



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

Asociación del polimorfismo rs2180619 ubicado en una región promotora del gen CNR1 y la eficiencia en memoria episódica

TESIS

Que para obtener el título de:

Licenciada en Psicología

Presenta:

Lorena Yazmín Flores Barrera

Directora de Tesis:

Dra. Alejandra Evelyn Ruiz Contreras

Revisora de Tesis:

Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez

Sinodales:

Dr. Óscar Zamora Arévalo

Dr. Hugo Sánchez Castillo

Dr. Octavio César García González



México, Distrito Federal

Ciudad Universitaria, 2015



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 Evelyn Ruiz Contreras, en la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Autónoma de México, con el financiamiento al proyecto CONACyT 176196.

Agradecimientos

A mis padres por confiar en mí y apoyar todas mis decisiones. Por todo el cariño que siempre he recibido de ustedes, por enseñarme a enfrentar los obstáculos con alegría.

Agradezco a la Dra. Alejandra Ruiz por brindarme la oportunidad de trabajar a su lado y de adquirir nuevos conocimientos. Por sus apreciados y relevantes aportes, críticas, comentarios y sugerencias durante la realización de esta tesis y por todo el apoyo y la confianza que deposito en mí.

A la Dra, Martha Escobar, al Dr. Óscar Zamora, al Dr. Hugo Sánchez y al Dr. Octavio García, por sus comentarios y sugerencias que ayudaron a enriquecer este trabajo.

A mi familia por apoyarme durante toda mi vida, por todas sus charlas y comentarios sobre mi trabajo. Por escucharme cuando lo necesité. Gracias por su amor.

A Sus, por todo tu apoyo y tus enseñanzas, siempre has estado animándome para seguir adelante y no abandonar mis proyectos. Gracias por tu paciencia y por compartir conmigo tus conocimientos.

A Miriam, porque eres más que una amiga, eres mi hermana. Gracias por ser mi confidente.

A mis amigos del laboratorio de Neurogenómica Cognitiva, Cintia, Talía, Miguel, Ulises, Ivett y Antonio por el tiempo que dedicaron a ayudarme. Aprendí mucho de ustedes tanto en lo académico como en lo personal. Gracias por todo su apoyo y por su amistad sincera.

A mi hermosa Universidad Nacional Autónoma de México porque ha sido una segunda casa. Agradezco el apoyo que he recibido de esta universidad y por las lecciones que aprendí en ella. Es un orgullo pertenecer a esta casa de estudios.

A la Facultad de Psicología que con mucho orgullo, amor y respeto representaré.

A todas aquellas personas que, aunque no están escritos sus nombres en este papel, han contribuido en la realización del presente trabajo. Gracias por esas pláticas interminables sobre mi trabajo y por las palabras de apoyo.

A todos ellos, muchas gracias.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	8
2. ANTECEDENTES.....	9
2.1. MEMORIA.....	9
2.2. NEUROFISIOLOGÍA DE LA MEMORIA EPISÓDICA.....	13
2.3. NEUROQUÍMICA DE LA MEMORIA EPISÓDICA.....	17
2.4. SISTEMA ENDOCANNABINOIDE.....	26
2.5. GEN CNR1.....	31
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	39
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	40
5. HIPÓTESIS.....	40
6. OBJETIVO.....	40
7. MÉTODO.....	41
7.1. PARTICIPANTES.....	41
7.2. TIPO DE MUESTREO.....	42
7.3. INSTRUMENTOS.....	42
7.4. MATERIALES.....	46
7.5. APARATOS.....	46
7.6. ESTÍMULOS.....	46
7.6.1. TAREA DE MEMORIA EPISÓDICA.....	47
7.6.1.1. FASE DE CODIFICACIÓN.....	48
7.6.1.2. FASE DE RECONOCIMIENTO.....	49
7.7. PROCEDIMIENTO.....	49

7.8. GENOTIPIFICACIÓN	50
7.9. ANÁLISIS DE DATOS	51
8. RESULTADOS	53
9. DISCUSIÓN.....	60
10. LIMITACIONES Y SUGERENCIAS.....	63
11. CONCLUSIÓN	64
12. REFERENCIAS.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
Δ 9-THC	Δ 9-Tetrahidrocannabinol
%RC	Porcentaje de Respuestas Correctas
%RI	Porcentaje de Respuestas Incorrectas
2-AG	2-Araquidonilglicerol
5-HT2A	Receptor a serotonina 2 A
5-HTTLPR	Polimorfismo del gen del transportador de serotonina
A	Adenina
ACh	Acetilcolina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AEA	N-Araquidonil-etanolamina
AMPA	Receptor a glutamato Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
AMPc	Adeninmonofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de Varianza
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
C	Citosina
CB1	Receptor a cannabinoides 1
CB2	Receptor a cannabinoides 2
CBN	Cannabinol
CBD	Cannabidiol
CNR1	Gen que codifica para el receptor a cannabinoides 1
COMT	Catecol-O-metiltransferasa
CPF DL	Corteza Prefrontal Dorsolateral
CPF VL	Corteza Prefrontal Ventrolateral
<i>d'</i>	<i>d</i> prima
DA	Dopamina
DAG	Diacilglicerol
DSM IV-R	Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, Cuarta edición Revisada
FAAH	Hidrolasa de ácidos grasos amidados
G	Guanina
GABA	Ácido gamma-amino butírico
HVLT	<i>Hopkins Verbal Learning Test</i>
HDS	Honestly Significant Difference
Hys	Histidina
iR	Receptor ionotrópico
L	Alelo Largo: <i>Long</i>

LTM	Lóbulo temporal medial
PHW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
MAGL	Monoacilglicerol lipasa
mAMPH	Metanfetamina
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos
ms	milisegundos
MT	Memoria de trabajo
mR	Receptor metabotrópico
Met	Metionina
NADA	N-Araquidonoil-dopamina
NAPE	N-Arquidonil-fosfatidiletanolamina Fosfolipasa D selectiva para
NAPEPLD	NAPE
NMDA	Receptor a glutamato N-metil-D-aspartato
NT	Neurotransmisor
p	Probabilidad
PA	Ácido fosfatídico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PKA	Proteína quinasa A
PI	Fosfoinosítido
PI-PLC	Fosfolipasa C para PI
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
RLFP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
S	Alelo Corto: <i>Short</i>
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
T	Timina
TR	Tiempo de Reacción
<i>Tyr</i>	Tirosina
<i>Val</i>	Valina
VNTR	<i>Variable Number Tandem Repeat</i>
WAIS-R	Escala de Inteligencia de Wechsler para Adultos Revisada

1. RESUMEN

La memoria episódica permite almacenar y recuperar información que está insertada en un contexto temporal y espacial. Se ha documentado la asociación de variaciones genéticas con variaciones cognitivas fenotípicas; diversos polimorfismos se han asociado a diferencias individuales en la eficiencia cognitiva. Particularmente, en nuestro laboratorio hemos demostrado la asociación de polimorfismos del gen *CNR1*, que codifica para el receptor a cannabinoides 1, con memoria de trabajo y atención. El receptor CB1 se expresa en diversas áreas del cerebro, incluyendo el hipocampo, región asociada con la memoria. Un polimorfismo ubicado en una región promotora del gen *CNR1* es el rs2180619 (A>G), el alelo G de este polimorfismo se ha relacionado con una mayor ansiedad, abuso de poli-sustancias y menor eficiencia en memoria de trabajo. El objetivo del presente trabajo fue determinar si este polimorfismo está relacionado con el rendimiento en la eficiencia en la codificación y el reconocimiento de palabras de significado concreto vs. abstracto en humanos, mediante una tarea de reconocimiento. Los resultados muestran que los participantes AA y AG respondieron más rápido a las palabras concretas vs. abstractas en la fase de codificación, mientras que los participantes GG no mostraron diferencias en la velocidad de procesamiento. En la fase de reconocimiento no se encontraron diferencias en la eficiencia entre los genotipos. Estos resultados sugieren que el polimorfismo no se asocia con el reconocimiento, pero sí con la codificación, lo que sugiere que el receptor CB1 está más involucrado en el procesamiento semántico más que en el episódico.

2. ANTECEDENTES

La memoria es una función cognitiva que permite tanto almacenar información por periodos (entre segundos y años), así como su recuperación; por ejemplo, almacenamos y recuperamos números telefónicos, la fecha de algún hecho histórico o alguna reunión con los amigos. Algunos de los episodios de la vida se recuerdan tan bien que podemos recuperarlos con gran detalle, incluso después de haber transcurrido un tiempo considerable.

2.1 MEMORIA

La memoria es el proceso por el que la información del mundo es codificada, almacenada y posteriormente recuperada (Kandel, Kupfermann & Iversen, 2000). La memoria es imprescindible para la vida cotidiana; la información que se almacena puede recuperarse en periodos variables, que van desde segundos, hasta días o años (Dickerson & Eichenbaum, 2010). Una idea importante acerca de la memoria es que no es una facultad uniforme; se compone de múltiples sistemas que tienen diferentes principios de funcionamiento y diferente neuroanatomía, pero que trabajan paralelamente para apoyar el comportamiento; entonces podemos clasificarla en memoria declarativa y no declarativa (Squire, 2004, 2009). La distinción principal se halla entre la capacidad de los recuerdos conscientes sobre hechos y sucesos (memoria declarativa o explícita), en contraste con diferentes capacidades no conscientes (memoria no declarativa), que apoyan el aprendizaje asociativo, hábitos, el condicionamiento clásico y operante, la habituación y la sensibilización (Squire & Knowlton, 1995). Dentro de

la memoria declarativa, Squire y Zola (1996) hicieron una diferencia en función del tipo de la información: hechos generales frente a eventos personales, esta última es conocida como memoria episódica, la cual se abordará en la presente tesis.

La memoria semántica se apoya de una extensa red de regiones del cerebro, entre las que podemos mencionar, los lóbulos temporales, la corteza prefrontal y la corteza parietal inferior (Binder & Desai, 2011).

Endel Tulving (1972) fue quien acuñó el término de memoria episódica o autobiográfica, la cual se ocupa de recordar acontecimientos especiales o episodios que sucedieron en nuestro pasado personal, estos recuerdos suelen contener información detallada sobre el evento en sí, es decir, información sobre el ambiente en el momento de la codificación y recuperación y sobre aspectos temporales y espaciales (Tulving & Markowitsch, 1998; Dickerson & Eichenbaum, 2010). En contraste, la memoria semántica involucra la adquisición y el uso del conocimiento del mundo (Salwiczek, Watanabe & Clayton, 2010). Entonces, la capacidad para describir los detalles de una reunión navideña reciente o una reunión de oficina que tuvo lugar en las últimas semanas o meses, por ejemplo, depende en gran medida de la función de las áreas cerebrales involucradas en el procesamiento de la memoria episódica (Ver adelante; Dickerson & Eichenbaum, 2010).

La memoria episódica se investiga con diversas tareas en las que los participantes deben recuperar la información codificada en una fase anterior, a través de diferentes estrategias como recuerdo libre, recuerdo con clave, recuerdo

serial y reconocimiento. A continuación se describe brevemente en qué consisten cada una:

- **Recuerdo libre.** Se solicita al participante recordar el mayor número de estímulos presentados anteriormente sin importar el orden (Savage et al., 2000).
- **Recuerdo con clave.** Se pide recordar información parcial acerca de estímulos presentados anteriormente (Unsworth, Brewer & Spille, 2011).
- **Recuerdo serial.** Se solicita recordar los estímulos en el orden presentado o de manera inversa (Bhatarah, Ward, Smith & Hayes, 2009; St Clair-Thompson & Allen, 2013).
- **Reconocimiento.** Se pide discriminar entre estímulos estudiados previamente y estímulos nuevos (Marzi & Viggiano, 2010).

Una variable que se puede manipular en estas tareas es el nivel de procesamiento o codificación, el cual se divide en profundo y superficial; los niveles más profundos de procesamiento involucran la extracción del significado de los estímulos por ejemplo, si una palabra es concreta vs. abstracta, mientras que el procesamiento superficial se enfoca en la codificación de características físicas de los estímulos como por ejemplo, orientación, color y tamaño (Marzi & Viggiano, 2010; Gallo, Meadow, Johnson & Foster, 2008). Una gran parte de la investigación ha demostrado que el reconocimiento de estímulos depende del nivel de codificación, mientras más profundo sea el procesamiento, el trazo en la memoria es más robusto y existe mayor probabilidad de recordar el estímulo en

comparación con un procesamiento superficial (Craik, 2002, Marzi & Viggiano, 2010, Schott et al., 2013).

Para estudiar los procesos de la memoria durante la codificación, que dan lugar a la recuperación exitosa de los elementos codificados, se registra la actividad generada durante la codificación y se contrasta en función de si el elemento es recuperado exitosamente o no en una prueba posterior de memoria. A estas diferencias se le ha denominado efecto subsecuente de memoria. Por ejemplo, en función del tiempo de reacción (TR) obtenido durante la fase de codificación se puede predecir si un estímulo será o no recuperado después (Otten, Henson & Rugg, 2001, Long, Burke & Kahana, 2014). En el presente trabajo se analizó este efecto.

Una teoría conocida como teoría de codificación dual sugiere que la velocidad de procesamiento puede diferir entre palabras concretas vs. abstractas. Esta teoría propone la existencia de dos sistemas de procesamiento de la información: el sistema visual y el sistema no-visual (sistema verbal), entonces, palabras concretas pueden representarse en ambos sistemas, mientras que palabras abstractas solo pueden representarse en el sistema verbal (Paivio, 1986 citado en Van Hell & De Groot, 1998).

De igual manera, existe evidencia que indica que los estímulos presentados al principio (efecto de primacia) y al final (efecto de recencia) de una serie de estímulos, se recordarán más que los que se encuentran en medio (Dewar, Brown & Della Sala, 2011, Martín et al., 2013). Se plantea que esto se debe a que los

primeros elementos se transfieren al almacén de memoria a largo plazo, mientras que los últimos elementos todavía se mantienen en el almacén a corto plazo, por eso es más fácil recuperarlos (Bjork & Whitten, 1974).

En el presente trabajo utilizaremos una tarea de reconocimiento con codificación profunda para evaluar la memoria episódica.

2.2 NEUROFISIOLOGÍA DE LA MEMORIA EPISÓDICA

Diversos estudios de neuroimagen han identificado una red de regiones asociadas a la memoria episódica que incluyen áreas de la corteza prefrontal, la corteza parietal, regiones del lóbulo temporal medial (LTM), incluyendo las áreas parahipocampales y del hipocampo (Cabeza & Nyberg, 2000; Murray & Ranganath, 2007; Kirwan & Stark, 2004; Dickerson & Eichenbaum, 2010).

La corteza prefrontal ha sido asociada principalmente a funciones como organización, monitorización y recuperación de información (MacLeod, Buckner, Miezin, Petersen & Raichle, 1998; Paller & Wagner, 2002). Existe evidencia de la contribución de la corteza prefrontal para la codificación, específicamente a la corteza prefrontal ventrolateral (CPFVL), a quien se le ha atribuido la selección y mantenimiento de la información entrante, mientras que a la corteza prefrontal dorsolateral (CPFDL), la organización y la codificación asociativa; durante la recuperación se ha asociado a la CPFDL el seguimiento (*i.e.*, decidir si un recuerdo es un indicio de algo que realmente nos sucedió o es un recuerdo de un acontecimiento imaginado) y con la verificación (*i.e.*, la información recuperada se compara con criterios de recuperación específicos y si se cumplen estos criterios,

la información estará disponible) (Simons & Spiers, 2003). Ranganath, Johnson & D'Esposito (2003) realizaron un estudio utilizando la técnica de imagen de resonancia magnética funcional relacionada a eventos, con el fin de identificar patrones de actividad prefrontal durante la realización de una tarea de reconocimiento, la cual consistía en la presentación de dos bloques, uno de codificación y otro de reconocimiento. En el bloque de codificación al participante se le presenta una serie de rostros a través de una pantalla y se le da la indicación de prestar atención a las imágenes, en el bloque de reconocimiento, se presenta otra serie de rostros, en donde se muestran rostros del bloque anterior y rostros nuevos, el participante tiene que indicar si el rostro se presentó en la fase anterior o no. Los resultados mostraron la activación de la corteza prefrontal dorsolateral bilateralmente (CPF DL) y el giro frontal inferior bilateralmente tanto en la fase de codificación como en la de reconocimiento (Ranganath et al., 2003). Otro estudio realizado con ratas con lesión en la corteza prefrontal medial examinó la función de esta región en la memoria de reconocimiento a través de una tarea de reconocimiento de olores; la lesión provocó un déficit en el reconocimiento en comparación con el grupo control (Farovik, Dupont, Arce & Eichenbaum, 2008). Esta región en la rata ha sido homologada con la CPF DL en los primates, lo cual nos puede sugerir que esta región podría estar implicada en el reconocimiento de olores en humanos (Uylings, Groenewegen & Kolb, 2003). En un estudio realizado por Nyberg et al. (2003) en el que se evaluó la activación de diferentes regiones del lóbulo frontal durante la realización de una tarea de recuerdo con clave y de reconocimiento a través de una técnica llamada Tomografía por Emisión de

Positrones (PET, por sus siglas en inglés)¹, se observó la activación de cuatro regiones de la corteza prefrontal: la corteza prefrontal dorsolateral media izquierda, la corteza frontopolar izquierda, la corteza ventrolateral media izquierda y la corteza cingulada anterior dorsal. La evidencia presentada nos sugiere que existe una red frontal que está participando de manera consistente en procesos de la memoria episódica, tanto en la codificación como en la recuperación de la información.

La corteza temporal es una región que está implicada en procesos como la atención (Baluch & Itti, 2011), la codificación (Gottlieb, Uncapher & Rugg, 2010) y la recuperación de la información (Haramati, Soroker & Dudai, 2008; Kim, Daselaar & Cabeza, 2010). Algunos estudios neuropsicológicos demuestran que los pacientes con lesiones del lóbulo temporal medial suelen ser deficientes en tareas que involucran memoria episódica. Por ejemplo, Yonelinas et al. (2002) realizaron un estudio evaluando la memoria episódica a través de una tarea de recuerdo libre y de reconocimiento en tres grupos diferentes; un grupo control, un grupo de pacientes hipóxicos² (H) y un tercer grupo con daño de lóbulo temporal que incluía regiones como el hipocampo y la corteza parahipocampal (H+), los resultados indican que el grupo H muestra deficiencias en el recuerdo pero no en la familiaridad, el grupo H+ mostró déficit tanto en el recuerdo como en la familiaridad, lo cual nos sugiere que la corteza temporal está implicada en

¹ Técnica "in vivo" que se basa en la emisión de positrones a partir de radionucleótidos que, tras recorrer algunos milímetros en el tejido, interactúan con un electrón, produciendo una radiación que se anula emitiendo dos fotones gamma dirigidos en dirección opuestas los cuales son detectados por el tomógrafo generando una imagen que se reestructura por computadora con un software especializado (Cold & Dahl, 2003).

² Pacientes que habían sufrido paro cardíaco.

procesos de reconocimiento. Otro estudio realizado por Sadeh, Maril & Goshen-Gottstein (2012) reportaron la activación de la corteza parahipocampal derecha y del hipocampo posterior durante la fase de reconocimiento, lo que sugiere que el hipocampo y la corteza parahipocampal están involucrados en estas funciones. Estos resultados son consistentes con estudios en ratas y primates no humanos que indican que el hipocampo es importante para el recuerdo de asociaciones arbitrarias entre las características de eventos anteriores, mientras que la corteza parahipocampal es crucial para la identificación de elementos presentados recientemente (Eichenbaum, Yonelinas & Ranganath, 2007). Por ejemplo, estas en una fiesta y te encuentras con alguien que te parece vagamente familiar (corteza parahipocampal); se saludan, pero no logras recordar dónde la conociste; comienzan una conversación, durante la cual buscas pistas y de repente recuerdas su nombre y el lugar dónde la conociste (tomaban juntos una clase); aquí participa el hipocampo.

La corteza parietal también se ha asociado con la memoria episódica. Kahn, Davachi & Wagner (2004) y Donaldson, Wheeler & Petersen (2003) describieron que durante la fase de recuperación en una tarea de reconocimiento se observa una mayor activación de la corteza parietal inferior izquierda durante los aciertos y las falsas alarmas en comparación con los rechazos correctos y los elementos olvidados³, es decir, nuestra corteza parietal se activa mayormente durante el reconocimiento. De igual manera, Konishi, Wheeler, Donaldson & Buckner (2000)

³ **Aciertos:** Elementos reconocidos correctamente como viejos.

Falsas alarmas: Elementos nuevos que fueron reconocidos como viejos.

Rechazos correctos: Elementos reconocidos correctamente como nuevos.

Elementos olvidados: Elementos viejos que no fueron reconocidos.

indicaron una mayor activación de la corteza parietal lateral y medial durante los aciertos en comparación con los rechazos correctos. Por lo tanto, podemos sugerir que la corteza parietal está involucrada en el reconocimiento de información.

Los hallazgos anteriormente descritos nos sugieren que la memoria episódica se apoya en una amplia red neuronal en la corteza cerebral, misma que depende de distintos sistemas de neurotransmisión que serán descritos en el siguiente apartado.

2.3 NEUROQUÍMICA DE LA MEMORIA EPISÓDICA

Existen diversos sistemas de neurotransmisión que se han relacionado con la memoria episódica, entre los que se encuentran: la dopamina (DA) (Schott et al., 2006), la acetilcolina (ACh) (Hasselmo, 2006), el glutamato (Day, Langston & Morris, 2003), la serotonina (De Quervain et al., 2003), los factores neurotróficos (Dennis et al., 2011) y los endocannabinoides (Mahmood, Jacobus, Bava, Scarlett & Tapert, 2010).

Dopamina

Diversos estudios han analizado la participación de la dopamina en la memoria episódica (Morcom et al., 2010; Lisman, Grace & Duzel, 2011; Chowdhury, Guitart-Masip, Bunzeck, Dolan & Düzel, 2012). Schröder, O'Dell & Marshall (2003) realizaron un estudio con ratas macho para evaluar el efecto de la

administración de metanfetaminas⁴ (mAMPH) en dos tareas de memoria, una de reconocimiento de objetos y otra tarea conocida como el laberinto de agua de Morris (que evalúa memoria espacial). En la tarea de reconocimiento se administró mAMPH o una solución salina una semana antes de la adquisición. Se presentaban a las ratas dos objetos, tres semanas después de la administración se evaluó el reconocimiento de objetos a los que habían sido expuestas; en la tarea de memoria espacial se colocó a las ratas en un tanque con agua y los animales tenían que localizar una plataforma oculta, los animales recibieron cuatro ensayos al día por dos días y 24 horas después se evaluó el recuerdo; la administración de mAMPH o solución salina fue de 4x4.0 mg/kg a intervalos de 2 horas. Los resultados mostraron que las ratas tratadas con mAMPH presentaron deficiencias en la tarea de reconocimiento, pero no en la tarea del laberinto de agua, lo cual sugiere que la administración de mAMPH afecta la adquisición y la recuperación a largo plazo en una tarea de reconocimiento, y no a la memoria espacial, es decir, incrementar los niveles de dopamina extracelular través de la administración de mAMPH afecta de manera negativa el reconocimiento (Schröder et al., 2003).

Por otro lado, Chowdhury et al. (2012) realizaron un estudio con humanos, adultos mayores sanos, quienes tenían que responder una tarea de memoria episódica después de una administración baja (1.7mg/kg), media (2.0mg/kg) o alta (2.5mg/kg) de L-dopa (precursor metabólico de la dopamina). La tarea consistió en

⁴ Las metanfetaminas bloquean el transportador de dopamina ocasionando un aumento en los niveles extracelulares de dopamina, ocasionando una alteración en la neurotransmisión dopaminérgica (Marshall & O'Dell, 2012).

la presentación de una fase de codificación en la que se presentaron escenas de interiores o exteriores de color gris; los participantes tenían que responder qué tipo de escena era. En la fase de reconocimiento se mostró una selección de escenas estudiadas previamente y nuevas escenas, el participante debía indicar si la imagen era vieja (vista anteriormente) o nueva. La administración de L-dopa no afectó la codificación; mientras que en la fase de reconocimiento, el grupo que recibió una dosis media mejoró su eficiencia en comparación con los grupos de dosis baja y alta. Utilizando esta tarea, Bertolino et al. (2006) realizaron un estudio en el que asocio los genotipos del polimorfismo⁵ rs4680⁶ del gen que codifica para la COMT con el reconocimiento, encontrando que los participantes con genotipo⁷ *Val/Val* son menos eficientes en el reconocimiento en comparación con los participante con genotipo *Met/Met*; de igual manera se observa que los *Val/Val* tiene una menor activación del hipocampo y una mayor activación de la corteza prefrontal en comparación con los participantes con genotipo *Met/Met* durante la codificación y el reconocimiento.

Estos hallazgos nos sugieren que la dopamina está participando en el reconocimiento de información y tiene un efecto dosis-dependiente en forma de U invertida, ya que en los participantes se observaron deficiencias cuando las dosis eran bajas o altas en comparación con una dosis media de 2mg/kg de peso. Asimismo, la alteración del sistema dopaminérgico, a través de la administración

⁵ Variaciones en la secuencia genómica del ácido desoxirribonucleico (ADN) de individuos de la misma especie (Krishnan & Westhead, 2003).

⁶ Este polimorfismo consiste en el cambio de una Valina (*Val*) por una Metionina (*Met*) en la posición 158 de la enzima; el alelo *Val* degrada la dopamina cuatro veces más rápido en comparación con el alelo *Met* (Bertolino et al., 2006).

⁷ Composición alélica o genética de un organismo (Klug et al., 2006).

de mAMPH, está afectando tanto la codificación como el reconocimiento (Schröder et al., 2003).

Glutamato

En un estudio realizado con ratas se evaluó la función de dos receptores de este neurotransmisor: el ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico mejor conocido como AMPA y el N-metil-D-aspartato, NMDA, bloqueando dichos receptores 15 minutos antes de la fase de codificación. Durante la ejecución de una tarea de reconocimiento de objetos; se encontró que el bloqueo transitorio de los receptores AMPA en la corteza perirrinal interrumpió la codificación y la recuperación a corto y a largo plazo, mientras que el bloqueo del receptor NMDA durante la codificación sólo afectó a la memoria de reconocimiento de objetos a largo plazo (Winters & Bussey, 2005).

Morgan, Mofeez, Brandner, Bromley & Curran (2004) realizaron un estudio con humanos en el que evaluaron el efecto de la ketamina (antagonista del receptor NMDA) en la memoria. Los participantes recibieron una dosis de ketamina (0.4 o 0.8 mg/kg) o solución salina (0.9% NaCl), inmediatamente después los participantes realizaron una tarea de memoria episódica que consistió en la presentación de una lista de palabras en voz femenina o masculina; los participantes tenían que clasificar en: agradable/desagradable ó concreto/abstracto y después de completar la lista hubo un retraso de 6 minutos, durante el cual estuvieron realizando otra tarea; posteriormente, se les presentó

una lista con nuevos estímulos combinados aleatoriamente con los estímulos anteriores y los participantes tenían que indicar si habían escuchado la palabra o no y con qué tipo de voz. Los resultados indican un déficit en el reconocimiento en los grupos a los que se les administró la ketamina, en comparación con el grupo placebo; en el grupo con una dosis baja de ketamina se observó una mayor proporción de respuestas correctas en comparación con el grupo de dosis alta.

Estos datos nos sugieren que el sistema glutamatérgico está participando tanto en la codificación como en la recuperación de información. El bloqueo de receptores AMPA y NMDA afectan el reconocimiento de manera diferenciada; el bloqueo de receptores AMPA interrumpe tanto la adquisición como recuperación de información a corto y largo plazo, mientras que el bloqueo de receptores NMDA solo afecta el reconocimiento.

Serotonina

Otro sistema que ha sido asociado con la memoria episódica es el serotoninérgico. De Quervain et al. (2003) realizaron un estudio en el que investigaron el efecto del polimorfismo H452Y, que codifica para el receptor a serotonina 2A (5-HT_{2A}), en la memoria episódica en una muestra de adultos jóvenes. Este polimorfismo predice una sustitución de aminoácido de Histidina (*His*) por Tirosina (*Tyr*)⁸; en comparación con los homocigotos *His*, los heterocigotos muestran una respuesta del receptor disminuida. Los participantes realizaron una tarea de reconocimiento en la cual se les presentaban seis series

⁸ Esta variante provoca una alteración de la amplitud y el momento de la movilización de calcio intracelular (Göthert et al., 1998).

de sustantivos no relacionados, se les pedía a los participantes recordar el mayor número de palabras al finalizar cada serie, 5 minutos y 24 horas después. Los resultados indican que los heterocigotos muestran un desempeño menor en el recuerdo libre con retraso de 5 min y de 24 horas en comparación con los homocigotos *His*, pero no en el recuerdo libre inmediato (De Quervain et al., 2003). De igual manera, Papassotiropoulos et al. (2005) realizaron un estudio en el que asociaron los genotipos del polimorfismo H452Y con memoria episódica en una muestra de adultos jóvenes (18 a 45 años de edad) y de edad avanzada (46 a 90 años de edad), reportando que los participantes jóvenes con el alelo *Tyr* exhiben un rendimiento menor en comparación con los participantes con homocigotos *His*, en el grupo de edad avanzada el genotipo no afectó el rendimiento de la memoria.

Esto indica que una variación genética funcional del receptor 5-HT_{2A} se relaciona con la memoria episódica, encontrando un menor rendimiento en los participantes con la variante *Tyr*.

Factores neurotróficos

El Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés), es una neurotrofina que se ha demostrado que regula la supervivencia y la proliferación celular, así como el crecimiento sináptico del hipocampo en no-humanos (Zhang & Poo, 2002; Tyler, Alonso, Bramham & Pozo-Miller, 2002). Un polimorfismo del gen BDNF humano produce una sustitución de aminoácido (valina a metionina) en el codón 66 del gen (*Val66Met*); esta sustitución da como resultado diferencias en la distribución celular de la proteína BDNF (Egan et al.,

2003). Y este polimorfismo se ha tratado de vincular en humanos con la memoria episódica.

Egan et al. (2003) reportaron una asociación entre el polimorfismo Val66Met del gen del BDNF con memoria episódica. La memoria episódica fue evaluada a través de la sub-prueba de memoria episódica verbal de la Escala de Memoria de Wechsler versión revisada (WMS-R). Los participantes homocigotos *Met* son menos eficientes en comparación con los participantes homocigotos *Val* y los heterocigotos. Este hallazgo sugiere que el gen BDNF podría estar alterando la función hipocampal en humanos y, por ende, la memoria episódica.

Un estudio realizado por Hariri et al. (2003) relacionaron los genotipos del BDNF (*Val/Met*) y la actividad hipocampal durante la realización de una tarea de memoria episódica. La muestra se dividió en tres grupos: *Val/Val*, *Val/Met* y *Met/Met*. La tarea consistió en presentar 2 bloques, el primero de codificación en el cual se presentaban escenas, los participantes tenían que indicar si correspondía a una escena exterior o interior; en el segundo bloque se les presentaron nuevamente escenas y tenían que indicar si era vieja (vista anteriormente) o nueva. Los resultados indican una activación bilateral significativa del hipocampo posterior durante la codificación y la recuperación en todos los participantes. Las comparaciones entre grupos revelaron una mayor activación del hipocampo durante la codificación y la recuperación en los participantes homocigotos *Val*; también se observó que los homocigotos *Val* fueron más eficientes para reconocer tanto las escenas viejas como las nuevas en la fase de

recuperación en comparación con los portadores de *Met*, quienes tuvieron mayor número de errores y falsas alarmas.

Estos resultados nos sugieren que la modulación del BDNF en el hipocampo es un proceso clave en la adquisición inicial de la información.

Endocannabinoides

Otro sistema que ha sido estudiado y relacionado con diferentes funciones cognitivas, entre ellas la memoria, es el sistema endocannabinoide (Varvel, Cravatt, Engram & Lichtman, 2006; Rueda-Orozco, Montes-Rodríguez, Soria-Gómez, Méndez-Díaz & Prospéro-García, 2008). Este sistema tiene una función neuromoduladora sobre otros sistemas de neurotransmisión (ver apartado siguiente). Una forma de estudiar este sistema es a través de la administración de agonistas exógenos, principalmente el $\Delta 9$ -Tetrahidrocannabinol ($\Delta 9$ -THC), sustancia que contiene la marihuana. Su consumo ha sido asociado con déficit en memoria de trabajo (Bossong et al., 2012) y atención (D'Souza et al., 2004). Con referencia a la memoria episódica, González et al. (2012), realizaron un estudio con usuarios de marihuana⁹ y participantes control en el que evaluaron la memoria episódica a través de la Prueba de Aprendizaje Verbal de Hopkins, (HVLTL, por sus siglas en inglés), la tarea consiste en la presentación de tres conjuntos de cuatro palabras. Se les pidió a los participantes repetir las palabras inmediatamente después de cada uno de los ensayos (recuerdo libre inmediato); después de una demora de 25 minutos se solicitó nuevamente repetir las palabras (recuerdo libre

⁹ Los usuarios de marihuana debían abstenerse del consumo de marihuana por lo menos 24 horas antes de la evaluación.

con demora). Por último, los participantes realizaron una tarea de reconocimiento en la que se pidió a los participantes indicar si la palabra presentada se encontraba o no dentro de las listas anteriores. Los resultados indican que los usuarios de marihuana son más deficientes en el recuerdo libre inmediato y el recuerdo libre con demora. En el reconocimiento no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos. Asimismo, se ha encontrado que participantes usuarios de marihuana presentan mayor volumen de materia gris en los lobulos anteriores del cerebelo de manera bilateral en comparación con los participantes control (Cousijn et al., 2012). También se observó una correlación inversa entre el volumen de materia gris en la amígdala derecha y la severidad de dependencia de marihuana en usuarios "pesados"¹⁰ de marihuana; además, el volumen de materia gris en el hipocampo bilateralmente se correlacionó inversamente con el consumo de marihuana semanal. Estas regiones se han asociado con funciones como la memoria episódica y el aprendizaje verbal (Cousijn et al, 2012).

Tales hallazgos nos indican que el sistema endocannabinoide podría estar implicado en la adquisición de nueva información, pero no en el reconocimiento, asimismo, la activación del sistema endocannabinoide, por el $\Delta 9$ -THC en la marihuana, podría estar afectando la morfología de algunas regiones de cerebro.

Sin embargo, no sabemos si la activación del sistema endocannabinoide de forma natural podría explicar diferencias individuales en memoria episódica.

¹⁰ El uso de cannabis 10 o más días durante el último mes, al menos 240 días durante los últimos dos años, sin la búsqueda de tratamiento

2.4 SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

El sistema endocannabinoide es un sistema de señalización compuesto de receptores a cannabinoides, ligandos endógenos y proteínas implicadas en la síntesis y degradación de estos ligandos (Di Marzo, Bifulco & Petrocellis, 2004; Piomelli, 2003).

Hasta la fecha se han descubierto dos receptores a cannabinoides: el receptor a cannabinoides 1 (CB1) (Matsuda, Lolait, Brownstein, Young & Bonner, 1990) y el receptor a cannabinoides 2 (CB2) (Munro, Thomas & Abu-haar, 1993). El receptor CB1, en humanos, se ubica principalmente en neuronas presinápticas y se expresa predominantemente en regiones del sistema nervioso central (SNC), así como en el globo pálido, putamen, núcleo caudado, el cerebelo, el hipocampo, la corteza cerebral, la médula espinal y la sustancia gris periacueductual (Figura 1) (Burns et al., 2007). Estos receptores se han descrito en terminales presinápticas de neuronas glutamatérgicas, noradrenérgicas, serotoninérgicas y GABAérgicas (Howlett et al., 2002). Por lo tanto, los endocannabinoides pueden facilitar potenciales postsinápticos inhibidores o excitadores, dependiendo del tipo de neuronas en las que se expresan sus receptores (Gamage & Lichtman, 2012). Los receptores CB2 se encuentran principalmente en las células inmunitarias y en tejido periférico, aunque también se expresan menormente en SNC (Romano-Lopez, Méndez-Díaz, Ruiz-Contreras, Carrisoza & Prospéro-García, 2012; Chiu, Puente & Castillo, 2010; Grotenhermen, 2006).

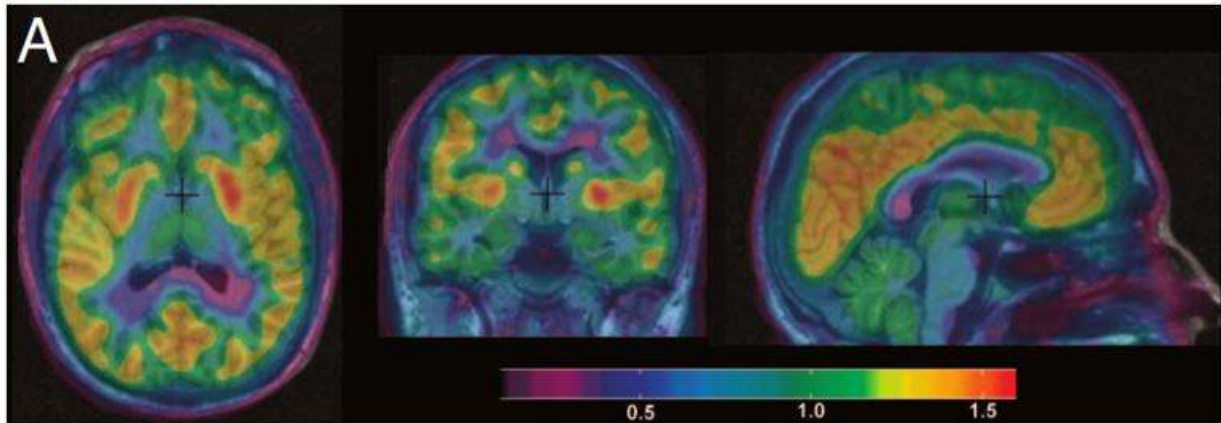


Figura 1. Distribución del receptor CB1. Imágenes de Tomografía por emisión de positrones (PET) donde se observa el pegado del agonista [^{18}F]MK-9470 al receptor CB1 en tres cortes de cerebro humano (horizontal, coronal y sagital, respectivamente). La escala de colores indica qué tanto se pegó el marcador al receptor, por lo tanto, indica la cantidad de receptor CB1 expresado en esa región. Los colores rojos indican máxima presencia del receptor y los morados la mínima. Se observa mayor captación del marcador en el cuerpo estriado, la corteza frontal y la corteza cingulada posterior; en el cerebelo se observa una captación intermedia y la captación más baja se observó en el hipocampo y el tálamo (Tomado de Burns et al., 2007).

Existen compuestos llamados cannabinoides endógenos que produce nuestro organismo y que se unen a estos receptores, los cuales son: anandamida (N-araquidonil-etanolamina, AEA) (Devane et al., 1992), 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (Sugiura et al., 1995), oleamida (Cravatt et al., 1995), N-Araquidonoil-dopamina (NADA) (Bisogno et al., 2000) y Virodamina (Porter et al., 2002). Estas sustancias son sintetizadas a demanda, actuando en forma retrógrada (Di Marzo et al., 2004). La activación de los receptores CB1 produce una disminución en la acumulación de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) y, por lo tanto, la inhibición de la proteína quinasa A (PKA) dependiente de AMPc; se bloquean los canales de Ca^{++} y se abren los canales rectificadores de K^{+} (McAllister & Glass, 2002). Esto produce la disminución de la liberación de diversos neurotransmisores como dopamina, glutamato, acetilcolina y GABA (Pistis et al., 2002; Di Marzo et al., 2004; Chiu et al., 2010; Pattij, Wiskerke & Schoffelmeer, 2008; Kano, Ohno-

Shosaku, Hashimoto, Uchigashima & Watanabe, 2009). Además, la activación del receptor CB1 conduce a la estimulación de la actividad de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), que es un mecanismo por el cual los cannabinoides regulan la plasticidad sináptica, la migración celular y, posiblemente, el crecimiento neuronal (Howlett, Blume & Dalton, 2010). En función de todos estos mecanismos, la activación del CB1 modula la liberación de neurotransmisores (Figura 2).

De este modo, los endocannabinoides pueden modular las funciones cognitivas como memoria y aprendizaje, ya que los receptores CB1 se encuentran en mayores concentraciones en el hipocampo, el hipotálamo, el cuerpo estriado y la corteza cerebral, regiones implicadas en estos procesos (Howlett et al., 2004).

A continuación se detalla la biosíntesis y degradación de los cannabinoides endógenos.

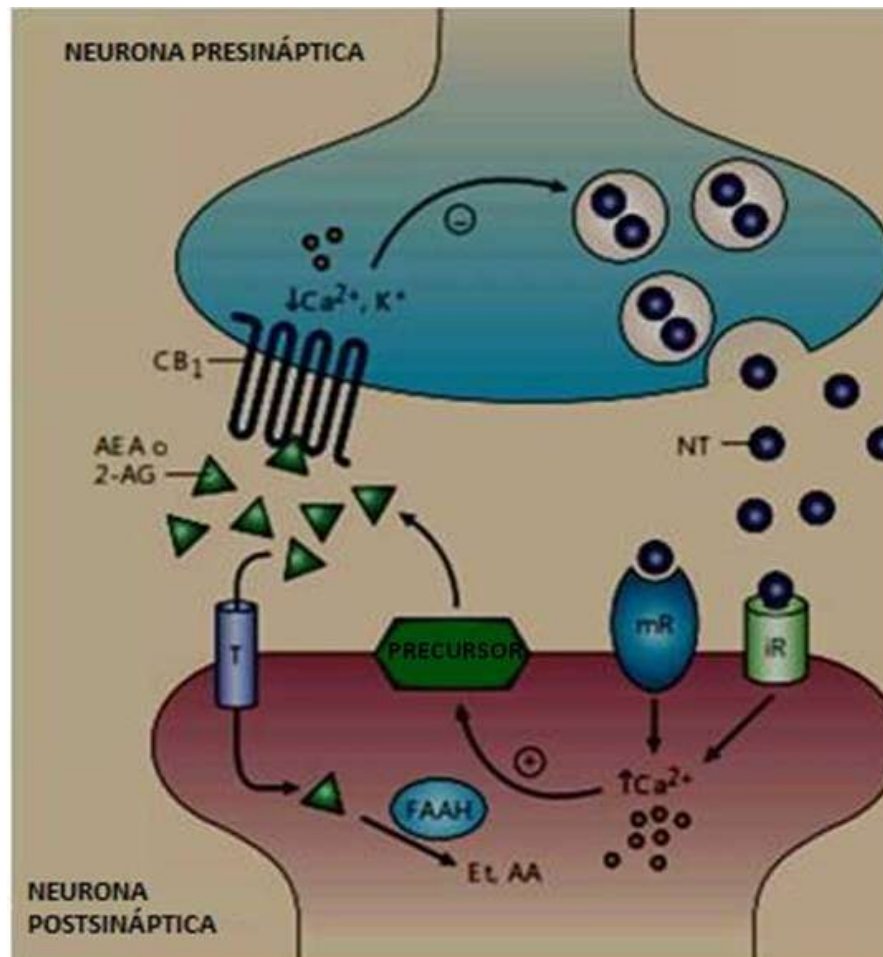


Figura 2. Las neuronas postsinápticas sintetizan endocannabinoides unidos a la membrana después de un aumento de las concentraciones de Ca^{++} , como por ejemplo, la unión de los neurotransmisores (NT) a receptores ionotrópicos (iR) o metabotrópicos (mR). Estos endocannabinoides (AEA o 2-AG) son liberados hacia la neurona presináptica y actúan como mensajeros retrógrados mediante la unión a receptores a cannabinoides 1 (CB1), provocando la inhibición de los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje y la activación de canales rectificadores de K^+ en la presinapsis, disminuyendo la liberación de los NT tales como glutamato, dopamina y GABA. La señalización neuromoduladora del sistema endocannabinoide se termina cuando los endocannabinoides son recapturados mediante un transportador (T) o degradados por la FAAH o la MAGL (Tomado de Guzmán, 2003).

La AEA se sintetiza a través de la hidrólisis de la fosfatidiletanolamina produciendo N-araquidonil- fosfatidiletanolamina (NAPE); ésta es catalizada por la fosfolipasa D selectiva para NAPEs (NAPEPLD) (Bisogno, Ligresti & Di Marzo, 2005). El 2-AG se produce a partir de la hidrólisis de diacilglicerol (DAG) catalizado por una lipasa DAG; el DAG se produce a partir de la hidrólisis de

fosfoinosítidos (PI) catalizada por una fosfolipasa C (PI-PLC) o por ácido fosfatídico (PA) catalizado por una fosfohidrolasa PA (Puighermanal, Busquets-García, Maldonado & Ozaita, 2012). Una vez dentro de la neurona presináptica los endocannabinoides son degradados por diferentes mecanismos, la AEA es degradada principalmente por una enzima llamada hidrolasa de los ácidos grasos amidados (FAAH) resultando en ácido araquidónico y etanolamina, mientras que el 2-AG es degradado principalmente por la monoacil-glicerol lipasa (MAGL) presente en la membrana celular y convirtiéndose en ácido araquidónico o glicerol (Bisogno et al., 2005; Puighermanal et al., 2012).

Además de estos compuestos endógenos, existen compuestos exógenos o fitocannabinoides que se unen a estos receptores, como lo es el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN) y cannabigerol, entre otros (Howlett et al., 2004). Asimismo, se han obtenido en laboratorio diversos análogos sintéticos como son el WIN 55,212-2, el HU-210, el CP-55940, entre otros (Di Marzo & De Petrocellis, 2006). A continuación se muestran las estructuras químicas de algunos de estos compuestos (Figura 3).

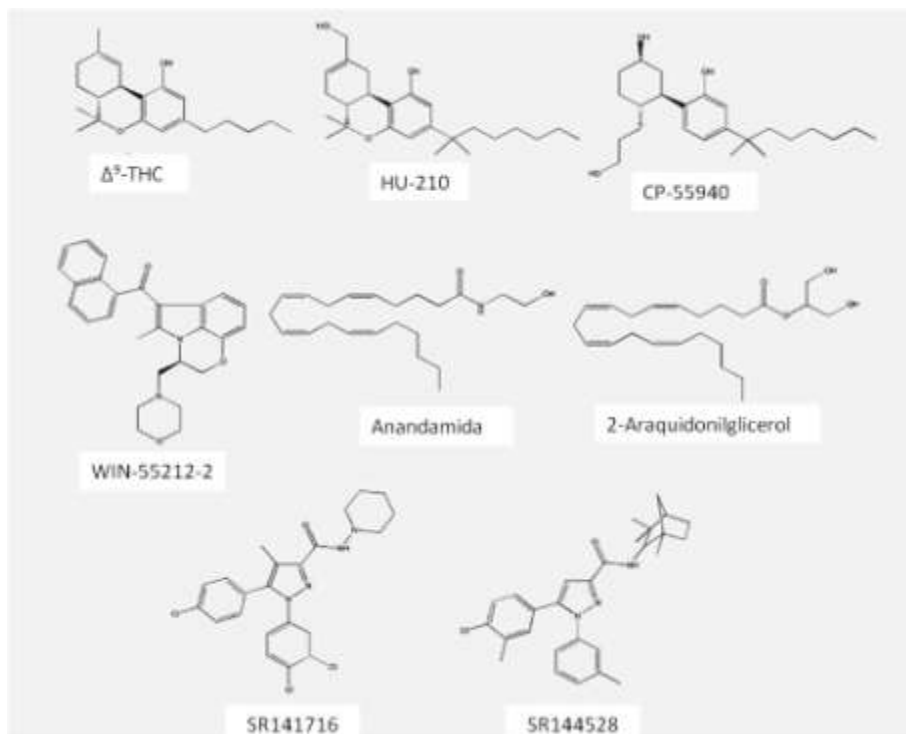


Figura 3. Estructuras químicas de ligandos agonistas endógenos, exógenos y antagonistas a receptores cannabinoides (Tomado de Howlett et al., 2004)

Como ya se mencionó, estos compuestos se unen al receptor CB1 del sistema endocannabinoide; el receptor CB1 es codificado por el gen CNR1, el cual será descrito a continuación.

2.5 GEN CNR1

El ADN es una macromolécula que se encuentra en el núcleo de las células, está conformado por subunidades denominadas nucleótidos (Pierce, 2010). En el ADN hay cuatro nucleótidos distintos que se compone de los siguientes elementos: una base nitrogenada (A: Adenina, G: Guanina, T: Timina o C: Citocina), una desoxirribosa (azúcar) y un grupo fosfato (Klug, Cummings, Spencer & Palladino, 2013). Un gen es una secuencia de nucleótidos que contiene

la información necesaria para la síntesis de una proteína (Pierce, 2010, Klug et al., 2013). En una población de individuos de la misma especie puede existir muchas formas alternativas del gen, llamadas alelos (Klug et al., 2013). Si ambos alelos son idénticos se dice que el individuo es homocigoto; cuando los alelos son diferentes utilizamos el término heterocigoto (Klug et al., 2013). A las diferentes formas de distribución de los nucleótidos en un mismo gen se le conoce como polimorfismo (Klug et al., 2013). Cuando se escriben los alelos en pareja para representar a los dos factores presentes en cualquier individuo, el símbolo resultante se denomina genotipo (Klug et al., 2013).

Existen tres tipos de polimorfismos: polimorfismo de nucleótido simple (SNP), polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RLFP) y en el número de segmentos repetidos en tándem (VNTR; todos por sus siglas en inglés). Los SNP son variaciones en la secuencia de ADN que ocurren cuando un solo nucleótido en el genoma en una posición específica difiere en pares de cromosomas (Wang, Tomso, Liu & Bell, 2005), y estos pueden ubicarse en regiones codificantes o en regiones promotoras, los RLFP son diferencias en el patrón de fragmentos producidos por enzimas de restricción, que revelan variaciones en las secuencias de ADN (Pierce, 2010) y los VNTR ocurre cuando se repite un segmento de ADN cierto número de veces, estos VNTR se conocen como minisatélites (repeticiones de 0.1 a 20 kilobases) ó microsatélites (repeticiones de 2 a 100 nucleotidos) (Knight, 2005).

El gen CNR1 está localizado en el cromosoma 6q14-q15 (Hoehe et al., 1991); está compuesto por cuatro exones (región codificante), interrumpido por tres

intrones (región no codificante) (Zhang et al., 2004), tiene una longitud de 26,825 bases (ver Figura 4).

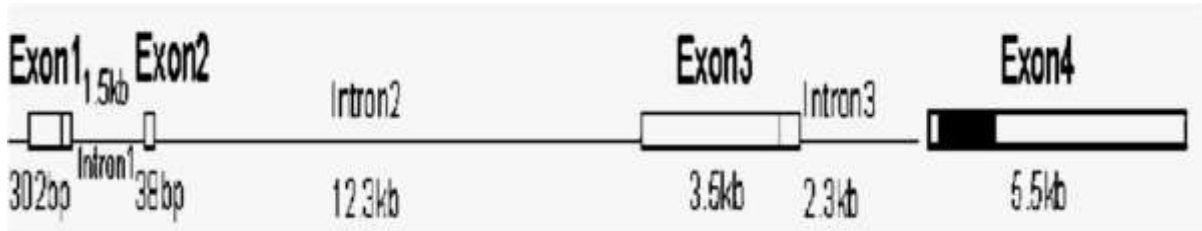


Figura 4. Representación esquemática del gen CNR1. Vista del gen de 5' a 3'. Los rectángulos representan los 4 exones, las líneas continuas los 3 intrones y las líneas oscuras dentro de los exones indican la región que se traduce a proteína (Tomado de Zhang et al., 2004).

Este gen presenta diversos polimorfismos a lo largo de toda su secuencia (NCBI), entre los que podemos encontrar VNTR, SNP y RFLP. Un ejemplo de VNTR es el microsatélite AAT, que consiste en la repetición del triplete AAT_n (Zhang et al., 2004). En función del número de repeticiones se ha detectado asociación con adicción (Ballon et al., 2005), impulsividad (Ehlers, Slutske, Lin & Wilhelmsen, 2007) y funciones cognitivas como atención (Stadelmann et al., 2011), memoria de trabajo (Ruiz-Contreras et al., 2013) y aprendizaje de procedimiento (Ruiz-Contreras et al., 2011). Por ejemplo, en nuestro laboratorio hemos asociado el microsatélite AAT_n con el aprendizaje de una habilidad visomotora, y encontramos que los individuos con genotipo AAT_{12/14} son más eficientes que aquellos con genotipo AAT_{12/13} (Ruiz-Contreras et al., 2011), de igual manera se demostró una asociación del genotipo AAT_{≤12≤12} con una mayor eficiencia en memoria de trabajo, en comparación con el genotipo AAT_{>12>12} (Ruiz-Contreras et al., 2013). La dificultad de estudio con este polimorfismo es la alta variabilidad de genotipos que podemos encontrar en una muestra, además de

que se ubica en una región no codificante y de la cual no se ha descrito su función.

Dos SNPs encontrados en el gen CNR1 son el rs1049353 y el rs2180619. El rs1049353 (A/G) es un polimorfismo sinónimo (*i.e.* el intercambio de nucleótidos no modifica la cadena de aminoácidos). Este polimorfismo está ubicado en el exón 4 y portar el alelo G se ha asociado con depresión (Monteleone et al., 2010). Otros SNPs se han descrito en regiones promotoras (estas regiones controlan la transcripción de genes y, por ende, la cantidad de proteína sintetizada; Cho, 2012) y son de particular interés para el presente trabajo, ya que se ha reportado que diferencias alelo-específicas pueden modular las tasas de transcripción (Nicoll et al., 2012); se ha demostrado que SNPs en las regiones promotoras de otros genes pueden alterar la expresión génica (Wang et al., 2005), sin embargo, de muchos de los SNPs ubicados en estas regiones no se sabe el efecto funcional.

En esta investigación abordaremos el estudio del rs2180619 que se encuentra ubicado en una región promotora del gen CNR1 a -3068 pares de bases del exón 1 (Zhang et al., 2004) (Figura 5). Este SNP consiste en el cambio de una adenina (A), el cual se encuentra en mayor frecuencia en este sitio en población europea, por una guanina (G), menos frecuente para este sitio (NCBI). El rs2180619 presenta tres genotipos (AA, AG y GG), el genotipo GG se ha asociado con un mayor nivel de ansiedad cuando está presente el alelo S (corto) del 5HTTLPR (polimorfismo del gen del transportador de serotonina) (Lazary et al., 2008). Asimismo, se ha sugerido que el cambio de una “A” por “G” tiene un efecto en la afinidad a factores de transcripción (Lazary et al., 2009). También se ha

encontrado una mayor frecuencia de alelos “G” en una muestra de personas europeo-americana y africano-americana con abuso de poli-sustancias, en comparación con controles (Zhang et al.,2004).

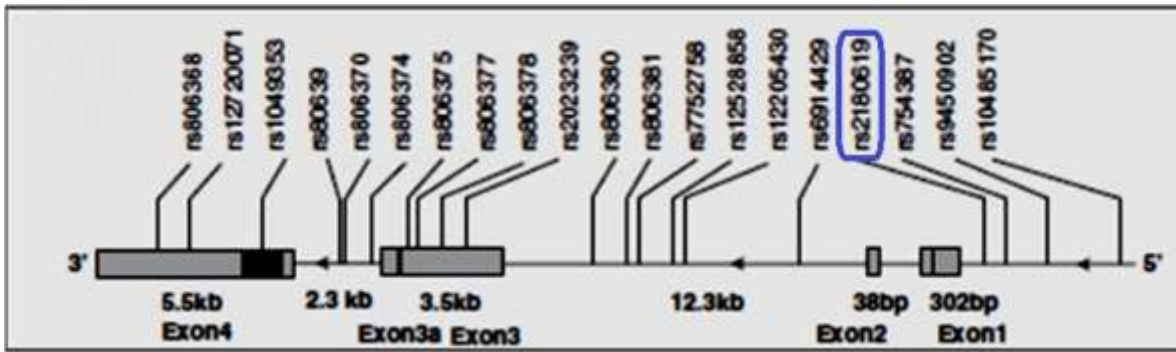


Figura 5. En una vista de 3' a 5' se muestran los exones e intrones del gen CNR1. Se muestran los diversos SNPs que se han identificado para el gen. En azul se enmarca la localización específica del rs2180619 (Tomado de Tiwari et al., 2012).

Hasta ahora el alelo G sólo había sido asociado como factor de riesgo en condiciones patológicas, sin embargo, recientemente fue asociado a funciones cognitivas en participantes sanos (*i.e.*: sin antecedentes psiquiátricos, neurológicos y sin dependencia a sustancias) por nuestro grupo. Ruiz-Contreras et al. (2014) describimos la asociación entre los genotipos del rs2180619 y una tarea de mantenimiento de la información en memoria de trabajo. La tarea constó de cuatro condiciones experimentales, en las que se mostraba una pantalla con un punto de fijación, cuatro estímulos, dos caras y dos escenas de forma aleatoria (estímulos referencia), otra pantalla con un punto de fijación y una quinta imagen que podía ser escena, rostro o flecha (dependiendo de la condición) como estímulo prueba.

Las condiciones experimentales eran las siguientes: 1) Recordar rostros e ignorar escenas; 2) Recordar escenas e ignorar rostros (estas dos condiciones

evaluaban el control atencional¹¹); 3) Recordar rostros y escenas (esta condición evaluaba la carga en la memoria de trabajo) y 4) Mirar pasivamente (condición control).

En las tres primeras condiciones los participantes tenían que indicar si el estímulo prueba se encontraba dentro de los estímulos de referencia o no y en la cuarta condición tenían que responder acerca de la dirección de la flecha. Los resultados indican que los participantes homocigotos G tuvieron un menor desempeño correcto durante la ejecución en una tarea de mantenimiento en comparación con los participantes homocigotos A (Figura 6).

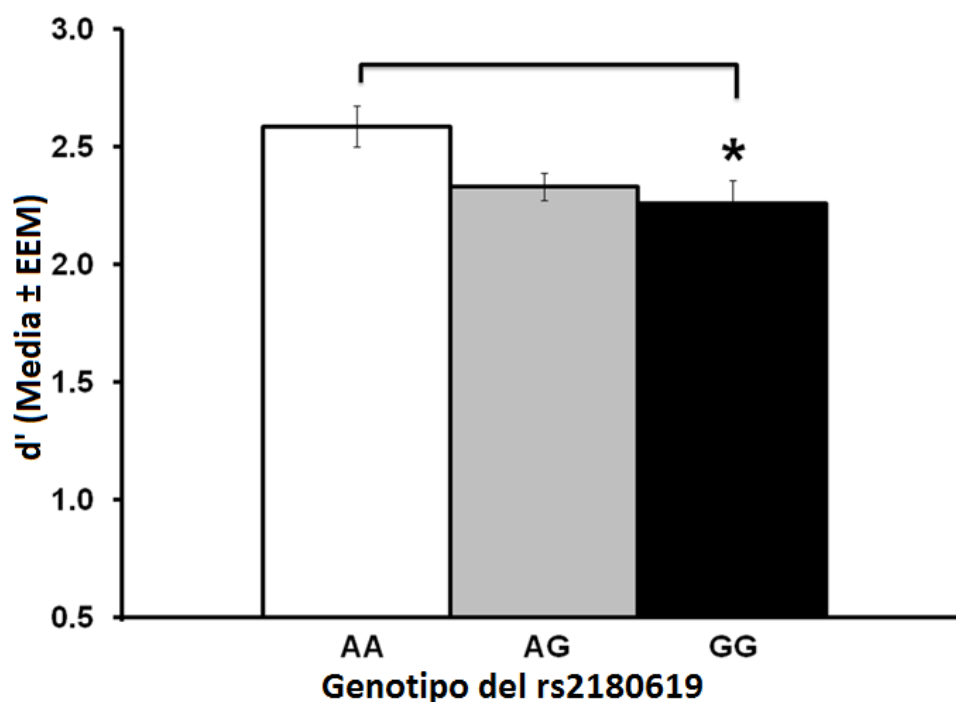


Figura 6. Diferencias en la ejecución en una tarea de mantenimiento en memoria de trabajo. En el eje de las abscisas observamos los genotipos del rs2180619 y en el eje de las ordenadas el índice de discriminación d' prima (d')¹², el cual nos indica si los participantes pudieron o no discriminar el estímulo prueba en la serie de estímulos de referencia (dos rostros y dos escenas). Se observa que los homocigotos G tuvieron menor eficiencia en la ejecución en comparación con los homocigotos A (Tomado de Ruiz-Contreras et al., 2014).

¹¹ Capacidad para focalizar y cambiar la atención (Baddeley et al., 2001).

¹² La $d' \leq 0$ indica aproximadamente un 50% de precisión en las respuestas sugiriendo que el participante estuvo respondiendo de manera aleatoria.

Por condición, se observaron diferencias significativas en la ejecución entre los genotipos GG y AA en la condición de carga de memoria de trabajo, pero no en las condiciones de control atencional (Figura 7). Estos resultados muestran que el sistema endocannabinoide está participando en los mecanismos para que ocurra la memoria de trabajo (MT).

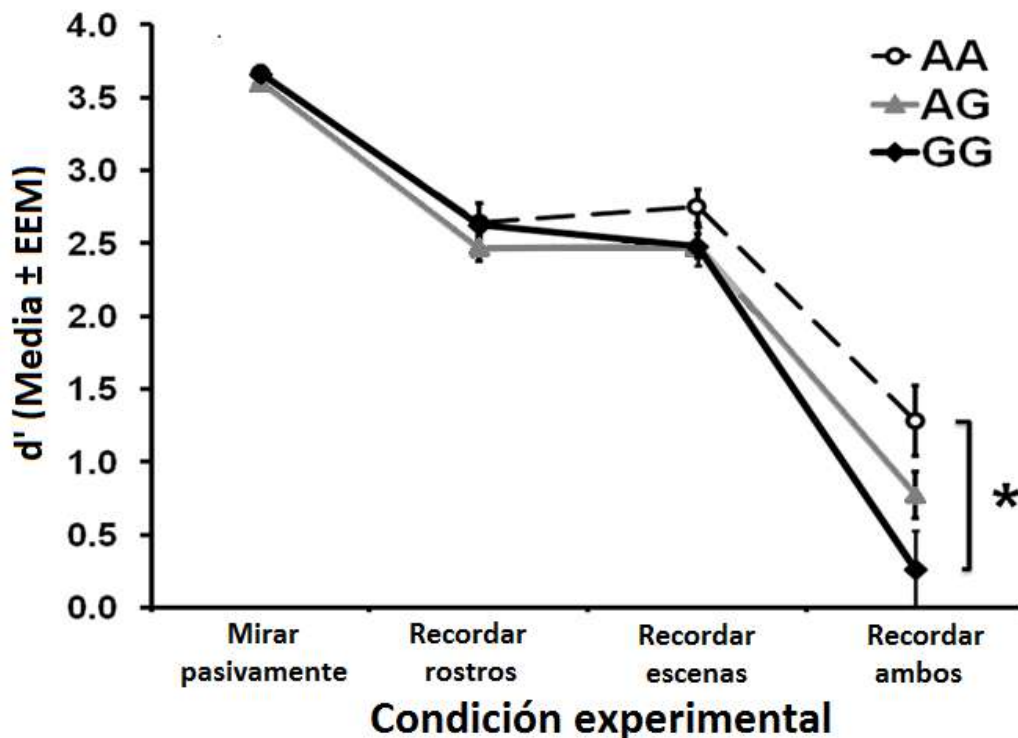


Figura 7. Diferencias asociadas al genotipo del rs2180619 en la ejecución por condición experimental en una tarea de mantenimiento en memoria de trabajo. En el eje de las abscisas observamos las cuatro condiciones experimentales (Mirar pasivamente, Recordar rostros, Recordar escenas y Recordar ambos) y en el eje de las ordenadas el índice de discriminación d' . Se observa que los homocigotos G tienen menor eficiencia en la ejecución en comparación con los homocigotos A solo en la condición recordar ambos (rostros y escenas) (Tomado de Ruiz-Contreras et al., 2014).

Una pregunta que se atisba es saber si este sistema neuromodulador también participa en la regulación de la memoria episódica. Esto debido a que, como se ha mencionado, la memoria episódica es una función que se apoya en una amplia red

neuronal, misma que depende de sistemas de neurotransmisión, entre ellos el sistema endocannabinoide. En este trabajo se propone evaluar el alelo G (el cual se ha descrito como alelo de riesgo) del rs2180619 en la eficiencia en memoria episódica en una tarea de reconocimiento.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La memoria episódica es la capacidad para recordar sucesos de nuestro pasado personal. Dos procesos esenciales para garantizar su eficiencia son la codificación y el reconocimiento de la información. Estos procesos dependen principalmente del hipocampo, cuya función comprende la participación de diversos sistemas de neurotransmisión, algunos de los cuales están modulados por el sistema endocannabinoide a través del receptor CB1. La administración de agonistas para el CB1 produce una deficiencia en la memoria episódica. El gen CNR1 codifica para el CB1. Este gen presenta diversos polimorfismos a lo largo de toda su secuencia, uno de estos es el rs2180619, ubicado en una región promotora del CNR1. Los diferentes genotipos del rs2180619 podrían estar asociados con una eficiencia conductual distinta en la memoria episódica. Con base en estudios previos, personas que portan un alelo "G" de este SNP presentan conductas de riesgo como abuso de poli-sustancias y mayor nivel de ansiedad. Además, se asoció que participantes con genotipo homocigoto G tuvieron menor ejecución en una tarea de mantenimiento en memoria de trabajo, en comparación con los genotipos homocigotos A. Sin embargo, no sabemos si ser homocigoto G también puede asociarse con menos eficiencia en la codificación y el reconocimiento en una tarea de memoria episódica, que los homocigotos A.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los genotipos del rs2180619 se asocian con una eficiencia diferente en la codificación y en el reconocimiento en humanos?

5. HIPÓTESIS

Los individuos con genotipo GG del rs2180619 son menos eficientes en la codificación y en el reconocimiento que los individuos con genotipo AG y AA.

6. OBJETIVO GENERAL

Determinar la asociación entre el polimorfismo rs2180619 del gen CNR1 y la eficiencia en la codificación y en el reconocimiento en humanos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar si existen diferencias en el porcentaje de respuestas correctas y tiempo de reacción en la fase de codificación profunda de información, asociadas a los genotipos rs2180619 del gen CNR1.
- Evaluar si existen diferencias en el índice de discriminación (d'), el porcentaje de respuestas correctas y el tiempo de reacción en el reconocimiento, asociadas a los genotipos rs2180619 del gen CNR1.

7. MÉTODO

7.1 PARTICIPANTES.

Participaron 169 personas, 100 mujeres y 69 hombres, de entre 20 y 30 años de edad. Todos los participantes cubrieron los siguientes criterios de inclusión: ser diestro; tener visión normal o corregida; no haber consumido alguna droga en los últimos 12 meses previos a la sesión experimental; no presentar dependencia a ninguna sustancia; no padecer o haber padecido alguna enfermedad neurológica y/o psiquiátrica o tener algún familiar en línea directa con algún antecedente neurológico o psiquiátrico; tener al menos 12 años de estudio; y tener un manejo de vocabulario normal.

Los criterios de exclusión fueron: no tener entre 20 y 30 años; ser ambidiestro o zurdo, no tener visión normal o corregida, presentar o haber presentado dependencia a sustancias de abuso; haber consumido alguna sustancia de abuso dentro de los últimos 12 meses inmediatos anteriores a la sesión experimental, presentar sintomatología relacionada a depresión o ansiedad en la última semana precedente a la sesión experimental, padecer o tener antecedentes directos de enfermedades neurológicas y/o psiquiátricas; y carecer de un manejo de vocabulario esperado.

Los criterios de eliminación fueron: que el participante no quisiera continuar con la sesión experimental.

7.2 TIPO DE MUESTREO.

Muestra no probabilística, homogénea e intencional. El experimento es cuasiexperimental; se calculó el tamaño de la muestra en función del SNP rs2180619 del CNR1, a través del software Quanto, v.1.2. Para ello se consideró la frecuencia alélica (de acuerdo al Genome Variation Server con información del HapMap-3) y el riesgo relativo de los alelos (Zhang et al., 2004; Lazary et al., 2009; Lazary, 2010; Ehlers et al., 2007) a través del software Quanto, v.1.2, con un poder estadístico de 0.8.

7.3 INSTRUMENTOS.

Se emplearon diversos cuestionarios con el objetivo de determinar si los participantes cubren los criterios de inclusión. A continuación se describen estos instrumentos.

7.3.1 Cuestionario de datos generales.

Es un cuestionario no autoaplicado utilizado para recabar datos generales del participante como nombre completo, edad, fecha de nacimiento, teléfono local y celular, dirección, dirección de correo electrónico, escolaridad, carrera, número total de años de estudio y promedio en el último semestre cursado. Además, se le preguntó al participante si padecía alguna enfermedad o tomaba algún medicamento al momento de la sesión y si sus padres, hermanos o hijos padecían o habían padecido alguna enfermedad neurológica o psiquiátrica.

7.3.2 Cuestionario sobre el consumo de sustancias psicoactivas.

Este cuestionario no autoaplicado sirve para explorar el consumo de diversas drogas a lo largo de la vida de una persona. Las drogas exploradas fueron: marihuana, estimulantes, cocaína, narcóticos, alucinógenos, inhalantes, tranquilizantes, esteroides, pastillas dietéticas y pastillas para dormir. El participante respondió si consumió o no alguna sustancia perteneciente a cada grupo de drogas a lo largo de su vida, así como cuantas veces la ha consumido, a qué edad las consumió por primera vez y si la ha consumido en el último año. Esto permite detectar si los participantes consumieron alguna droga en los últimos 12 meses previos a la sesión experimental, con el fin de detectar si existe la presencia o ausencia de dependencia.

7.3.3 Cuestionario de dependencia a cafeína, nicotina y alcohol.

Este cuestionario autoaplicado detecta si una persona presenta dependencia a cafeína, nicotina o alcohol. Está basado en los criterios del DSM-IVR para detectar dependencia a estas sustancias. Para responder este cuestionario, el participante sólo debía considerar los últimos 12 meses previos al día del experimento. El participante fue excluido del estudio si en este cuestionario respondía afirmativamente tres o más de los reactivos.

7.3.4 Inventario de Edimburgo

Este cuestionario autoaplicado evalúa la lateralidad del participante, con el fin de corroborar que toda la muestra se conformara por personas de lateralidad diestra. Los participantes debían indicar con una cruz la preferencia del uso de las manos y otras partes del cuerpo, basada en cinco opciones de frecuencia a lo largo de 12 preguntas. Las opciones de respuesta son: derecha muy preferente (dos puntos para “derecha”), derecha preferente (un punto para “derecha”), mano indiferente (un punto para “derecha” y un punto para “izquierda”), izquierda preferente (un punto para “izquierda”), izquierda muy preferente (dos puntos para “izquierda”). Para obtener la lateralidad del participante se realiza la siguiente operación, con base en la frecuencia de uso: sumatoria de las respuestas seleccionadas para lateralidad derecha menos la sumatoria de las respuestas seleccionadas para lateralidad izquierda; el resultado se divide entre la sumatoria de las respuestas seleccionadas para lateralidad derecha más la sumatoria de las respuestas seleccionadas para lateralidad izquierda. El resultado de la división se multiplica por 100. Una puntuación >40 indica que el participante es diestro. Los participantes ambidiestros y zurdos fueron excluidos del estudio.

7.3.5 Inventario de depresión de Beck

Es un instrumento de lápiz y papel autoaplicable que evalúa la presencia de síntomas relacionados con depresión en una persona. Se compone de 21 grupos de frases, cada grupo contiene 4 oraciones que evalúan un síntoma, el participante debía elegir la oración que mejor describiera la forma en la que se

había sentido la última semana, incluyendo el día de la aplicación. A cada oración le corresponde una puntuación entre 0 y 3. Para calificar el instrumento, únicamente se suma el puntaje dado a cada frase. Las personas que obtuvieron un puntaje igual o mayor a 30 fueron excluidos del experimento.

7.3.6 Inventario de ansiedad de Beck

Es un cuestionario de lápiz y papel autoaplicable que evalúa la presencia de síntomas relacionados con ansiedad en una persona. Consta de 21 reactivos que describen síntomas como calor, terror, sensación de ahogo, o nerviosismo. Cada reactivo se puntúa entre 0 y 3; 0 significa una frecuencia de “poco o nada”; 1 significa “más o menos”; 2 “moderadamente” y 3 “severamente”. El participante debía responder a los síntomas que había experimentado durante la última semana incluyendo el día de la aplicación. La puntuación total se obtiene con la suma de la puntuación en cada reactivo. Las personas que obtuvieron un puntaje igual o mayor a 26 fueron excluidos del estudio.

7.3.7 Sub-escala verbal de la Escala de Inteligencia de Wechsler para Adultos para población mexicana en su versión revisada WAIS-R

Es una subescala no autoaplicable que evalúa el manejo de vocabulario que posee una persona, la puntuación resultante se correlaciona con el Coeficiente Intelectual General del WAIS-R y con otras pruebas de inteligencia (Wechsler, 1981). Esta escala está compuesta por 40 palabras y el participante tenía que proporcionar el significado de forma oral. Los reactivos de esta subescala tienen

respuestas estandarizadas que indican una clave para la clasificación por puntaje (2, 1 ó 0 puntos) de la respuesta dada por el participante. Para esta investigación sólo se incluyeron a las personas que obtuvieron un puntaje normal.

7.4 MATERIALES

Para la adquisición de la muestra de saliva para los análisis de genotipificación se utilizó el Kit Comercial Oragene-DNA Self-Collection OG-500[®] (DNA-GENOTEK).

7.5 APARATOS

Para realizar el experimento se utilizó una computadora portátil con el software E-Prime v.1.2. Con este software se controló la presentación de la tarea y la obtención de las respuestas de los participantes. Asimismo, se ocuparon dos cajas de respuesta, una para la mano derecha y otra para la mano izquierda; el participante, con cada uno de sus dedos índice, presionó el botón correspondiente a la tarea.

7.6 ESTÍMULOS

Se presentaron 180 palabras en total de entre 5-11 letras con un ángulo visual horizontal entre 1.66° y 3.73°; y un ángulo visual vertical de 0.45°. Se registró el tiempo de reacción y el porcentaje de respuestas correctas.

Las palabras se clasificaron por 10 jueces entre concretas y abstractas. Sólo aquellas palabras que fueron juzgadas como concretas o abstractas por 9 de 10 jueces fueron empleadas en este estudio.

De acuerdo a la Real Academia Española (RAE), se define como concreto: “aquello que significa algo material y preciso”, mientras que abstracto como: “alguna cualidad con exclusión del participante, que no es material”. Estas definiciones fueron las empleadas en el estudio.

7.6.1 Tarea de memoria episódica.

Esta tarea consta de dos fases una de codificación y otra de reconocimiento, las cuales fueron aplicadas en dos bloques. El primer bloque (fase de codificación) se compuso por 60 ensayos; el segundo bloque (fase de reconocimiento) por 120 ensayos. Un ensayo constó de la siguiente secuencia: un asterisco como punto de fijación (300 ms), una pantalla vacía (300 ms), una palabra (800 ms) y una pantalla vacía (1300 ms) y nuevamente un asterisco (el cual indicará el inicio de un nuevo ensayo). El participante tenía 2100 ms para responder a la tarea desde el inicio de la presentación de la palabra.

La fase de codificación tenía una duración total de 2.7 min y la fase de reconocimiento una duración total de 5.4 min. El Intervalo entre bloques fue de 3 min. (Figura 8)

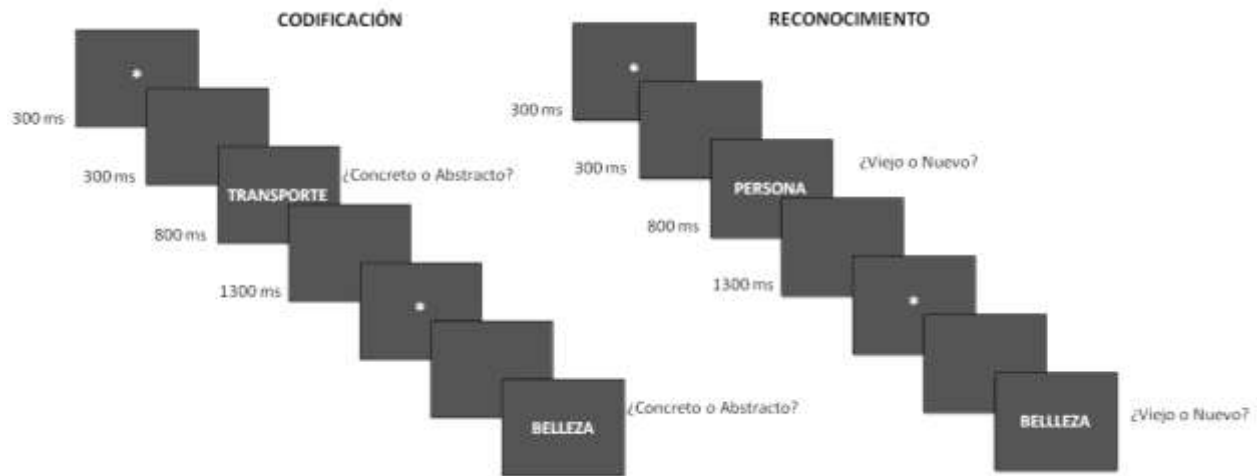


Figura 8. Tarea de reconocimiento. Presentación consecutiva de una serie de palabras donde los sujetos deben responder si es una palabra concreta o abstracta (**A**) y responder si es un estímulo viejo o nuevo (**B**). La palabra se presenta durante 800 ms con un intervalo entre estímulos de 1300 ms.

7.6.1.1 Fase de codificación.

En la primera fase hubo 60 ensayos, 30 palabras concretas y 30 abstractas. El participante tenía la instrucción de clasificar cada palabra, de acuerdo a si su significado era concreto (presionando el botón de la caja de respuesta con el dedo índice de una de sus manos) o abstracto (presionando un botón de la caja de respuesta con el dedo índice de su otra mano). La mano con que se respondió a cada tipo de palabra se contrabalanceó entre participantes. Previamente, se le definió al participante el concepto de concreto y abstracto para evitar ambigüedades. Posteriormente se le presentó la fase de reconocimiento descrita en el siguiente apartado. El participante no sabía que habría fase de reconocimiento.

7.6.1.2 Fase de reconocimiento.

En la segunda fase de reconocimiento, hubo 120 ensayos; 60 palabras fueron viejas, es decir, las presentadas en la fase de codificación, y 60 palabras nuevas, de manera aleatorizada. La tarea del participante consistió en responder si la palabra que estaba viendo en ese momento en la pantalla era vieja (presionando un botón de la caja de respuesta con el dedo índice de una de sus manos) o nueva (presionando el botón de la caja de respuesta con el dedo índice de su otra mano). Igualmente, se contrabalanceó la mano con que se respondió a cada tipo de palabra, vieja vs. nueva.

A continuación se detalla el procedimiento utilizado con los participantes.

7.7 PROCEDIMIENTO

La participación de la persona inició con la lectura de la carta de consentimiento informado, en que se describieron aspectos de la investigación y sobre lo que el participante realizaría a lo largo de la entrevista y la sesión experimental. Si el participante aceptaba continuar con el procedimiento, debía firmarla. Después, se realizó una entrevista estructurada en la cual se aplicaron diversos instrumentos: Cuestionario de Datos Generales, Inventario de Edimburgo, Cuestionario de Consumo de Sustancias Psicoactivas; Cuestionario de dependencia a cafeína, nicotina y alcohol, Inventario de Depresión y Ansiedad de Beck y la Subescala verbal de la Escala de Inteligencia de Weschler para Adultos para población mexicana en su versión revisada WAIS-R. Si el participante cumplía con todos los criterios de inclusión se continuaba con la sesión experimental.

A continuación la sesión experimental, que se llevó a cabo en un cuarto de experimentación aislado, sin ruido y con luz. Una vez que el participante ingresó al cuarto se le pidió tomar asiento, que ubicara su mirada al centro del monitor y se verificaba que se encontrara a un metro de distancia de la pantalla. Se iniciaría la tarea de codificación en computadora, seguida de la de reconocimiento. En cada una, se le solicitó al participante leer las instrucciones en silencio y que posteriormente explicara lo que tenía que hacer. Se le pidió que se pusiera unos auriculares con el fin de mitigar cualquier ruido exterior y, después de parafrasear las instrucciones, si no tenía alguna duda, podía iniciar la tarea cuando se estuviera preparado.

Al finalizar la sesión, se le solicitó al participante una muestra de saliva en los dispositivos Oragene (DNA-GENOTEK).

7.8 GENOTIPIFICACIÓN

Para la obtención de las muestras de saliva de los participantes se utilizó el Kit Comercial Orangene-DNA Self-Collection OG-500[®] (DNA-GENOTEK). La extracción de ADN se realizó con el método comercial prepIT-L2P[®] (DNA-GENOTEK). Se midió la concentración y pureza de las muestras mediante la detección de la absorbancia a 260 y 280 nm utilizando el espectrofotómetro Nanodrop ND-1000[®] (Termo Fisher Scientific), siguiendo las indicaciones del proveedor, asegurando que las muestras se encontrarán dentro del rango de 1.7 a 2 de la proporción 260/280 nm, que indica calidad aceptable para análisis de PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*). Con base en los datos de

concentración obtenidos en el paso anterior se realizaron diluciones para homologar las muestras a una concentración de 10ng/μL. La genotipificación para el rs2180619 se realizó mediante ensayo de discriminación alélica con tecnología TaqMan[®], empleando el termociclador en tiempo real VIIA7 (Life Technologies[®]) siguiendo el protocolo descrito por el fabricante. Se utilizaron sondas TaqMan[®] específicas para el rs2180619 (Applied Biosystems, TaqMan[®] SNP Genotyping, On demand Assay cat. #4351379 C_15241551_10) siguiendo el protocolo del proveedor.

7.9 ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizó una Ji cuadrada (χ^2), Kruskal-Wallis o Análisis de Varianza de una vía (dependiendo de cuál fuera la prueba estadística apropiada) para hacer la descripción sociodemográfica de la muestra y controlar que las diferencias obtenidas en memoria episódica no fueran explicadas por alguna de estas variables (Ver Tabla 1). De igual manera, se aplicó una χ^2 para verificar si las frecuencias genotípicas observadas estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Fase codificación: se analizaron el porcentaje de respuestas correctas e incorrectas (%RC y %RI) y los tiempos de reacción (TR), definido como el intervalo temporal más rápido, medido en milisegundos, desde el inicio de la presentación del estímulo hasta la ejecución de la respuesta. Estas variables se analizaron a través de un análisis de varianza (ANOVA) mixto; el factor entre-grupos fue el genotipo del rs2180619 (AA, AG y GG) y el factor intra-grupos, el tipo de palabra (concreta vs. abstracta).

Fase de reconocimiento: se analizó d' como medida de discriminación entre los estímulos viejos vs. nuevos; se empleó esta medida para disminuir la probabilidad de observar respuestas correctas debidas a falsas alarmas. Además se analizaron el %RC y el TR. Todas estas variables se analizaron a través de un ANOVA mixto; el factor entre-grupos fue el genotipo del rs2180619 (AA, AG y GG) y el factor intra-grupos fue palabra vieja vs. nueva.

Además, se analizó la primacía/recencia: se evaluó la probabilidad (p) de respuesta correcta en función de la posición serial de las palabras (tomando como punto de corte cada veinte palabras) a través de un ANOVA mixto. El factor entre-grupos fue el genotipo del rs2180619 (AA, AG y GG), el factor intra-grupo fue la posición serial (Primeras vs. Últimas).

Se consideraron significativos los resultados con una $P < 0.05$. Se utilizó la prueba *post hoc* de *Tukey Honest Significant Difference* (HSD) para N desiguales con el fin de detectar las interacciones significativas entre los factores.

8. RESULTADOS

Las frecuencias genotípicas para el rs2180619 en la muestra analizada fueron AA n=42, AG n=94 y GG n=33. En la figura 9 se muestran los porcentajes de estas frecuencias genotípicas. Los genotipos del rs2180619 estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2_2=2.15$, $p=0.14$).

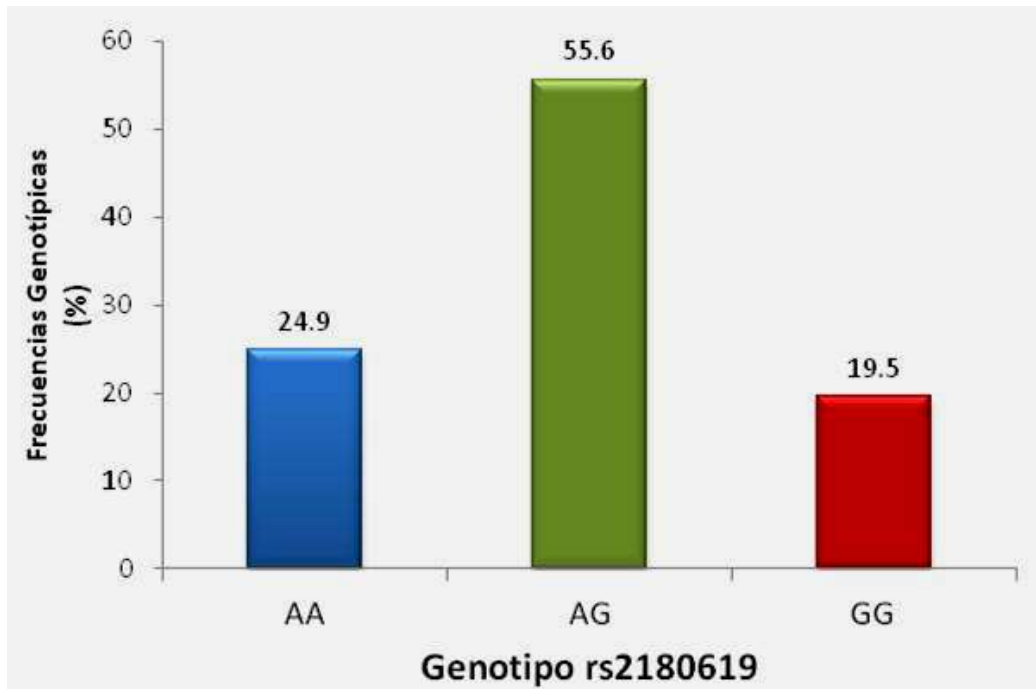


Figura 9. Distribución de las frecuencias genotípicas, en porcentaje, del rs2180619 del gen CNR1 de 169 adultos jóvenes mexicanos (AA, AG y GG).

La Tabla 1 muestra las variables demográficas y descriptivas de los genotipos, así como los resultados estadísticos. No se observaron diferencias significativas en las variables en función del genotipo (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas y descriptivas de los genotipos del rs2180619 (AA, AG y GG). Se muestran los resultados estadísticos para cada variable. No se encontraron diferencias significativas en ninguna variable entre los grupos ($P > 0.05$).

	Genotipos rs2180619			Prueba estadística	P
	AA	AG	GG		
n (#)	42	94	33		
Hombres/Mujeres (#)	17/25	40/54	12/21	$\chi^2_2=0.39$	0.82
Edad (años) (Media±EEM)	22.86±0.38	22.73±0.29	23.33±0.51	F(2,166)=0.59	0.55
Años de estudio (Media±EEM)	16.07±0.28	15.81±0.18	15.92±0.32	F(2,166)=0.30	0.73
Inventario de lateralidad de Edinburgo [Media (Rango)]	85.60 (55-100)	86.26 (45-100)	89.31 (60-100)	H(2, N=168)=0.40	0.81
Sub-escala verbal de Escala de Inteligencia de Weschler para Adultos [Media (Rango)]	42.07 (22-54)	40.49 (24-56)	43.33 (30-58)	F(2,166)=2.35	0.09
Inventario de Depresión de Beck [Mediana (Rango)]	6 (17)	5 (19)	4 (23)	H(2, N=169)=0.52	0.76
Inventario de Ansiedad de Beck [Mediana (Rango)]	5 (22)	4 (19)	4 (25)	H(2, N=169)=1.57	0.45
Índice de masa corporal (Kg/m ²) (Media±EEM)	22.34±0.80	23.73±0.33	22.93±0.63	F(2,166)=2.03	0.13

EEM= Error Estándar de la Media

Fase de codificación.

En los TR no se observaron diferencias significativas en función del genotipo (AA, AG y GG) ($p=0.79$). Se observaron diferencias significativas en función de la categoría (concreto vs. abstracto) ($F(1, 161)=20.84, p<.0001$) y la interacción Genotipo x Categoría ($F(2, 161)=6.1569, p=0.002$); (Figura 10). El análisis *post-hoc* mostró que las diferencias significativas se encuentran intra-grupo en los genotipos AA y AG en función de la categoría. No se observaron diferencias significativas para el genotipo GG.

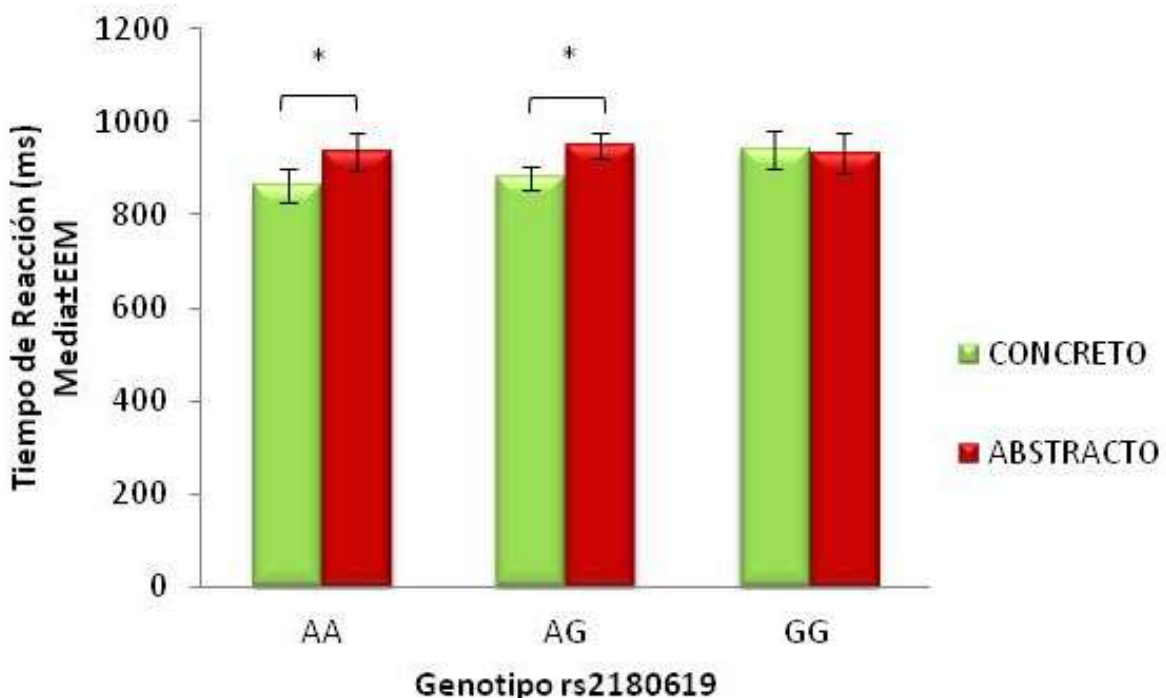


Figura 10. Media \pm error estándar de la media (EEM) de los tiempos de reacción en función de la categoría (concreta vs. abstracta), en cada genotipo rs2180619 (AA, AG y GG). Se encontró una diferencia en los tiempos de reacción en los participantes AA y AG cuando la palabra es concreta en comparación con las abstractas [$F(2,161)=6.1569, p=0.002^*$]. No se encontraron diferencias significativas en los tiempos de reacción para los participantes GG en función de la categoría. No se observaron diferencias significativas entre grupos.

También resultó significativo el efecto de ejecución (correcta vs. incorrecta) ($F(1, 161)=59.20, p<.0001$) y la interacción Genotipo x Ejecución ($F(2, 161)=5.2282, p=0.006$; (Figura 11). El análisis *post-hoc* mostró que las diferencias significativas se encuentran en la ejecución (correcta vs. incorrecta). Todos los genotipos tienen menores tiempos de reacción cuando responden de manera correcta vs. incorrecta. No se observaron diferencias entre los genotipos ($p>0.05$).

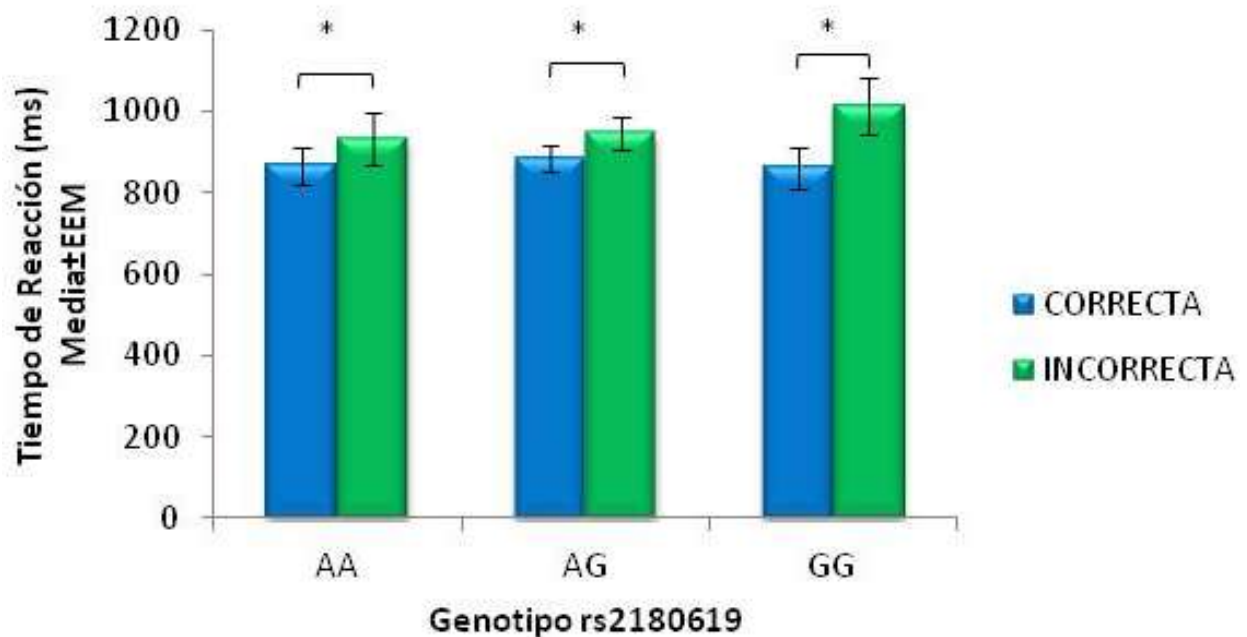


Figura 11. Media \pm EEM de los tiempos de reacción en función del genotipo rs2180619 y la ejecución (correcta vs. incorrecta). Se encontró una diferencia en los tiempos de reacción en los participantes AA y AG cuando la palabra es concreta en comparación con las abstractas [$F(2,161)=5.22.82, p=0.006^*$].

Se encontró una interacción significativa entre los factores Genotipo x categoría y ejecución ($F(2, 161)=4.9565, p=0.008$) (Figura 12). Los participantes AA y AG responden más rápidamente ante las palabras concretas de manera correcta que ante las abstractas de manera correcta y los GG tardan más en

responder a las palabras concretas y abstractas de manera incorrecta que de manera correcta. No se observaron diferencias entre los genotipos ($p > 0.05$).

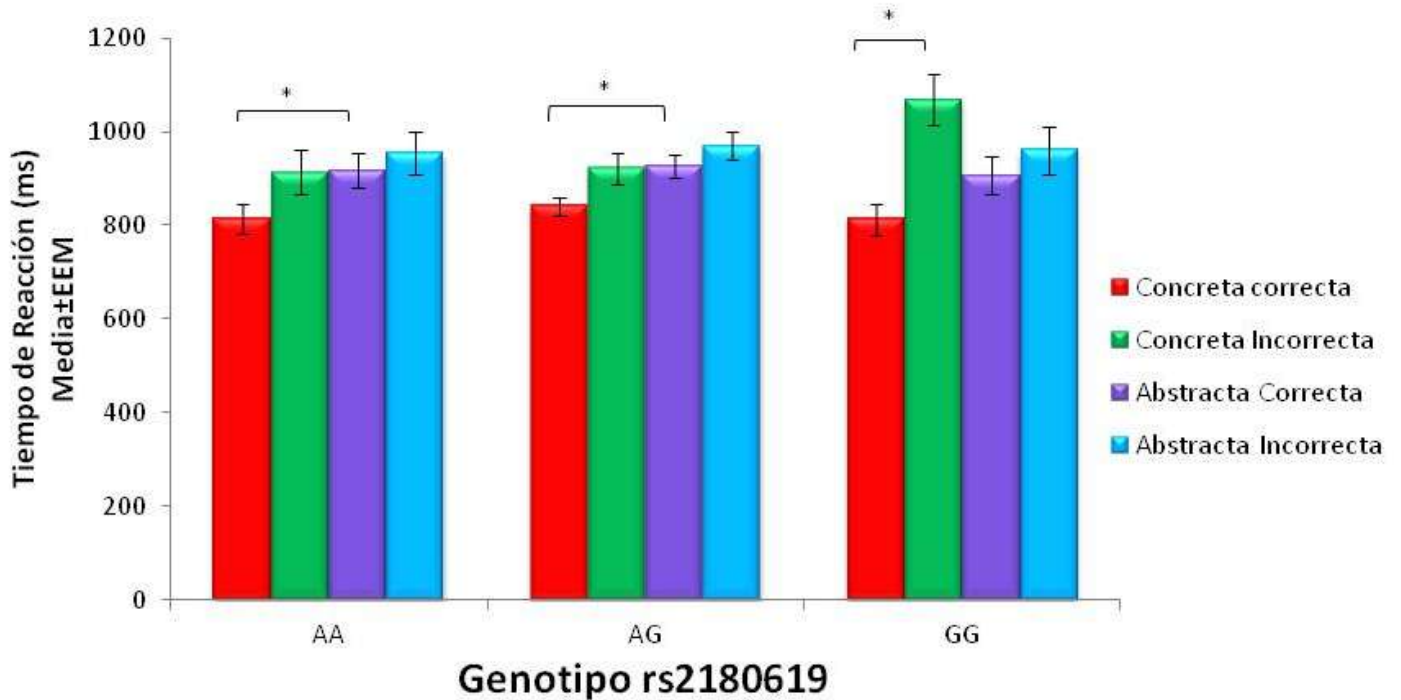


Figura 12. Media \pm EEM de los tiempos de reacción en función del genotipo rs2180619, la categoría (concreta vs. abstracta) y la ejecución (correcta vs. incorrecta). Se encontró una diferencia en los tiempos de reacción en los participantes AA y AG cuando respondían correctamente a las palabras concretas en comparación con las abstractas, mientras que los GG difirieron en la ejecución solo ante las palabras concretas [$F(2,161)=4.9565$, $p=0.008^*$].

Fase de reconocimiento.

No se observaron diferencias significativas entre Genotipos (AA, AG y GG) para las variables d' , % RC y TR.

Primacía/Recencia

En el análisis de la probabilidad no se observaron diferencias significativas en función del genotipo (AA, AG y GG) ($p=0.48$). Se encontraron diferencias significativas en función de la posición serial (Primacía vs. Recencia) ($F(1,166)=32.72$, $p<0.0001$) y una interacción Genotipo x Posición Serial ($F(2,166)=3.72$, $p=0.02$; (Figura 13). El análisis *post-hoc* mostró que las diferencias se encuentran en los genotipos AA y AG, los cuales tuvieron mayor reconocimiento para las primeras veinte palabras de la codificación que para las 20 últimas, mientras que los GG no muestran esta diferencia.

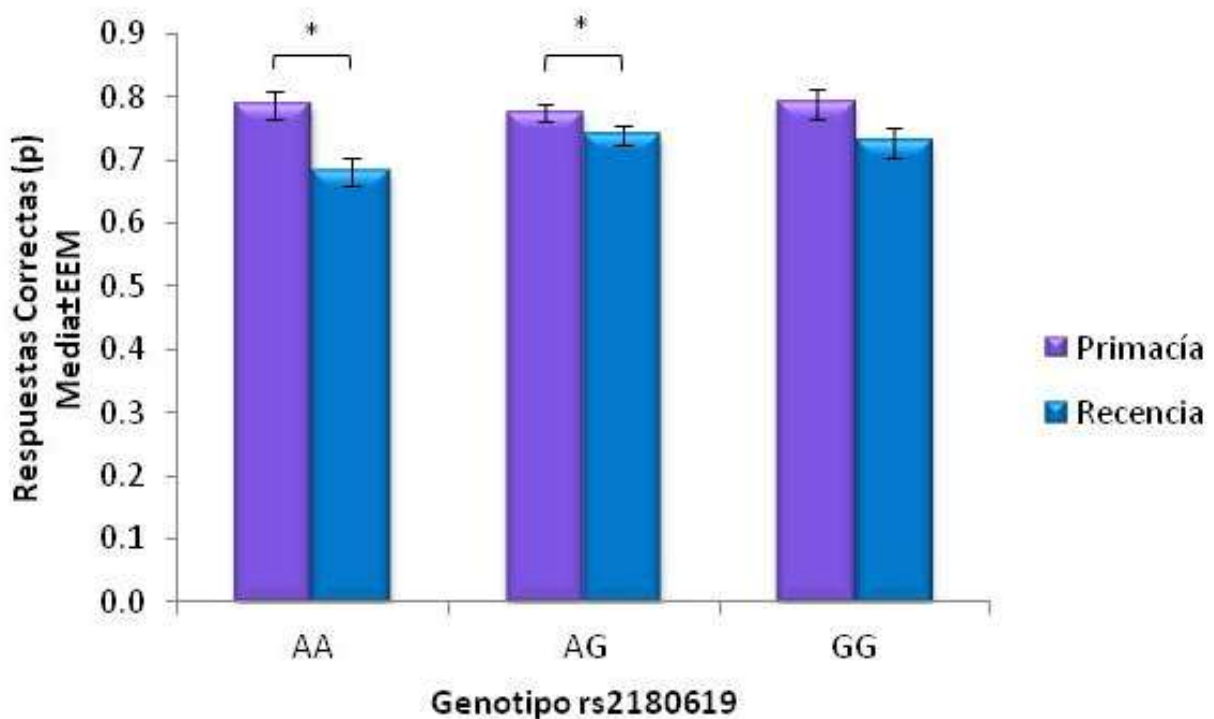


Figura 13. Media \pm EEM de la probabilidad de respuestas correctas en función de la presentación de las palabras (20 primeras vs. 20 últimas). Se encontró una diferencia en la probabilidad en los participantes AA y AG cuando las palabras se encontraban dentro de las primeras 20 en comparación con las 20 últimas [$F(2,166)=3.72$, $p=0.02^*$]. No se encontraron diferencias para los participantes GG en función del tipo de palabras (primeras vs. últimas).

Como un análisis suplementario se evaluó el efecto subsecuente de la memoria para los TR en la fase de codificación, pero no se encontraron diferencias significativas ($p=0.3691$).

9. DISCUSIÓN

Nuestra hipótesis planteaba que los participantes homocigotos G resultarían menos eficientes en la codificación y el reconocimiento, sin embargo, nuestros resultados indican que no existen diferencias entre los genotipos tanto, en codificación como en reconocimiento; pero, sí se encontró una interacción en el TR y el %RC en la codificación (ver más adelante), mientras que en reconocimiento no se encontraron resultados significativos en %RC, TR y d' , lo que nos indica que la eficiencia entre los genotipos del rs2180619 no cambian en el reconocimiento de información episódica.

En la fase de codificación observamos que los tiempos de reacción aumentaron en función de la categoría; los AA y AG emitieron más rápido su respuesta cuando la palabra fue concreta en comparación con las palabras abstractas, sin embargo, esta diferencia no se observó en los participantes GG. Diversos estudios ya han reportado estas diferencias en la velocidad de procesamiento en función del tipo de palabra (concreta vs. abstracta) en participantes sanos (Palmer et al., 2013, Xiao et al., 2012). Por ejemplo Xiao et al. (2012), demostró que en participantes sanos aumenta el tiempo de reacción significativamente cuando tienen que responder a palabras abstractas vs. concretas. Se sugiere que esto se debe a un efecto de concreción, el cual se explica por la teoría de doble codificación que se describirá más adelante. Una posible explicación a los resultados obtenidos en los participantes homocigotos G, es que el alelo G está comportándose como alelo de “riesgo” para la velocidad de procesamiento, es decir, ser homocigoto G se asocia con menor eficiencia en la

velocidad de procesamiento de palabras concretas vs. abstractas en comparación con los homocigotos A.

Existen una teoría que intenta explicar las diferencias observadas en la velocidad de procesamiento ante las palabras concretas vs. abstractas, la teoría de la codificación dual (Paivio, 1986 citado en Van Hell & De Groot, 1998). Esta teoría sostiene que existen dos subsistemas de procesamiento de la información: el sistema visual y el sistema no-visual. Las palabras concretas se pueden representar en los dos sistemas de procesamiento, es por eso que se responde más rápido ante éstas; en cambio, las palabras abstractas sólo pueden representarse en el sistema no visual (verbal) (Barber et al., 2013). Las palabras concretas tienen ventaja de procesamiento sobre las palabras abstractas porque tienen acceso a la información de múltiples sistemas (Holcomb et al., 1999). Por ejemplo, un participante puede clasificar más rápido la palabra "brazo" en comparación que la palabra "idea", porque "brazo" se representa en ambos sistemas (visual y no visual), es decir, puede representarse tanto la palabra como la imagen del objeto, mientras que "idea" solo se representa en el sistema no visual. Esta teoría podría apoyar los resultados obtenidos en el presente trabajo

También se observaron diferencias en la ejecución de la tarea, los participantes con genotipo AA y AG son más rápidos para responder correctamente cuando las palabras son concretas pero se vuelven lentos cuando la palabra es abstracta; los homocigotos G les toma el mismo tiempo responder correctamente sin importar el tipo de palabra, sin embargo, no son más eficientes que los participantes con otros genotipos.

En la fase de reconocimiento no se encontraron diferencias significativas entre las variables estudiadas. Una posible explicación de los resultados obtenidos es que en humanos la expresión del receptor CB1 es menor en el hipocampo, en comparación con otras especies, y como ya se describió anteriormente esta área cerebral se ha asociado al reconocimiento.

En los análisis suplementarios en los que se evaluaron los efectos de primacia y recencia, se observó que los participantes AA y AG recuerdan mejor las primeras veinte palabras en comparación con las últimas veinte palabras mientras que los participantes GG recuerdan tan bien las primeras como las últimas palabras, por lo cual podemos sugerir que los participantes homocigotos G son más eficientes en los efectos de primacia y recencia, ya que reconocen de igual manera los estímulos sin importar si la palabra se presentó al inicio o al final.

Los resultados obtenidos en este estudio nos indican que el rendimiento de los genotipos se relaciona más con un procesamiento semántico que con un procesamiento episódico.

Este trabajo nos permite ampliar el conocimiento acerca de la participación del sistema endocannabinoide en procesos de la memoria episódica, como la codificación, en participantes sanos y sin estar bajo los efectos de alguna sustancia exógena.

10. LIMITACIONES Y SUGERENCIAS

Sabemos que una conducta o rasgo no puede explicarse por un solo polimorfismo, por lo que sugerimos ampliar las investigaciones a otros polimorfismos presentes en el gen CNR1 y establecer alelos de riesgo.

Una limitante que tenemos es que no sabemos el efecto funcional que tiene el polimorfismo rs2180619 en la síntesis del receptor CB1, es decir, si éste puede modificar la cantidad de receptor sintetizado (disminución ó aumento). La hipótesis es que la presencia del alelo G disminuye la expresión de la cantidad de receptor CB1, sin embargo, esto todavía no ha sido demostrado.

Una limitante en nuestro estudio es que no evaluamos el nivel de procesamiento (Profundo vs. Superficial), para ello sugerimos diseñar una tarea en la que se pueda analizar estos niveles de procesamiento, con el fin de evaluar diferencias entre el tipo de procesamiento y el reconocimiento asociadas al polimorfismo rs2180619.

Por otro lado, se sugiere utilizar otras tareas que evalúen la memoria episódica, por ejemplo, tareas de recuerdo libre o recuerdo con clave; ya que puede ser que esta tarea no haya sido lo suficientemente sensible para lograr detectar diferencias en el rendimiento de los genotipos.

11. CONCLUSIÓN

No existe asociación del polimorfismo del gen CNR1 rs2180619 con el reconocimiento. Se encontró una asociación de los genotipos del polimorfismo con la velocidad de procesamiento en función del tipo de palabra, sin embargo, los participantes con genotipo GG no mostraron este efecto, sugiriendo que el procesamiento que hacen del significado de las palabras es igual. Estos resultados sugieren que el rendimiento de los genotipos del rs2180619 está relacionado con un procesamiento semántico, más que con el reconocimiento episódico.

REFERENCIAS

Baddeley, A.D., Baddeley, H. A., Bucks, R. S., & Wilcock, G. K. (2001). Attentional control in Alzheimer's disease. *Brain*, 124, 1492-1508.

Ballon, N., Leroy, S., Roy, C., Bourdel, M. C., Charles-Nicolas, A., Krebs, M. O., et al. (2006). (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene (CNR1): association with cocaine addiction in an African-Caribbean population. *The Pharmacogenomics Journal*, 6, 126-130.

Baluch, F., & Itti, L. (2011). Mechanisms of top-down attention. *Trends in Neurosciences*, 210-224.

Barber, H. A., Otten, L. J., Kousta, S.-T., & Vigliocco, G. (2013). Concreteness in word processing: ERP and behavioral effects in a lexical decision task. *Brain & Language*, 125, 47-53.

Bertolino, A., Rubino, A., Sambataro, F., Blasi, G., Latorre, V., Fazio, L., Caforio, G., Petruzzella, V., et al. (2006). Prefrontal-Hippocampal Coupling During Memory Processing Is Modulated by COMT Val158Met Genotype. *Biological Psychiatry*, 60, 1250-1258.

Bhatarah, P., Ward, G., Smith, J., & Hayes, L. (2009). Examining the relationship between free recall and immediate serial recall: Similar patterns of rehearsal and similar effects of word length, presentation rate, and articulatory suppression. *Memory & Cognition*, 37, 689-713.

Binder, J. R., & Desai, R. H. (2011). The Neurobiology of Semantic Memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 15, 527-536.

Binder, J. R., Westbury, C. F., McKiernan, K. A., Possing, E. T., & Medler, D. A. (2005). Distinct Brain Systems for Processing Concrete and Abstract Concepts. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 17, 905-917.

Bisogno, T., Ligresti, A., & Di Marzo, V. (2005). The endocannabinoid signalling system: Biochemical aspects. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 81, 224-238.

Bisogno, T., Melck, D., Brobov, M. Y., Gretskaya, N. M., Bezuglov, V. V., De Petrocellis, L., et al. (2000). N-acyl-dopamines: novel synthetic CB1 cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro. *Biochemical Journal*, 351, 817-824.

Bjork, R. A., & Whitten, W. B. (1974). Recency-Sensitive Retrieval Processes in Long-Term Free Recall. *Cognitive Psychology*, 6, 173-189.

Bossong, M. G., Jansma, M., Van Hell, H. H., Jager, G., Oudman, E., Saliassi, E., et al. (2012). Effects of 9-Tetrahydrocannabinol on Human Working Memory Function. *Biological Psychiatry*, 71, 693-699.

Burns, H. D., Van Laere, K., Sanabria-Bohorquez, S., Hamill, T. G., Bormans, G., Eng, W. S., et al. (2007). [18F]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 Sciences of the United States of America*, 104, 9800-9805.

Cabeza, R., & Nyberg, L. (2000). *Imaging Cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI Studies*. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 12, 1-47.

Chiu, C. Q., Puente, N., & Castillo, P. E. (2010). Dopaminergic Modulation of Endocannabinoid-Mediated Plasticity at GABAergic Synapses in the Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 30, 7236-7248.

Cho, K. W. (2012). *Enhancers: WIRE Review*. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 1, 469-478.

Chowdhury, R., Guitart-Masip, M., Bunzeck, N., Dolan, R. J., & Düzel, E. (2012). Dopamine Modulates Episodic Memory Persistence in Old Age. *The Journal of Neuroscience*, 32, 14193-14204.

Cold, G. E., & Dahl, B. L. (2003). *Neuoanestesia y cuidados neurointensivos: estudios clínicos experimentales sobre corulación cerebral, metabolismo cerebral y presión intracraneal*. España: Elsevier

Cousijn, J., Wiers, R. W., Ridderinkhof, K. R., Brink, W. v., Veltman, D. J., & Goudriaan, A. E. (2012). Grey matter alterations associated with cannabis use: Results of a VBM study in heavy cannabis users and healthy controls. *NeuroImage*, 59, 3845-3851.

Craik, F. I. (2002). Levels of processing: Past, present... and future? *Memory*, 305-318.

Cravatt, B. F., Prospero García, O., Siuzdak, G., Gilula, N. B., Henriksen, S. J., Boger, D. L., et al. (1995). Chemical characterization of a family brain lipids that induce sleep. *Science*, 268, 1506-1509.

Day, M., Langston, R., & Morris, R. G. (2003). Glutamate-receptor-mediated encoding and retrieval of paired-associate learning. *Letters to Nature*, 424, 205-209.

De Quervain, D. J.-F., Henke, K., Aerni, A., Coluccia, D., Wollmer, M. A., Hock, C., et al. (2003). A functional genetic variation of the 5-HT_{2a} receptor affects human memory. *Nature Neuroscience*, 6, 141-142.

Dennis, N. A., Cabeza, R., Need, A. C., Waters-Metenier, S., Goldstein, D. B., & LaBar, K. S. (2011). Brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and hippocampal activation during episodic encoding and retrieval tasks. *Hippocampus*, 21, 980-989.

Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., et al. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 258, 1946-1949.

- Dewar, M., Brown, G. D., & Della Sala, S. (2011). Restoring primacy in amnesic free recall: Evidence for the recency theory of primacy. *Cognitive Neurophychology*, 386-396.
- Di Marzo, V., & De Petrocellis, L. (2006). Plant, synthetic, and endogenous cannabinoids in medicine. *Annual Review of Medicine*, 57, 553-574.
- Di Marzo, V., Bifulco, M., & De Petrocellis, L. (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 771-784.
- Dickerson, B. C., & Eichenbaum, H. (2010). The Episodic Memory System: Neurocircuitry and Disorders. *Neuropsychopharmacology*, 35, 86-104.
- Donaldson, D. I., Wheeler, M. E., & Petersen, S. E. (2003). Remember the Source: Dissociating Frontal and Parietal Contributions to Episodic Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22, 377-391.
- D'Souza, D. C., Perry, E., MacDougall, L., Ammerman, Y., Cooper, T., Wu, Y.-t., et al. (2004). The Psychotomimetic Effects of Intravenous Delta-9-Tetrahydrocannabinol in Healthy Individuals: Implications for Psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 29, 1558-1572.
- Egan, M. F., Kojima, M., Callicott, J. H., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Bertolino, A., et al. (2003). The BDNF val66met Polymorphism Affects Activity-Dependent Secretion of BDNF and Human Memory and Hippocampal Function. *Cell*, 112, 257-269.
- Ehlers, C. L., Slutske, W. S., Lin, P. A., & Wilhelmsen, K. C. (2007). Association between single nucleotide polymorphisms in the cannabinoid receptor gene (CNR1) and impulsivity in southwest California Indians. *Twin Research and Human Genetics*, 10, 805-811.
- Eichenbaum, H., Yonelinas, A. R., & Ranganath, C. (2007). The medial temporal lobe and recognition memory. *Annual Reviews of Neuroscience*, 30, 123-152.
- Farovik, A., Dupont, L. M., Arce, M., & Eichenbaum, H. (2008). Medial Prefrontal Cortex Supports Recollection, But Not Familiarity, in the Rat. *The Journal of Neuroscience*, 28, 13428–13434.
- Fiebach, C. J., & Friederici, A. D. (2003). Processing concrete words: fMRI evidence against a specific right-hemisphere involvement. *Neuropsychologia*, 42, 62-70.
- Gallo, D. A., Meadow, N. G., Johnson, E. L., & Foster, K. T. (2008). Deep levels of processing elicit a distinctiveness heuristic: Evidence from the criterial recollection task. *Journal of Memory and Language*, 58, 1095-1111.
- Gamage, T. F., & Lichtman, A. H. (2012). The Endocannabinoid System: Role in Energy Regulation. *Pediatric Blood & Cancer*, 58, 144-148.
- Gonzalez, R., Schuster, R. M., Mermelstein, R. J., Vassileva, J., Martin, E. M., & Diviak, K. R. (2012). Performance of Young Adult Cannabis Users on Neurocognitive Measures Of Impulsive Behavior

and their Relationship to Symptoms of Cannabis Use Disorders. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 34, 962-976.

Göthert, M., Propping, p., Bönisch, H., Brüss, M., & Nöthen M. M. (1998). Genetic variation 5-HT receptors: potential pathogenetic and pharmacological role. *Annals of the New York Academy Sciences*, 861, 26-30.

Gottlieb, L. J., Uncapher, M. R., & Rugg, M. D. (2010). Dissociation of the neural correlates of visual and auditory contextual encoding. *Neuropsychologia*, 48, 137-144.

Grotenhermen, F. (2006). Los cannabinoides y el sistema endocannabinoide. *Cannabinoids*, 1, 10-14.

Guzmán, M. (2003). Cannabinoids: potential anticancer agents. *Nature reviews cancer*, 3, 745-755.

Haramati, S., Soroker, N., & Dudai, Y. (2008). The posterior parietal cortex in recognition memory: a neuropsychological study. *Neuropsychologia*, 46, 1756–1766.

Hariri, A. R., Goldberg, T. E., Mattay, V. S., Kolachana, B. S., Callicott, J. H., Egan, M. F., et al. (2003). Brain-Derived Neurotrophic Factor val66met Polymorphism Affects Human Memory-Related Hippocampal Activity and Predicts Memory Performance. *The Journal of Neuroscience*, 23, 6690-6694.

Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 16, 710-715.

Holcomb, P. J., Kounios, J., Anderson, J. E., West, W. C. (1999). Dual-Coding, Context-Availability, And Concreteness Effects in Sentence Comprehension: An Electrophysiological Investigation. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory & Cognition*, 25, 721-742.

Hoehe, M. R., Caenazzo, L., Martinez, M. M., Hsieh, W. T., Modi, W. S., Gershon, E. S., et al. (1991). Genetic and physical mapping of the human cannabinoid receptor gene to chromosome 6q14-q15. *The New Biologist*, 3, 880-885.

Howlett, A.C., Barth, F., Bonner, T. I., Cabral, G., Casellas, P., Devane, W. A., et al. (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews*, 54, 880-885.

Howlett, A. C., Breivogel, C. S., Childers, S. R., Deadwyler, S. A., Hampson, R. E., & Porrino, L. J. (2004). Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*, 47, 345-358.

Howlett, C. A., Blume, L. C., & Dalton, G. D. (2010). CB₁ Cannabinoid Receptors and their Associated Proteins. *Current Medicinal Chemistry*, 14, 1382-1393.

- Kahn, I., Davachi, L., & Wagner, A. D. (2004). Functional–Neuroanatomic Correlates of Recollection: Implications for Models of Recognition Memory. *The Journal of Neuroscience*, 24, 4172-4180.
- Kandel, E. R., Kupfermann, I., & Iversen, S. (2000). Learning and Memory. En E. R. Kandel, J. H. Schwartz, & T. M. Jessell, *Principles of Neural Science* (págs. 1227-1246). New York: McGraw-Hill.
- Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Hashimoto-dani, Y., Uchigashima, M., & Watanabe, M. (2009). Endocannabinoid-Mediated Control of Synaptic Transmission. *Physiological Review*, 89, 309-380.
- Kim, H., Daselaar, S. M., & Cabeza, R. (2010). Overlapping brain activity between episodic memory encoding and retrieval: Roles of the task-positive and task-negative networks. *NeuroImage*, 49, 1045–1054.
- Kirwan, C. B., & Stark, C. E. (2004). Medial Temporal Lobe Activation During Encoding and Retrieval of Novel Face-Name Pairs. *Hippocampus*, 14, 919-930.
- Klug, W. S., Cummings, M. R., Spencer, C. A., & Palladino, M. A. (2013). *Conceptos de genética*. España: Pearson Educación.
- Knight, J. C. (2005). Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. *Journal of Molecular Medicine*, 83, 97-109.
- Konishi, S., Wheeler, M. E., Donaldson, D. I., & Buckner, R. L. (2000). Neural Correlates of Episodic Retrieval Success. *NeuroImage*, 12, 276-286.
- Krishnan, V. G., & Westhead, D. R. (2003). A comparative study of machine-learning methods to predict the effects of single nucleotide polymorphisms on protein function. *Bioinformatics*, 19, 2199-2209.
- Lazary, J. (2010). Serotonin transporter gene and negative life change events are associated with depressive phenotype. *Neuropsychopharmacologia Hungarica*, 12, 347-354.
- Lazary, J., Lazary, A., Gonda, X., Benko, A., Molnar, E., Hunyady, L., et al. (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: Neuropsychiatric Genetics*, 150B, 1118–1127.
- Lazary, J., Lazary, A., Gonda, X., Benko, A., Molnar, E., Juhasz, G., et al. (2008). New Evidence for the Association of the Serotonin Transporter Gene (SLC6A4) Haplotype, Threatening Life Events, and Depressive Phenotype. *Biological Psychiatry*, 64, 498–504.
- Lisman, J., Grace, A. A., & Duzel, E. (2011). A neoHebbian framework for episodic memory; role of dopamine-dependent late LTP. *Trends Neuroscience*, 34, 536-547.

- Long, N. M., Burke, J. F., & Kahana, M. J. (2014). Subsequent memory effect in intracranial and scalp EEG. *NeuroImage*, 84, 488-494.
- MacLeod, A. K., Buckner, R. L., Miezin, F. M., Petersen, S. E., & Raichle, M. E. (1998). Right Anterior Prefrontal Cortex Activation during Semantic Monitoring and Working Memory. *Neuroimage*, 7, 41-48.
- Mahmood, O. M., Jacobus, J., Bava, S., Scarlett, A., & Tapert, S. F. (2010). Learning and Memory Performances in Adolescent Users of Alcohol and Marijuana: Interactive Effects. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 71, 885-894.
- Marshall, J. F., & O'Dell, S. J. (2012). Methamphetamine influences on brain and behavior: Unsafe at any speed? *Trends in Neurosciences*, 536-545.
- Martín, M. E., Sasson, Y., Crivelli, L., Roldán Gerschovich, E., Campos, J. A., Calcagno, M. L., et al. (2013). Relevancia del efecto de posición serial en el diagnóstico diferencial entre el deterioro cognitivo leve, la demencia de tipo Alzheimer y el envejecimiento normal. *Neurología*, 219-225.
- Marzi, T., & Viggiano, M. P. (2010). Deep and shallow encoding effects on face recognition: An ERP study. *International Journal of Psychophysiology*, 78, 239-250.
- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., & Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 346, 561-564.
- McAllister, S. D., & Glass, M. (2002). CB1 and CB2 receptor-mediated signalling: a focus on endocannabinoids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 5, 161-171.
- Monteleone, P., Bifulco, M., Maina, G., Tortorella, A., Gazzo, P., Proto, M. C., et al. (2010). Investigation of CNR1 and FAAH endocannabinoid gene polymorphisms in bipolar disorder and major depression. *Pharmacological Research*, 61, 400-404.
- Morcom, A. M., Bullmore, E. T., Huppert, F. A., Lennox, B., Prasad, A., Linnington, H., et al. (2010). Memory Encoding and Dopamine in the Aging Brain: A Psychopharmacological Neuroimaging Study. *Cerebral Cortex*, 743-757.
- Morgan, C. J., Mofeez, A., Brandner, B., Bromley, L., & Curran, V. (2004). Acute Effects of Ketamine on Memory Systems and Psychotic Symptoms in Healthy Volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 29, 208-218.
- Munro, S., Thomas, K. L., & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365, 61-65.
- Murray, L. J., & Ranganath, C. (2007). The Dorsolateral Prefrontal Cortex Contributes to Successful Relational Memory Encoding. *The Journal of Neuroscience*, 5515-5522.

NCBI. (s.f.). National Center for Biotechnology Information. Recuperado el 29 de 01 de 2013, de http://es.wikipedia.org/wiki/Centro_Nacional_para_la_Informaci3n_Biotecnol3gica

Nicoll, G., Davidson, S., Shanley, L., Hing, B., Lear, M., McGuffin, P., et al. (2012). Allele-specific Differences in Activity of a Novel Cannabinoid Receptor 1 (CNR1) Gene Intronic Enhancer in Hypothalamus, Dorsal Root Ganglia, and Hippocampus. *The Journal of Biological Chemistry*, 287, 12828-12834.

Nyberg, L., Marklund, P., Persson, J., Cabeza, R., Forkstam, C., & Petersson, K. M. (2003). Common prefrontal activations during working memory, episodic memory, and semantic memory. *Neuropsychologia*, 41, 371-377.

Otten, L. J., Henson, R. N., & Rugg, M. D. (2001). Depth of processing effects on neural correlates of memory encoding. *Brain*, 124, 399-412.

Paller, K. A., & Wagner, A. D. (2002). Observing the transformation of experience into memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 93-102.

Palmer, S. D., MacGregor, L. J., & Havelka, J. (2013). Concreteness effects in single-meaning, multi-meaning and newly acquired words. *Brain Research*, 1538, 135-150.

Pattij, T., Wiskerke, J., & Schoffelmeer, A. N. (2008). Cannabinoid modulation of executive functions. *European Journal of Pharmacology*, 585, 458-463.

Pierce, B. A. (2010). *Genética: Un enfoque conceptual*. España: Panamericana

Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Review* 4, 873-884.

Pistis, M., Ferraro, L., Pira, L., Giovanna Flore, G., Tanganelli, S., Gessa, G. L., et al. (2002). Δ^9 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.

Porter, A. C., Sauer, J.-M., Knierman, M. D., Becker, G. W., Berna, M. J., Bao, J., et al. (2002). Characterization of a Novel Endocannabinoid, Virodhamine, with Antagonist Activity at the CB1 Receptor. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301, 1020-1024.

Puighermanal, E., Busquets-Garcia, A., Maldonado, R., & Ozaita, A. (2012). Cellular and intracellular mechanisms involved in the cognitive impairment of cannabinoids. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 367, 3254-3263.

Ranganath, C., Johnson, M. K., & D'Esposito, M. (2003). Prefrontal activity associated with working memory and episodic long-term memory. *Neuropsychologia*, 41, 378-389.

Romano-López, A., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A. E., Carrisoza, R., & Prospéro-García, O. (2012). Maternal Separation and Proclivity for Ethanol Intake: A Potential Role of the Endocannabinoid System in Rats. *Neuroscience*, 223, 293-304.

Rueda-Orozco, P. E., Montes-Rodríguez, C. J., Soria-Gómez, E., Méndez-Díaz, M., & Prospéro-García, O. (2008). Impairment of endocannabinoids activity in the dorsolateral striatum delays extinction of behavior in a procedural memory task in rats. *Neuropharmacology*, 55, 55-62.

Ruiz-Contreras, A. E., Carrillo-Sánchez, K., Gómez-López, N., Vadillo-Ortega, F., Hernández-Morales, S., Carnevale-Cantoni, A., et al. (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. E., Carrillo-Sánchez, K., Ortega-Mora, I., Barrera-Tlapa, M. A., Román-López, T. V., Rosas-Escobar, C. B., et al. (2014). Performance in working memory and attentional control is associated with the rs2180619 SNP in the CNR1 gene. *Genes, Brain and Behavior*, 1-6.

Ruiz-Contreras, A. E., Delgado-Herrera, M., García-Vaca, P. A., Almeida-Rosas, G. A., Soria-Rodríguez, G., Soriano-Bautista, A., et al. (2011). Involvement of the AATn polymorphism of the CNR1 gene in the efficiency of procedural learning in humans. *Neuroscience Letters*, 494, 202-206.

Sadeh, T., Maril, A., & Goshen-Gottstein, Y. (2012). Encoding-related brain activity dissociates between the recollective processes underlying successful recall and recognition: A subsequent-memory study. *Neuropsychologia*, 50, 2317-2324.

Salwiczek, L. H., Watanabe, A., & Clayton, N. S. (2010). Ten years of research into avian models of episodic-like memory and its implications for developmental and comparative cognition. *Behavioural Brain Research*, 215, 221-234.

Savage, C. R., Deckersbach, T., Wilhelm, S., Rauch, S. L., Baer, L., Reid, T., et al. (2000). Strategic Processing and Episodic Memory Impairment in Obsessive Compulsive Disorder. *Neuropsychology*, 14, 141-151.

Schott, B. H., Seidenbecher, C. I., Fenker, D. B., Lauer, C. J., Bunzeck, N., Bernstein, H.-G., et al. (2006). The Dopaminergic Midbrain Participates in Human Episodic Memory Formation: Evidence from Genetic Imaging. *The Journal of Neuroscience*, 26, 1407-1417.

Schott, B. H., Wüstenberg, T., Wimber, M., Fenker, D. B., Zierhut, K. C., Seidenbecher, C. I., et al. (2013). The Relationship Between Level of Processing and Hippocampal–Cortical Functional Connectivity During Episodic Memory Formation in Humans. *Human Brain Mapping*, 34, 407-424.

Schröder, N., O'Dell, S. J., & Marshall, J. F. (2003). Neurotoxic Methamphetamine Regimen Severely Impairs Recognition Memory in Rats. *Synapse*, 49, 89-96.

Simons, J. S., & Spiers, H. J. (2003). Prefrontal and medial temporal lobe interactions in long-term memory. *Nature Reviews*, 637-348.

Squire, L. R. (2009). Memory and Brain Systems: 1969-2009. *The Journal of Neuroscience*, 29, 12711-12716.

Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82, 171-177.

Squire, L. R., & Knowlton, B. J. (1995). Learning about categories in the absence of memory. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*, 92, 12470-12474.

Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*, 93, 13515-13522.

St Clair-Thompson, H. L., & Allen, R. J. (2013). Are forward and backward recall the same? A dual-task study of digit recall. *Memory & cognition*, 41, 519-532.

Stadelmann, A. M., Juckel, G., Arning, L., Gallinat, J., Epplen, J. T., & Roser, P. (2011). Association between a cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism and cannabinoid-induced alterations of the auditory event-related P300 potential. *Neuroscience Letters*, 496, 60-64.

Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., et al. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: A Possible Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand in Brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 215, 89-97.

Tiwari, A. K., Zai, C. C., Likhodi, O., Voineskos, A. N., Meltzer, H. Y., Leberman, J. A., et al. (2012). Association study of Cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene in tardive dyskinesia. *The Pharmacogenomics Journal*, 12, 260-266.

Tulving, E. (1972). Episodic and semantic memory. En E. Tulving, & W. Donaldson, *Organization of memory* (págs. 381-403).

Tulving, E., & Markowitsch, H. J. (1998). Episodic and Declarative Memory: Role of the Hippocampus. *Hippocampus*, 8, 198-204.

Tyler, W. J., Alonso, M., Bramham, C. R., & Pozzo-Miller, L. D. (2002). From Acquisition to Consolidation: On the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling in Hippocampal-Dependent Learning. *Learning & Memory*, 224-237.

Unsworth, N., Brewer, G. A., & Spille, G. J. (2011). Variation in working memory capacity and episodic memory: Examining the importance of encoding specificity. *Psychonomic Bulletin & Review*, 18, 1113-1118.

Uylings, H. B., Groenewegen, H. J., & Kolb, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146, 3-17.

Van Hell, J. G., & De Groot, A. M. (1998). Disentangling Context Availability and Concreteness in Lexical Decision and Word Translation. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section A: Human Experimental Psychology*, 51, 41-63.

Varvel, S. A., Cravatt, B. F., Engram, A. E., & Lichtman, A. H. (2006). Fatty Acid Amide Hydrolase (-/-) Mice Exhibit an Increased Sensitivity to the Disruptive Effects of Anandamide or Oleamide in a Working Memory Water Maze Task. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 317, 251-257.

Wang, X., Tomso, D. J., Liu, X., & Bell, D. A. (2005). Single nucleotide polymorphism in transcriptional regulatory regions and expression of environmentally responsive genes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207, 84-90.

West, W. C., & Holcomb, P. J. (2000). Imaginal, Semantic, and Surface-Level Processing of Concrete and Abstract Words: An Electrophysiological Investigation. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 12, 1024-1037.

Winters, B. D., & Bussey, T. J. (2005). Glutamate Receptors in Perirhinal Cortex Mediate Encoding, Retrieval, and Consolidation of Object Recognition Memory. *Journal of Neuroscience*, 25, 4243-4251.

Xiao, X., Zhao, D., Zhang, Q., & Guo, C.-y. (2012). Retrieval of concrete words involves more contextual information than abstract words: Multiple components for the concreteness effect. *Brain & Language*, 120, 251-258.

Yonelinas, A. P., Kroll, N. E., Quamme, J. R., Lazzara, M. M., Suavé, M.-J., Widaman, K. F., et al. (2002). Effects of extensive temporal lobe damage or mild hypoxia on recollection and familiarity. *Nature*, 415, 1236-1241.

Zhang, P. W., Ishiguro, H., Ohtsuki, T., Hess, J., Carillo, F., Walther, D., et al. (2004). Human cannabinoid receptor 1: 50 exons', candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. *Molecular Psychiatry* 9, 916-931.

Zhang, X.-h., & Poo, M.-m. (2002). Localized Synaptic Potentiation by BDNF Requires Local Protein Synthesis in the Developing Axon. *Neuron*, 34, 675-688.