



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a  
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

### OSASUN ZIENTZIAK

#### Omega-3 gantz-azidoen propietate onuragarriak

*Maitane Serrano, Leire Lekunberri,  
Edgar Soria-Gomez, Itziar Bonilla-  
Del Rio, Amaia Mimenza, Jon  
Egaña-Huguet, Ilazki Anaut-Lusar,  
Itziar Terradillos, Svein Achicallende,  
Nagore Puente, Inmaculada  
Gerrikagoitia, Izaskun Elezgarai,  
Irantzu Rico-Barrio  
eta Pedro Grandes*

159-165 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.04.20>



## Omega-3 gantz-azidoen propietate onuragarriak

Serrano, M.<sup>1,2</sup>, Lekunberri, L.<sup>1,2</sup>, Soria-Gomez, E.<sup>1,2,3</sup>, Bonilla-Del Rio, I.<sup>1,2</sup>, Mimenza, A.<sup>1,2</sup>, Egaña-Huguet J.<sup>1,2</sup>, Anaut-Lusar, I.<sup>1</sup>, Terradillos, I.<sup>1,2</sup>, Achicallende, S.<sup>1,2</sup>, Puente, N.<sup>1,2</sup>, Ramos-Uriarte, A.<sup>1,2</sup>, Gerrikagoitia, I.<sup>1,2</sup>, Elezgarai, I.<sup>1,2</sup>, Rico-Barrio, I.<sup>1,2</sup>, Grandes, P.<sup>1,2</sup>

(1) Neurozientziak Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia),  
(2) Achucarro Basque Center for Neuroscience, UPV/EHUko Zientzia Parkea (UPV/EHU, Leioa, Bizkaia) (3) Ikerbasque, Basque Foundation for Science  
maitane.serrano@ehu.eus

### Laburpena

Omega-3 gantz-azidoek hainbat onura eragiten dituzte, izan ere, neuronen nahiz sinapsien sorkuntzan parte hartu eta zelulen biziraupena bermatzen dute. Hortaz, gaztaroan garunaren garapena suspertzeko eta antsietatea murrizteko, nahiz zahartzaroan narriadura kognitiboa apaltzeko erabili dira. Efektu onuragarri horiek bideratzeko, neuromodulazioan parte hartzen duen endokannabinoidesistema baliatzen dute. Azterlan honen helburua omega-3an aberastutako dietak helduaro goiztiarrean memorian nahiz antsietatean onurak eduki ditzakeen aztertzea da. Baita dieta horrek saguen hipokanpoko endokannabinoidesisteman aldaketa molekularrak eragiten dituen ikertzea ere.

Hitz gakoak: omega-3; endokannabinoidesistema; hipokanpoa.

### Abstract

*Omega-3 fatty acids have been shown to play a role in neurogenesis, synaptogenesis and cell survival, thus improving brain development and reducing anxiety in the youth and preventing cognitive decline in elderly people. The omega-3 benefits seem to be conducted, among others, through the endocannabinoid system, but an in-depth knowledge of the molecular events taking place at this system are still poorly understood. The aim of this research is to study whether the effects of a diet enriched in omega-3 has on memory and anxiety in the early adulthood involve the modulation of the endocannabinoid system. Not only that, but also analysing the molecular impact elicited by omega-3 on components of this system in the mouse hippocampus.*

*Keywords: omega-3, endocannabinoid system, hippocampus.*

### 1. Sarrera eta motibazioa

Omega-3ak lipidoak osatzen dituzten gantz-azido (GA) asegabeak dira. Omega-3 garrantzitsuenak GA poliasegabeak dira, azido dokosaheksaenoikoa (DHA) eta azido eikosapentaenoikoa (EPA) hain zuzen ere (Aguilera et al., 2017; Bowen et al., 2016). DHA kantitate handitan dago garunean, izan ere, sinapsien eta neuronen sorkuntzan eta azken horien migrazioan funtsezko papera jokatzen du. Horrez gain, EPA nahiz DHAtik abiatuta sortzen diren molekulek zelulen biziraupena bermatzen dute eragin antiinflamatorio eta antiapoptotikoari esker (Aguilera et al., 2017; Aparicio et al., 2010; Dyall, 2017; Kawakita et al., 2006). Gainera, zelula mintzen fluidotasunean eragiten dute, beraz, zelula kitzikagarrietan omega-3ek seinale-transdukzioan eta mintzari lotutako hartzaile, ioi-kanal eta entzimen aktibitatean eragiten dute (Aguilera et al., 2017; Dyall, 2017).

Ugaztunen GAK eraldatzeko gaitasuna mugatua da. Hori dela eta, omega-3 garrantzitsuenak esentzialak dira, hau da, dietaren bidez bereganatu behar dira. Munduko Osasun Erakundeak omega-3 GAen kontsumoa energia totalaren %1-2a izatea gomendatzen du. Orokorrean, Europan mota horretako GAen kontsumoa eskasa da (Aparicio et al., 2010; Carrero et al., 2005). Rosa Ortega eta bere kideek (2013) agerian utzi zuten helduen artean nahiz eta lipido kontsumo totala gomendatutakoa baino altuagoa izan, GA asegabeen ahorakina, omega-3ena bereziki, baxua zela. Hain zuzen ere, aztertutako populazioaren %85,3aren omega-3 kontsumoa %1ekoa baino baxuagoa zen. Dieta desorekatuetan, omega-3ek ez dituzte beren funtzioak egoki betetzen, eta, beraz, ondorio kaltegarriak eragin ditzakete gure osasunean (Aguilera et al., 2017).

Omega-3an aberastutako dieta haurdun dauden karraskariei emateak kumeen gaitasun motorrak hobetzen ditu epe-luzera, bai nerabezeroan (Coluccia et al., 2009; Janssen et al., 2015) baita

helduaroan ere (Coluccia et al., 2009). DHAk enbrioien zelula-ama neuralen proliferazioa handitzen du eta nerbio-sistema zentrolean zelula heriotza saihesten du (Kawakita et al., 2006). Gainera, DHAREN ahorrakin kronikoak hipokanpoko funtzionaltasuna eta ikasteko gaitasuna hobetzen ditu, bai arratoi gazte zein adinekoetan ere (Gamoh et al., 1999, 2001).

Endokannabinoide-sistema neuromodulazio sistema bat da, zeinak nerbio-sistema zentralaren garapenean, plastikotasun sinaptikoan eta kanpo- nahiz barne-inguruneko estimuluen erantzunean parte hartzen duen (Lu eta Mackie, 2016). Endokannabinoide-sistema hartzailez, endokannabinoidez eta azken horiek sortu eta degradatzeko entzimaz osatuta dago. Hartzaileen kasuan, garrantzitsuenak CB<sub>1</sub> eta CB<sub>2</sub> hartzaileak dira (Dyall, 2017; Lu eta Mackie, 2016).

Omega-3 GAen eta endokannabinoide-sistemaren lotura estua da, izan ere, EPA eta DHA endokannabinoideen aitzindariak dira (Dyall, 2017). Hori gutxi balitz, Pan eta bere kideek (2011) *in vivo* eta *in vitro* egindako analisisetan, DHA osagarriaren efektu desiragarriak memoria espazialean endokannabinoide-sistemaren bidez gauzatzen direla agerian utzi zuten. Helduaroko neurogenesiari dagokionez, EPA eta DHA gehigarriek hipokanpoko neurogenesia handitzen dute (Dyall, 2017; Kawakita et al., 2006). Areago EPAk neuronon proliferazioa handitzen du endokannabinoide seinalizazio bideak baliatuz; zehazki, CB<sub>1</sub> eta CB<sub>2</sub> hartzaileen bidez (Dyall et al., 2016).

Ildo horretatik eta mendebaldeko dieten patroia jarraituz, omega-3an eskasa den dietak sistema endokannabinoideko CB<sub>1</sub> hartzailearen funtzionaltasuna kaltetzen du. Horren ondorioz, saguetan, depresio eta antsietate-motako sintomak handitzen dira (Lafourcade et al., 2011; Larrieu, 2012).

## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Omega-3 GA asegabeak dietaren bidez bereganatu beharreko mantengaiak dira. Hala ere, mendebaldeko dieta patroiak jarraituz nekez lortzen da gomendatutako kantitatea. Omega-3ak, eta, bereziki DHA, kantitate handitan agertzen dira garunean, eta, beraz, GA asegabe horien gabeziak garun kalteak eragiten ditu. Aitzitik, omega-3etan aberatsa den dietak gazteetan nahiz adinekoetan onura ugari eragiten ditu. Konkretuki, gaitasun motorrak eta ikasteko ahalmena hobetzen ditu, baita hipokanpoko funtzionaltasuna ere.

Horrenbestez, azterlan honek bi helburu nagusi izango ditu. Alde batetik, helduaroan omega-3 osagarriaren eragina portaeran sakontasunez aztertzea. Zehazki, oroimenean, ikas ahalmenean eta antsietatean eragiten dituen efektuak analizatuko dira. Bestalde, omega-3an aberastutako dietak hipokanpoko endokannabinoide-sistemaren osagai nagusietan eragiten dituen aldaketa molekularrak ikertuko dira, CB<sub>1</sub> hartzailean bereziki.

## 3. Ikerketaren muina

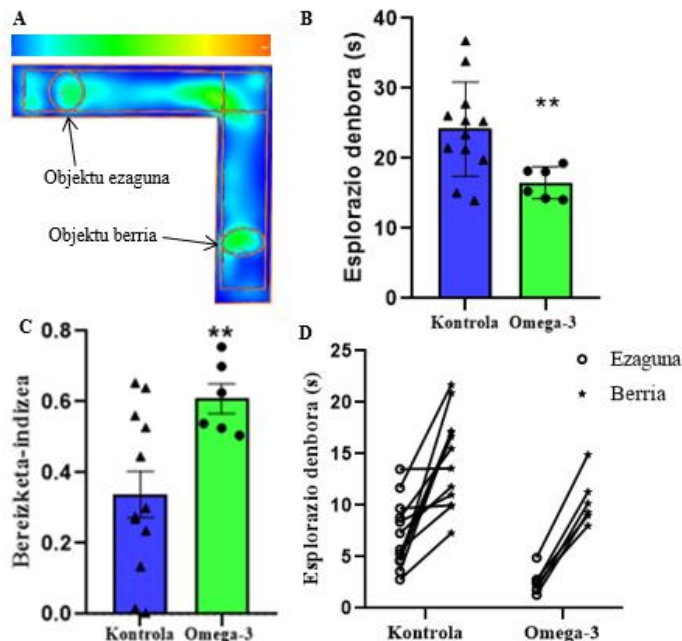
Ikerlan honen helburuak aurrera eramateko, C57BL/6J ar saguek nerabezaroan zehar dieta arrunta jarraitu zuten, eta, horren ostean, helduaro goiztiarrean 15 egunetan zehar EPA eta DHAN aberastutako dieta ezarri zitzaizen (1. taula). Horrela, bi talde esperimental sortu ziren: janari arruntarekin elikatutako kontrol taldea (kontrola) eta helduaro goiztiarrean omega-3an aberastutako janariarekin elikatutako taldea (omega-3).

1. taula. Jarraitutako dieta ezberdinen gantz ekarpena

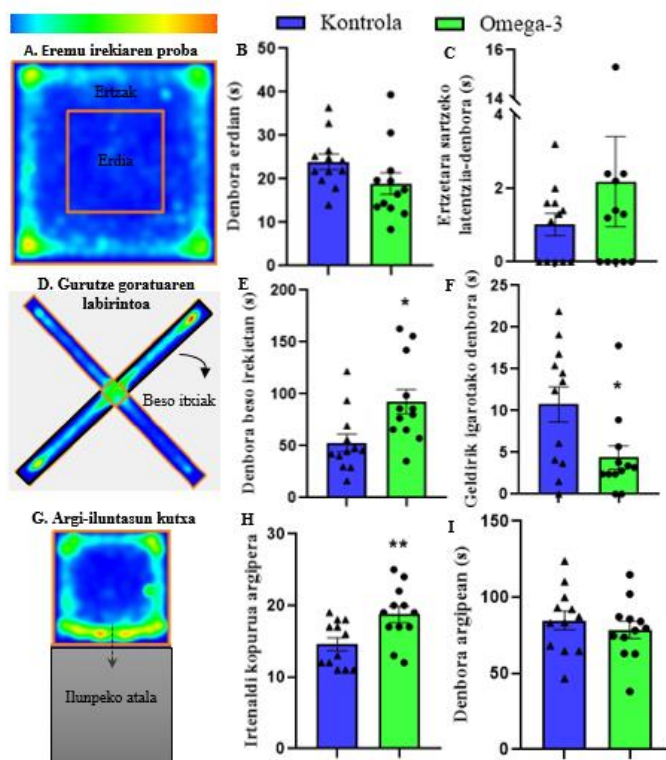
	Dieta arrunta	Omega-3an aberastutako dieta
Gantza (%)	4	5,9
GA poliasegabeak (%)	2,1	3,1
Omega-3 (%)	0,1	0,54
EPA+DHA (%)	-	0,22

### 3.1. Portaera probak

1. irudia. A)Objektu berrien ezagutza probaren bero mapa B)Esplorazio denbora totala C)Bereizketa-indizea D)Esplorazio denboraren konparaketa objektu ezagunean eta berrian.\*\*p<0,01.Balioak t-testaren bitartez analizatu dira. ▲eta ● sinboloek sagu bakoitzaren balioak erakusten dituzte.



2. irudia. A)Eremu irekiaren probaren bero mapa B)Erdian egondako denbora C)Lehenengo aldiartez sartu arte pasatu den denbora D)Gurutze goratuaren labirintoaren bero mapa E)Beso irekietan igarotako denbora F)Proban zehar geldirik egon diren denbora G)Argi-iluntasun kutxaren bero mapa H)Argi atalera ateratako aldi kopurua I)Argipean egondako denbora. \*p<0,05; \*\*p<0,01.Balioak t-testaren bitartez analizatu dira. ▲eta ● sinboloek sagu bakoitzaren balioak erakusten dituzte.



### Objektu berrien ezagutza proba

Ezagutze-oroimena neurtzeko objektu berrien ezagutza proba erabili zen. Probaren oinarria karraskarietako objektu berriak esploratzeko duten berezko joera da. Lehenengo eta behin, animaliak entrenatzeko asmoarekin, L itxurako labirinto baten muturretan bi objektu berdina kokatzen dira, horietatik bat esploratu ditzaten. Hurrengo egunean, objektuetako bat berri batengatik aldatu egiten da eta saguak objektu bakoitza esploratzen duen denbora neurtzen da. Ezagutza-oroimena neurtzeko bereizketa-indizea (BI) erabiltzen da. (1) BI=(denbora objektu berrian – denbora objektu ezagunean)/denbora totala.

Proba hau burutzeko, kontrol taldeko 12 sagu eta omega-3 taldeko 6 sagu erabili dira. Omega-3 taldeak denbora gutxiago esploratzen du kontrol taldearekin alderatuta. Hala ere, bi taldeek bereizketa egokia egiten dute objektu ezagunaren eta berriaren artean, BI>0,3 izanik bi kasuetan. Baina, omega-3 taldearen BIa esanguratsuki altuagoa da (kontrola BI=0,34; omega-3 BI=0,61), nahiz eta objektuak esploratzen egondako denbora kontrolena baino baxuagoa izan (1. irudia). D grafikan sagu bakoitzak objektu ezaguna eta berria esploratzen igarotako denbora ikusi daiteke. Omega-3 taldekoek ez bezala, kontrol taldeko hainbat saguk bi objektuen arteko bereizketa egiten ez dutela behatu daiteke, izan ere, bi objektuak esploratzen egondako denbora oso antzekoa izan da.

### Antsietate maila neurtzeko probak

Antsietate maila neurtzeko hiru egunetan zehar 5 minututako hiru proba egiten dira. Probak, talde bakoitzeko 12 sagurekin zertu dira. Lehenengo egunean, eremu irekiaren proba egiten da kutxa karratu batean, zeinen funtsa saguek ertzetan egoteko berezko joera den, izan ere, saguei estutasuna eragiten die erdialdean egotea. Kasu honetan, animalia kutxaren erdian kokatzen da eta era librean mugituko da kutxatik zehar, ertzetan nahiz erditik igaroz. Animalia

erdiko eremuan dagoen denbora neurtzen da, izan ere, erdiko eremu honetan denbora luzez egotea antsietate-maila baxuaren adierazle izango da. Bigarren egunean, gurutze goratuaren labirinto proba egiten da. Labirintoak bi beso itxi, eta beste bi beso ireki edukiko ditu; azken horiek, estatusuna eragingo diete saguei. Kasu honetan, beso irekietan egondako denbora neurtuko da, antsietate-maila baxuaren isla izango dena. Horrez gain, animaliak proban zehar geldi irauten duten denbora neurtuko da, geldi egotea antsietatearen adierazlea da eta. Azken egunean, argi-iluntasun kutxaren proba egiten da. Horretarako, bi ataletan banatuta dagoen kutxa erabiltzen da; kutxaren zati bat ilunpean dago; eta, bestea, saguentzat estresagarria den argipean (2. irudia). Azken proba honetan, saguak argipean dauden denbora neurtuko da; eta, eremu honetan denbora luzeagoa egoteak antsietate-maila baxuagoa adierazten du. Horrez gain, saguek kutxaren atal batetik bestera igarotzen diren aldi kopurua neurtzen da, izan ere, zenbat eta gehiagotan atera argipera, orduan eta antsietate-maila baxuagoa dutela adierazten du. Saguek esploratzeko joera eta ikusmin handia daukate, eta, beraz, orduan eta antsietate gutxiago eduki, labirinto ezberdinetako gune estresagarrietan denbora gehiago egongo dira eremu horiek esploratzeko.

Eremu irekiaren proban, erdian egondako denboran ez dago ezberdintasunik. Proba hasteko, sagua kutxaren erdialdean kokatzen da eta ertzetara lehenengo aldiz sartu arte igaro den denboran ez dago ezberdintasun esanguratsurik taldeen artean ezta ere. Gurutze goratuaren labirintoan, omega-3 taldea denbora gehiago egon da beso irekietan ( $p < 0,05$ ); denbora gutxiago, ordea, geldirik ( $p < 0,05$ ). Argi-iluntasun kutxaren kasuan, nahiz eta bi taldeen artean argitan igarotako denboran ezberdintasunik ez egon, omega-3 taldea gehiagotan atera da argipera ( $p < 0,01$ ).

### 3.2. Analisi molekularra

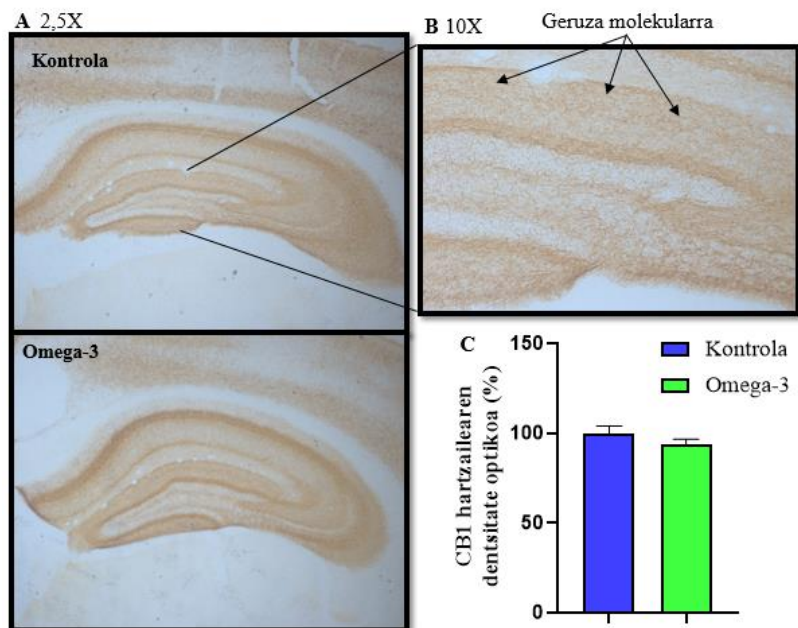
#### Garunaren erauzketa:

Animaliak %4ko kontzentrazioan dagoen kloral hidratoaren bidez (10mL/kg pisu) anesthesiatu ostean; lehenengo, gatz fosfato tanpoia (0,1M PBS, pH7,4) bihotz bidetik perfunditzen da, eta, segidan, fixatzaile bat (80mL %4 paraformaldehido, %0,2 azido pikriko eta %0,1 glutaraldehido, fosfato tanpoian- 0,1M PB, pH7,4-) jartzen da. Ondoren, garunak erauzi eta soluzio fixatzaile berdinean postfixatzen dira 4°C-tan. Gero, bibratomoan 45 µm-ko koroa-ebaketak egiten dira.

#### Immunozitokimika:

Tindaketa talde esperimental bakoitzeko hiru sagutan egin zen. Ebaketak ordu erdiz blokeo soluzioan inkubatu ondoren, soluzio berdinean diluitutako anti-CB<sub>1</sub> ahuntz antigorputz poliklonal primarioarekin (2 µg/mL) inkubatzen da egun batez giro-tenperaturan. Hurrengo egunean, garbiketa soluzioan 10

3. irudia. A) Kontrol eta omega-3 taldeetako hipokanpo garun eremua 2,5X-ko handipenean B) Kontrolaren hipokanpo garun eremu berdina 10X handipenean C) CB<sub>1</sub> hartzailaren dentsitate optikoaren datu



minututako hiru garbiketa egin ostean, laginak ordu betez anti-ahuntz zaldi G-immunoglobulina sekundarioan (1:200) kontaktuan ipintzen dira giro tenperaturan. Hiru garbiketa egin eta gero, ordu betez inkubatzen dira abidina-biotina konplexuarekin, seinalea amplifikatzeko asmoarekin. Garbiketen ondoren, laginak %0,05 diaminobenzidinarekin ipini behar dira kontaktuan 3 minutuz emaitzak errebelatzeko. Fosfato tanpoian azkeneko garbiketak egin ostean, animalia bakoitzeko laginak gelatinizatutako portetan kokatzen dira eta hurrengo egunean, portak alkohol kontzentrazio



gorakorretan (%50, %70, %96 eta %100) eta xilolean 5 minutuz murgilduz laginak deshidratatzen dira. Azkenean, DPX izeneko erretxina akrilikoa baliatuz estalkia ipintzen zaio portari.

### **Mikroskopia optikoa:**

Laginak mikroskopioan behatu eta 10x handipenean hipokanpoko geruza molekularren argazkiak atara dira (3. irudia). Argazkien analisisian CB<sub>1</sub> hartzailaren dentsitate optikoa neurtu da eta, horretarako, ImageJ erabili da. Argazkiak zuri-beltzera aldatu eta intereseko geruzan hiru neurketa egin dira, kolore iluntasunaren arabera balio ezberdina dutenak. Hori egin ostean, datuak normalizatzeko, kontrol taldeko balioen batez-bestekoa kalkulatu eta hori %100,0 gisa adierazten da.

Bi taldeen artean ez dago ezberdintasun esanguratsurik CB<sub>1</sub> hartzailaren dentsitate optikoa. Kontrol taldeko CB<sub>1</sub>-aren batez-besteko dentsitate optikoa %100,0 gisa adierazten da, eta horren arabera, omega-3 taldeak %93,6-ko dentsitatea dauka.

## **4. Ondorioak eta eztabaida**

Estresaren (Arteaga et al., 2016; Perez et al., 2013) nahiz jaiotzean hipoxia jasatearen (Perez et al., 2017) tratamendu gisa dieta omega-3-an aberasteak memorian dituen onurak azpimarratzekoak dira. Baita omega-3 gehigarriak hartzea adinarekin lotutako gainbehera kognitiboaren kontra ere, memoriarekin erlazionatutako ikasteko gaitasuna hobetuz (Hashimoto et al., 2015). Pusceddu eta bere kideek egindako ikerketan (2015), EPA eta DHA-rekin aberastutako dieta jaso zuten eme osasuntsuek objektu ezaguna gutxiago esploratzen zuten baina bi objektuen arteko bereizketa dieta aberastua jaso ez zuten emeek baino hobeto egiten zuten. Ikerketa honetan, emaitzak ildo berdina jarraitu dute baina ar osasuntsuetan kasu honetan. Omega-3 taldeko kideek objektuak denbora gutxiagoz esploratu zituzten. Esplorazio denbora baxuagoa izan arren, ezagunaren eta berriaren arteko bereizketa egiteko gai ziren, izan ere, omega-3 taldeko animalia guztiek bi objektuen arteko bereizketa egin zuten, kontrolak ez bezala. Beraz, helduaroan zehar dieta omega-3-an aberasteak ikasteko gaitasuna normalizatu eta banakoen arteko aldakortasuna murrizten du, ezagutze-oroimena hobetuz.

Antsietateri dagokionez, estres egoeran dauden (Perez et al., 2013) nahiz osasuntsu dauden karraskari gazteetan (Pusceddu et al., 2015), omega-3 osagarriak, eta bereziki EPAk (Oshima et al., 2018), antsietatearekin erlazionatutako jokabideak murrizten ditu. Azterlan honetan, helduaroan zehar omega-3an aberastutako dietak estutasun maila jaisten duela frogatu da. Ereku irekiaren proban ez dira ezberdintasun esanguratsurik ikusi bi taldeen artean, baina beste bi probek agerian utzi dute omega-3 taldeak antsietate gutxiago pairatzen duela.

CB<sub>1</sub> hartzailaren dentsitateari dagokionez, ikerketak eskasak dira eta eztabaida abian dago. Alde batetik, *in vitro* egindako esperimenduetan, neuronan CB<sub>1</sub> hartzailaren espresioa handitzen doa DHA kontzentrazioa igo ahala (Pan et al., 2011). Bestalde, EPA eta DHA-n aberastutako dieta eta dieta arrunta jarraitutako C57BL/6J saguen artean ez zen ezberdintasunik behatu garuneko CB<sub>1</sub> hartzailaren ARNm mailetan (Yamada et al., 2014). Ikerketa honetan, Yamada eta bere kideek (2014) lortutako emaitzen ildo jarraituz, ez dugu ezberdintasun esanguratsurik ikusi CB<sub>1</sub> hartzailaren dentsitate optikoa. Azterlan honetan saguek dietaren bitartez bereganatzen dituzte omega-3ak, eta, beraz, baliteke CB<sub>1</sub> hartzailaren espresioa handitzeko garuneko DHA maila nahikoa ez igotzea. Nahiz eta CB<sub>1</sub> hartzailaren dentsitatean aldaketarik ikusi ez ditugun, DHA gehigarriek zelula mintzetako kolesterolaren kanporaketa bultzatzen du (Stillwell eta Wassall, 2003), CB<sub>1</sub> hartzailaren aktibitatea emendatzen duena (Bari et al., 2005).

## **5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea**

Omega-3 GAei efektu onuragarri anitzak atxikitzen zaizkie, bereziki garunaren funtzionaltasunari lotuta. Hori dela eta oso erabilia izan da haurdunaldi eta jaiotza ostean (Coluccia et al., 2009; Janssen et al., 2015) nahiz zahartzaroan (Gamoh et al., 2001; Hashimoto et al., 2015). Gure ikerketan, heldu osasuntsuetan dieta omega-3an aberastea faboragarria dela ikusi dugu hainbat alderditan, hain zuzen ere, ezagutza-oroimenarekin eta antsietatearekin erlazionatutako jokabideak hobetzeko. Ildo beretik, beste memoria mota batzuetan zein gaitasun motorretan eragin onuragarriak dituen aztertzea interesgarria izango litzateke. Baita onura horietan guztietan endokannabinoiden sistemaren rola aztertzeke dago oraindik ere. Horrez gain, gure laborategian nerabezaroan alkohola edateak garunean eragiten dituen kalteak ikertu dira

(Peñasco et al., 2020; Rico-Barrio et al., 2019). Omega-3 GAetan aberastutako dietak nerabezaroan zehar alkoholak sortutako kalte horiek murrizteko edota leheneratzeko tratamendu ez farmakologiko gisa erabili daitekeen aztertzea izango da etorkizunerako erronka.

## 6. Erreferentziak

- Arteaga, O., Revuelta, M., Urigüen, L., Martínez-Millán, L., Hilario, E. eta Álvarez, A. (2017), Docosahexaenoic acid reduces cerebral damage and ameliorates long-term cognitive impairments caused by neonatal hypoxia-ischemia in rats, *Molecular Neurobiology*, 54, 7137-7155.
- Bari, M., Battista, N., Fezza, F., Finazzi-Agròs, A. eta Maccarrone, M. (2005), Lipid rafts control signaling of type-1 cannabinoid receptors in neuronal cells, *The Journal of Biological Chemistry*, 250, 12212-12220.
- Bowen, K.J., Harris, W.S. eta Kris-Etherton, P.M. (2016), Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: Are there benefits?, *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, 18.
- Carrero, E., Martín-Bautista, E., Baró, L., Fonollá, J., Jiménez, J., Boza, J.J. eta López-Huertas, E. (2005), Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta, *Nutrición Hospitalaria*, 1, 63-69.
- Coluccia, A., Borracci, P., Renna, G., Giustino, A., Latronico, E., Riccio, P. eta Carratù, M.R. (2009), Developmental omega-3 supplementation improves motor skills in juvenile-adult rats, *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27, 599-605.
- Dyall, S.C., Mandhair, H.K., Fincham, R.E.A., Kerr, D.M., Roche, M. eta Molina-Holgado, F. (2016), Distinctive effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in regulating neural stem cell fate are mediated via endocannabinoid signalling pathways, *Neuropharmacology*, 107, 387-395.
- \_\_\_\_\_, (2017), Interplay between n-3 and n-6 long chain polyunsaturated fatty acids and the endocannabinoid system in brain protection and repair, *Lipids*, 52, 885-900.
- Gamoh, S., Hashimoto, M., Sugioka, K., Shahdat-Hossain, M., Hata, N., Misawa, Y. eta Masumura, S. (1999), Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats, *Neuroscience*, 93, 237-241.
- \_\_\_\_\_, (2001), Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial arm maze task in aged rats, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 28, 266-270.
- Gil, A. (2017): Tratado de nutrición. Tomo I. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición, Editorial Médica Panamericana, Madrid.
- \_\_\_\_\_, (2010): Tratado de Nutrición. Tomo III. Nutrición Humana en el Estado de Salud, Editorial Médica Panamericana, Madrid.
- Hashimoto, M., Katakura, M., Tanabe, Y., Al Mamun, A., Inoue, T., Hossain, S., Arita, M. eta Shido, O. (2015), n-3 fatty acids effectively improve the reference memory-related learning ability associated with increased brain docosahexaenoic acid-derived docosanoids in aged rats, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1851, 203-209.
- Janssen, C.I.F., Zerbi, V., Mutsaers, M.P., de Jong, B.S.W., Wiesmann, M., Arnoldessen, I.A.C., Geenen, B., Heerschap, A., Muskiet, F.A.J., Jouni, Z.E., van Tol, E.A.F., Gross, G., Homberg, J.R., Berg, B.M. eta Kiliaan, A.J. (2015), Impact of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on cognition, motor skills and hippocampal neurogenesis in developing C57BL/6J mice, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 26, 24-35.
- Kawakita, E., Hashimoto, M. eta Shido, O. (2006), Docosahexaenoic acid promotes neurogenesis in vitro and in vivo, *Neuroscience*, 139, 991-997.
- Lafourcade, M., Larrieu, T., Mato, S., Duffaud, A., Sepers, M., Matias, I., De Smedt-Peyrusse, V., Labrousse, V.F., Bretillon, L., Matute, C., Rodríguez-Puertas, R., Layé, S. eta Manzoni, O.J. (2011), Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions, *Nature Neuroscience*, 14, 345-350.
- Larrieu, T., Madore, C., Joffre, C. eta Layé, S. (2012), Nutritional n-3 polyunsaturated fatty acids deficiency alters cannabinoid receptor signalling pathway in the brain and associated anxiety-like behavior in mice, *Journal of Physiology and Biochemistry*, 68, 671-681.

- Lu, H.C. eta Mackie, K. (2016), An introduction to the endogenous cannabinoid system, *Biological Psychiatry*, 79, 516-525.
- Ortega, R.M., González, L.G., Villalobos, T.K., Perea, J.M., Aparicio, A. eta López, A.M. (2013), Fuentes alimentarias y adecuación de la ingesta de ácidos grasos omega-3 y omega-6 en una muestra representativa de adultos españoles, *Nutrición Hospitalaria*, 28, 2236-2245.
- Oshima, Y., Watanabe, T., Endo, S., Hata, S., Watanabe, T., Osada, K. eta Takenaka, A. (2018), Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on anxiety-like behavior in socially isolated rats, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 82, 716-723.
- Pan, J.P., Zhang, H.Q., Guo, Y., Xiao, N., Cao, X.H. eta Liu, L.J. (2011), Some subtypes of endocannabinoid/endovanilloid receptors mediate docosahexaenoic acid-induced enhanced spatial memory in rats, *Brain Research*, 15, 18-27.
- Peñasco, S., Rico-Barrio, I., Puente, N., Fontaine, C.J., Ramos, A., Reguero, L., Gerrikagoitia, I., Rodríguez de Fonseca, F., Suarez, J., Barrondo, S., Aretxabala, X., García del Caño, G., Sallés, J., Elezgarai, I., Nahimey, P.C., Christie, B.R. eta Grandes, P. (2020), Intermittent ethanol exposure during adolescence impairs cannabinoid type 1 receptor-dependent long-term depression and recognition memory in adult mice, *Neuropsychopharmacology*, 45, 309-318.
- Perez, M.A., Terreros, G. eta Dagnino-Sublabre, A. (2013), Long-term  $\omega$ -3 fatty acid supplementation induces anti-stress effects and improves learning in rats, *Behavioral and Brain Functions*, 9.
- \_\_\_\_\_, (2017), n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation restored impaired memory and GABAergic synaptic efficacy in the hippocampus of stressed rats, *Nutritional Neuroscience*, 21, 556-569.
- Pusceddu, M.M., Kelly, P., Ariffin, N., Cryan, J.F., Clarke, G. eta Dinan, T.G. (2015), n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: Effects of early life stress, *Psychoneuroendocrinology*, 58, 79-90.
- Rico-Barrio, I., Peñasco, S., Puente, N., Ramos, A., Fontaine, C.J., Reguero, L., Giordano, M.E., Buceta, I., Terradillos, I., Lekunberri, L., Mendizabal-Zubiaga, J., Rodríguez de Fonseca, F., Gerrikagoitia, I., Elezgarai, I. eta Grandes, P. (2019), Cognitive and neurobehavioral benefits of an enriched environment on young adult mice after chronic ethanol consumption during adolescence, *Addiction Biology*, 24, 969-980.
- Stillwell, W. eta Wassall, S.R. (2003), Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid, *Chemistry and Physics of Lipids*, 126, 1-27.
- Yamada, D., Takeo, J., Koppensteiner, P., Wada, K. eta Sekiguchi, M. (2014). Modulation of fear memory by dietary polyunsaturated fatty acids via cannabinoid receptors, *Neuropsychopharmacology*, 39, 1852-1860.

## 7. Eskerrak eta oharrak

Hauen babes eta finantzioazioari esker egin da lan hau: Eusko Jaurlaritzza (IT1230-19); Red de Trastornos Adictivos, Instituto de Salud Carlos III (ISC-III) eta Europar Batasunaren Europako Eskualde Garapenerako Funtza (ERDF-EU; RD16/0017/0012); MINECO/FEDER, UE (SAF2015-65034-R); Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-107548RB-I00); Ikerbasque eta MINECO (Ministerio de Economía y Competitividad) PGC2018-093990-AI00 (MICIU/AEI/FEDER, UE) (E.D.G); MS, LL, IT eta SA-ren Euskal Herriko Unibertsitateko doktoratu aurreko ikertzaileen kontratuak (PIF 19/164; PIF 18/315; PIF 17/292 et PIF 16/251) eta AM-ren Eusko Jaurlaritzako doktoratu aurreko ikertzaile kontratua; JEH doktorearen kontratua (PIC 280/20), eta IBDR doktorearena (BES-2016-076766).