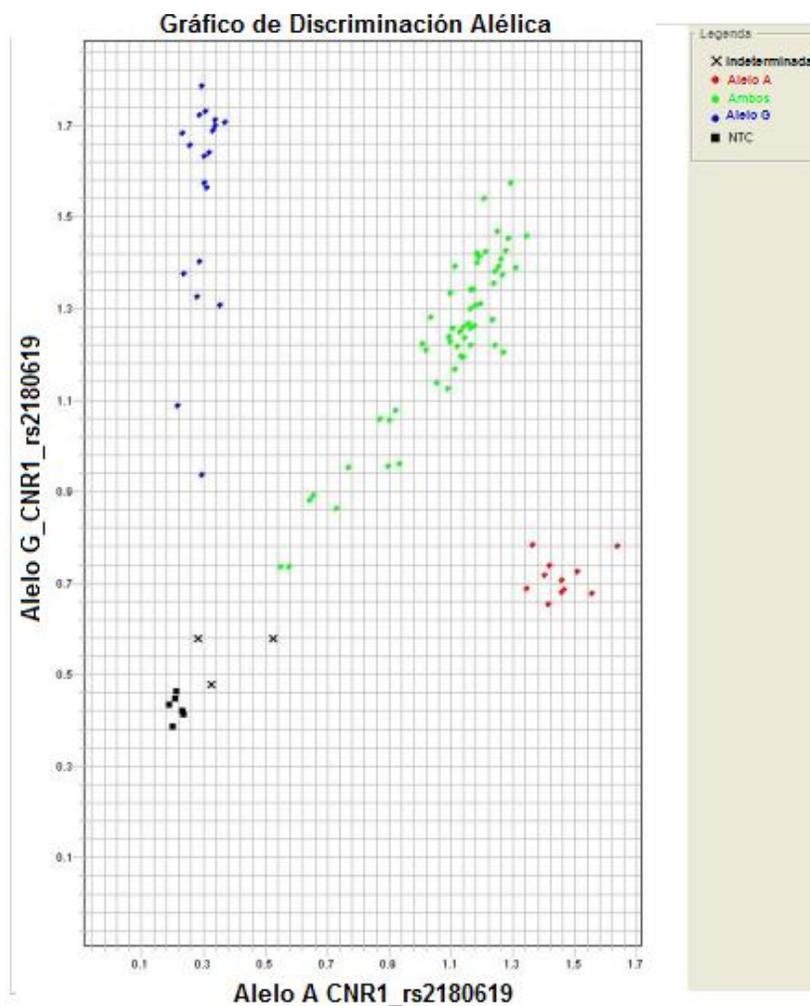


Figura 20. Ejemplo de gráfico obtenido en la discriminación alélica para el rs2180619. En el eje de las abscisas se muestra la fluorescencia detectada por el software para el alelo A y en eje de las ordenadas la fluorescencia detectada para el alelo G. Los puntos rojos indican sujetos homocigotos para el alelo A (AA), en verde sujetos heterocigotos (AG) y los puntos azules indican los sujetos homocigotos para el alelo G (GG). Los cuadros negros son los controles negativos (sin muestra de ADN) y las cruces, las muestras que no pudieron ser identificadas por el software, probablemente por problemas en el manejo de las muestras (estas muestras se analizaron nuevamente).